

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2022. Т. 67, № 4

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2022. Т. 67, № 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 – Центральный ботанический сад 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

Редакционный совет

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

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. 2022. Т. 67, № 4.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

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

Подписано в печать 10.10.2022. Выход в свет 27.10.2022. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 74 экз. Заказ 189.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,66 руб., ведомственная подписка – 29,74 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, 220084, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука».
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук, 2022

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2022, vol. 67, 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. Torchik – Central Botanical Garden 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
Vasiliy E. Gayduk – A. S. Pushkin Brest State University, Brest, Republic of Belarus
Nikolay A. Kolchanov – Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation
Vladimir V. Kuznetsov – K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Wanda Olech-Piasecka – Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Republic of Poland
Oleg N. Pugachev – Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation
Alexander I. Rapoport – Institute of Microbiology and Biotechnology of University of Latvia, Riga, Latvian Republic
Igor A. Tikhonovich – All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Russian Federation

Address of the Editorial Office:

*I, 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, 2022, vol. 67, no. 4.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

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

Sent for press 10.10.2022. Output 27.10.2022. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 74 copies. Order 189.
Number price: individual subscription – 12.66 byn., departmental subscription – 29.74 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, 220084, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series, 2022

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

ЗМЕСТ

Келько А. Ф., Дишук Н. Г., Торчик В. И., Пантелеев С. В., Головченко Л. А. Оценка фитопатологического состояния декоративных форм сосны обыкновенной (<i>Pinus sylvestris</i> L.) селекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси	351
Пантелеев С. В., Можаровская Л. В., Кирьянов П. С., Каган Д. И., Баранов О. Ю. Структурно-функциональная организация митохондриального генома фитопатогенного гриба <i>Phoma</i> sp.1.....	359
Сцепановіч І. М., Шавалда Я. С. Удасканаленая методыка экалага-геабатанічных даследаванняў прыдарожнай расліннасці	374
Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Колтунова Ю. Б., Бельская И. В., Шилова Ю. А. Качественный и количественный анализ вирусной контаминации сточных вод как элемент контроля за циркуляцией кишечных вирусов в Республике Беларусь	386
Страх Я. Л., Игнатовец О. С. Анализ активности ключевых ферментов антиоксидантной системы <i>Rubus chamaemorus</i> L.	398
Никонович Т. И. Исторические сорта в коллекции роз Центрального ботанического сада НАН Беларуси...	406
Лянь Уян. Видовой состав клопов (Heteroptera) на полях рапса в Минском районе Беларуси.....	413

АГЛЯДЫ

Становая А. И., Абашкин В. М., Вчерашняя А. В., Терехова М. М., Жогла В. А., Галец-Буй И. В., Живицкая С. С., Щербин Д. Г. Токсичность полиамидаминных дендримеров <i>in vivo</i>	419
Биричевская Л. Л., Квасюк Е. И., Зинченко А. И. Молнупиравир как перспективное пролекарственное средство для терапии COVID-19 (на англ. яз.).....	426

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

CONTENTS

Kelko H. F., Dishuk N. G., Torchik U. I., Panteleev S. V., Golovchenko L. A. Assessment of the phytopathological state of ornamental forms of common pine (<i>Pinus sylvestris</i> L.) cultivars of the selection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus.....	351
Panteleev S. V., Mozharovskaya L. V., Kiryanov P. S., Kagan D. I., Baranov O. Yu. Structural and functional organisation of the phytopathogenic fungi <i>Phoma</i> sp.1 mitochondrial genome.....	359
Stepanovich I. M., Shavaldya Ya. S. Advanced methodology of ecological and geobotanical research of roadside vegetation.....	374
Paklonskaya N. V., Amvroseva T. V., Kaltunova Yu. B., Belskaya I. V., Shilova Yu. A. Qualitative and quantitative analysis of wastewater viral contamination as a control element for the circulation of enteric viruses in the Republic of Belarus	386
Strakh Ya. L., Ignatovets O. S. Analysis of the enzyme activity of the <i>Rubus chamaemorus</i> L. antioxidant system	398
Nikanovich T. I. Historical varieties in the rose collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus	406
Lian Wuyang. Species composition of bedbugs (Heteroptera) in the rapeseed fields in the Minsk region of Belarus...	413

REVIEWS

Stanavaya A. I., Abashkin V. M., Vcherashniaya A. V., Terehova M. M., Zhogla V. A., Halets-Bui I. V., Zhyvitskaya S. S., Shcharbin D. G. Toxicity of polyamidoamine dendrimers <i>in vivo</i>	419
Birichevskaya L. L., Kvasnyuk E. I., Zinchenko A. I. Molnupiravir as a promising prodrug agent for therapy of COVID-19	426

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 632.9:632.4+582.475.4:631.526.32

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-351-358>

Поступила в редакцию 14.07.2022

Received 14.07.2022

А. Ф. Келько¹, Н. Г. Дишук¹, В. И. Торчик¹, С. В. Пантелеев², Л. А. Головченко¹

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

ОЦЕНКА ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ ФОРМ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) СЕЛЕКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Аннотация. Селекция отечественных декоративных растений, устойчивых к грибным фитопатогенам, и снижение импорта посадочного материала за счет производства собственного может стать одним из направлений борьбы с проникновением и распространением на территории республики опасных возбудителей грибных болезней. В Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (ЦБС) на протяжении последних десятилетий проводится работа по выведению новых декоративных форм хвойных растений для озеленения. Целью данного исследования было целенаправленное изучение состава микобиоты хвои и побегов декоративных форм сосны обыкновенной селекции ЦБС.

В статье изложены результаты обследования деревьев различных сортов сосны селекции ЦБС, проведенного в 2020–2021 гг. Установлено, что среди 18 декоративных форм *Pinus sylvestris* L. наиболее устойчивыми являются формы ‘Восходящая’ и ‘Минчанка’, наименее устойчивыми – ‘Каролина’ и ‘Чупа Чупс’.

На основе микроскопического и молекулярно-генетического методов исследования на хвое и побегах сосны обыкновенной селекции ЦБС выявлены представители 10 родов микроскопических грибов. Видовой состав микобиоты хвои и побегов сосны включает такие распространенные микромицеты, как виды рода *Lophodermium*, вызывающие обыкновенное или летнее шютте сосны и преждевременное опадение хвои, *Cyclaneusma minus*, вызывающие преждевременное пожелтение и опадение хвои, и *Gremmeniella abietina* – возбудитель склеродерриоза или побегового рака сосны. Также выявлены условно-патогенные виды *Alternaria alternata*, *Auerobasidium pullulans*, *Cladosporium* spp., *Phoma* spp., *Sydowia polyspora*, которые чаще встречаются на ослабленных растениях или на отмирающей хвое.

Ключевые слова: сосна, *Pinus* L., декоративная форма, селекция, инвазия, фитопатоген, микромицет, болезни растений

Для цитирования: Оценка фитопатологического состояния декоративных форм сосны обыкновенной селекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси / А. Ф. Келько [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 351–358. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-351-358>

Hanna F. Kelko¹, Natalia G. Dishuk¹, Uladzimir I. Torchyk¹, Stanislav V. Pantelev², Liudmila A. Golovchenko¹

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

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

ASSESSMENT OF THE PHYTOPATHOLOGICAL STATE OF ORNAMENTAL FORMS OF COMMON PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.) CULTIVARS OF THE SELECTION OF THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

Abstract. One of the ways to combat the penetration and spread of dangerous pathogens of fungal plant diseases on the territory of the republic may be the selection of domestic varieties resistant to fungal phytopathogens and a reduction of the import of planting material. Over the past decades, the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (CBG) has been working on the development of new cultivars of coniferous plants for landscaping purposes. The purpose of this study was to study of the composition of the mycobiota of needles and shoots of ornamental forms of Scotch pine of the CBS breeding.

The article presents the results of the survey of *Pinus sylvestris* L. cultivars of CBG selection, carried out in the period 2020–2021 years in The Central Botanical Garden of NAS (Belarus, Minsk). As a result, it was found that among the 18 of *Pinus sylvestris* L. cultivars of CBG selection, the most stable were ‘Woshodjaschaia’ and ‘Minchanka’, the least stable were ‘Karolina’ and ‘Chupa Chups’.

The species composition of the mycobiota of needles and shoots includes such dangerous pathogens as fungi from the genus *Lophodermium*, causing premature falling of needles, as well as *Cyclaneusma minus*, causing premature yellowing and falling of needles, and *Gremmeniella abietina*, the causative agent of scleroderriosis or pine shoot cancer. Among the less dangerous fungi, conditionally pathogenic species have been identified – *Alternaria alternata*, *Auerobasidium pullulans*, *Cladosporium* spp., *Phoma* spp., as well as the endophyte fungus *Sydowia polyspora*.

Keywords: pine, *Pinus* L., cultivars, selection, alien invasive species, phytopathogen, micromycete, plant diseases

For citation: Kelko H. F., Dishuk N. G., Torchuk U. I., Pantelev S. V., Golovchenko L. A. Assessment of the phytopathological state of ornamental forms of common pine (*Pinus sylvestris* L.) cultivars of the selection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 351–358 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-351-358>

Введение. Развитие зеленого строительства в Беларуси неразрывно связано с обновлением ассортимента декоративных растений на основе достижений мировой селекции и совершенствовании технологических и агротехнических приемов их содержания в условиях постоянно возрастающего антропогенного воздействия [1]. В республике довольно популярны декоративные формы из рода *Pinus* L., среди которых – многочисленные садовые формы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). В Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (ЦБС) на протяжении последних десятилетий проводится работа по выведению новых декоративных форм хвойных растений для целей озеленения, в результате которой 20 форм сосны обыкновенной включены в «Государственный реестр сортов» и рекомендованы ГУ «Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений» к использованию на всей территории республики.

Среди хвойных пород сосна довольно в значительной степени подвержена инфекционным болезням [2]. Видовой состав возбудителей болезней сосны составляют как высокоопасные виды, способные вызывать усыхание и отмирание растений, так и умеренно- и малоопасные. Среди большого разнообразия возбудителей болезней сосны наименее исследованными в республике являются микромицеты хвои и побегов – сведения об их видовом составе, распространенности и вредоносности разрозненны или отсутствуют. Интерес к вышеупомянутой группе микроорганизмов в последние десятилетия возрос в связи с прогрессирующим распространением инвазивных фитопатогенов, способных вызывать гибель лесов, а также в связи с возрастанием встречаемости и вредоносности ранее малоизвестных видов [3–11]. Ранее нами на отдельных экземплярах *Pinus mugo*, *P. nigra* и *P. ponderosa*, ввозимых из-за рубежа, были выявлены возбудители опасных болезней сосны (*Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd., *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet.) [4, 5]. Селекция отечественных декоративных растений, устойчивых к грибным фитопатогенам, и снижение импорта посадочного материала за счет производства собственного может стать одним из направлений борьбы с проникновением и распространением на территории республики опасных возбудителей грибных болезней.

Целью данной работы было целенаправленное изучение состава микобиоты хвои и побегов декоративных форм сосны обыкновенной селекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

Объекты и методы исследования. Краткая характеристика декоративных форм сосны обыкновенной селекции ЦБС, произрастающих в открытом грунте на участке экспозиции хвойных растений, приведена в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Краткая характеристика декоративных форм *Pinus sylvestris* L. селекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси

Table 1. Brief description of decorative forms of *Pinus sylvestris* L. of the selection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus

Декоративная форма	Краткая характеристика
‘Бонсай’	Получена путем прививки мутации типа «ведьмина метла». Медленнорастущее растение. Форма кроны близка к конусовидной. Имеется выраженный осевой побег. Боковые побеги расположены относительно рыхло, на концах ветвление более плотное. В возрасте 10 лет высота растения 70–80 см, диаметр около 60 см. Годичный прирост 10–12 см. Хвоя светло-зеленая с сизоватым налетом, очень плотно расположенная на побегах прироста последнего года, 4,0–5,5 см длиной
‘Вожык’	Отобрана из семян «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны конусовидная. Ветвление рыхлое. Осевой побег выражен. В возрасте 9 лет высота растения 35 см, диаметр 45 см. Средний годичный прирост 5,0–5,5 см. Хвоя зеленая, тонкая, достаточно редкая, отходит от побега почти под прямым углом, очень короткая, 1,5–2 см длиной
‘Восходящая’	Отобрана из семян «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны подушковидная. Осевой побег отсутствует. Ветвление очень плотное. В возрасте 8 лет высота растения около 30 см, диаметр 40–45 см. Годичный прирост 7–7,5 см. Хвоя темно-зеленая, густо расположенная на побегах, 4,5–5 см длиной

Окончание табл. 1

Декоративная форма	Краткая характеристика
‘Желтоватая’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны близкая к округлой. Ветвление средней густоты. Осевой побег не выражен. В возрасте 9 лет высота растения 40 см, диаметр кроны 45–50 см. Средний годичный прирост около 8,0–10 см. Хвоя тонкая, летом светло-зеленая, осенью и зимой желтая, густо расположенная на побегах, очень короткая, 1,5–2,5 см длиной
‘Изумрудная’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны широкораскидистая. Осевой побег слабо выражен, боковые побеги короткие, отклонены к вершине. Ветвление плотное. В возрасте 8 лет высота растения около 30 см, диаметр 40–45 см. Годичный прирост около 4 см. Хвоя темно-зеленая, густо расположенная на побегах, короткая, 3–3,5 см длиной
‘Имени Челюскинцев’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны подушковидная. Осевой побег не выражен. Ветвление очень плотное. В возрасте 8 лет высота растения около 25 см, диаметр 40–45 см. Годичный прирост 4–4,5 см. Почки мелкие. Хвоя зеленая, густо расположенная на побегах, 4,5–5 см длиной
‘Каролина’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны близкая к округлой. Осевой побег отсутствует. В возрасте 10 лет высота растения 90 см. Годичный прирост 6–8 см. Хвоя светло-зеленая, короткая, густо расположенная на побегах, длиной 2,0–2,2 см
‘Кустистая’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны рыхлая, близкая к округлой. Осевой побег слабо выражен. Ветвление плотное. В возрасте 8 лет высота растения около 35 см, диаметр 35–40 см. Годичный прирост около 4,5 см. Хвоя зеленая, зимой на кончиках желтоватая, густо расположенная на побегах, короткая, 2,5–3 см длиной
‘Малютка’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны плоско-шаровидная. Ветвление плотное. В возрасте 6 лет высота кроны 50–55 см, диаметр 45–50 см. Годичный прирост 5–5,5 см. Верхушечные почки слегка удлинённые, блестящие. Хвоя темно-зеленая, густо расположенная на побегах, короткая, около 2,5 см длиной
‘Минчанка’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны округлая. Ветвление плотное. Осевой побег не выражен. В возрасте 9 лет высота растения 55–60 см, диаметр 65–70 см. Средний годичный прирост около 7,0 см. Хвоя зелено-сизая, густо расположенная на побегах, короткая, 2,5–3 см длиной
‘Пирамид’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны коническая. Имеет явно выраженный осевой побег. Ветвление плотное. В возрасте 8 лет высота растения около 35 см, диаметр 40 см. Годичный прирост около 5 см. Хвоя зеленая, зимой желто-зеленая, густо расположенная на побегах, короткая, 3,5–3,8 см длиной
‘Раскидистая’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны распростертая, асимметричная. Побеги приподнимающиеся, осевой побег отсутствует. Ветвление плотное. В возрасте 8 лет высота растения около 50 см, диаметр 60–65 см. Годичный прирост 6–7 см. Хвоя темно-зеленая, зимой желто-зеленая, густо расположенная на побегах, длиной около 5 см
‘Слуцкая’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны округлая. Ветвление плотное. Осевой побег отсутствует. В возрасте 5 лет высота растения 25–30 см, диаметр кроны 35–40 см. Годичный прирост 6–7 см. Хвоя светло-зеленая с сизоватым налетом, плотно расположенная на побегах, длиной 5,0–5,5 см
‘Толстушка’	Отобрана из сеянцев «ведьминой метлы». Карликовое растение. Форма кроны рыхлая, неравномерно округлая, слегка асимметричная. Осевой побег не выражен. Ветвление плотное. В возрасте 8 лет высота растения 45–50 см, диаметр 50–55 см. Годичный прирост 6–7 см. Хвоя темно-зеленая, зимой на кончиках хвоинок желтоватая, густо расположенная на побегах, длиной около 4 см
‘Узденская’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Карликовая форма. Крона слегка вытянутая, рыхлая. В возрасте 6 лет высота растения 40–50 см, диаметр 35–40 см. Побеги тонкие, годичный прирост 3–3,5 см. Хвоя зеленая, зимой желто-зеленая, очень короткая, около 2 см длиной, на побегах расположена редко
‘Чижевская’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Медленнорастущее растение. Форма кроны близка к конусовидной. Имеется выраженный осевой побег. Ветвление средней густоты. В возрасте 10 лет высота растения 75–80 см, диаметр 90–100 см. Годичный прирост около 5 см. Хвоя зеленая с сизым налетом, короткая, длиной 1,5–2,5 см, кончики желтоватые
‘Чупа Чупс’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Карликовое растение. Крона округлая, компактная, верхушка слегка вытянутая. Ветвление плотное. В возрасте 6 лет высота и диаметр кроны около 30 см. Годичный прирост 3–3,5 см. Хвоя темно-зеленая, зимой на кончиках желтоватая, плотно расположенная на побегах, 3–3,5 см длиной
‘Эlegantная’	Получена путем прививки «ведьминой метлы». Карликовая форма. Крона широкояйцевидная, компактная. Ветвление плотное. В возрасте 10 лет высота растения около 50 см, диаметр 55–60 см. Годичный прирост 4–4,5 см. Хвоя темно-зеленая, плотно расположенная на побегах, 3–3,5 см длиной

Детальный осмотр каждого экземпляра сосны проводили в 2020–2021 гг. При этом выявляли растения с признаками угнетения, дехромации хвои, преждевременного осыпания, усыхания хвои и побегов и т. д. Для дальнейшего лабораторного исследования отбирали образцы хвои с признаками поражения болезнями (хлороз, налеты, пустулы, стромы, конидиомы, некрозы), а также внешне здоровые образцы. Идентификацию возбудителей болезней проводили в лаборатории защиты растений ЦБС НАН Беларуси по общепринятым в фитопатологии и микологии методам [6, 7, 12], верификацию – на базе лаборатории геномных исследований и биоинформатики Института леса НАН Беларуси с применением методов молекулярно-генетического анализа [13].

Результаты и их обсуждение. В период проведения исследований были отмечены следующие симптомы поражения сосен болезнями: отмирание почек, пожелтение, побурение и усыхание хвои, некроз коры побегов. Поражение болезнями отмечено на одно- и двухлетней хвое (рис. 1), на хвое текущего года патогенных микромицетов не выявлено.

Как следует из данных табл. 2, в годы проведения исследования не выявлено признаков поражения болезнями сортов *P. sylvestris* ‘Восходящая’ и ‘Минчанка’, поражение однолетней хвои наблюдалось у сортов ‘Каролина’ и ‘Чупа Чупс’, преждевременное опадение двухлетней хвои – у сортов ‘Вожык’, ‘Изумрудная’, ‘Имени Челюскинцев’, ‘Чупа Чупс’. У остальных декоративных форм сосны отмечено незначительное поражение двухлетней хвои.

В результате обработки собранного микологического материала на хвое и побегах обследованных декоративных форм *Pinus sylvestris* выявлены представители 10 родов микроскопических грибов, которые принадлежали к 10 семействам, 7 порядкам, 3 классам отдела Ascomycota: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Auerobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud, *Cladosporium* Link, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G. A. de Vries, *Clonostachys rosea* (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams, *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet, *Lophodermium* Chevall., *Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chevall., *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar, *Phialocephala fortinii* C. J. K. Wang & H. E. Wilcox, *Phoma* Sacc., *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll. (табл. 2).

Выявлены как виды, поселяющиеся на живых органах растений, так и виды, способные переходить от питания на органическом мертвом субстрате к питанию на ослабленных растениях. Грибы *Lophodermium pinastri* и *L. seditiosum* (рис. 2) являются возбудителями обыкновенного или летнего шютте сосны, встречаются повсеместно в пределах ареала сосны обыкновенной. Вид *Cyclaneusma minus* (рис. 3) вызывал преждевременное пожелтение и опадение хвои сосны, а вид *Gremmeniella abietina* (рис. 4) – также поражение почек, однолетних побегов. Оба вида способны поражать живые ткани хвои и побегов и продолжать свое развитие на отмирающих и сухих частях растения, являются обычными патогенами сосны обыкновенной в насаждениях

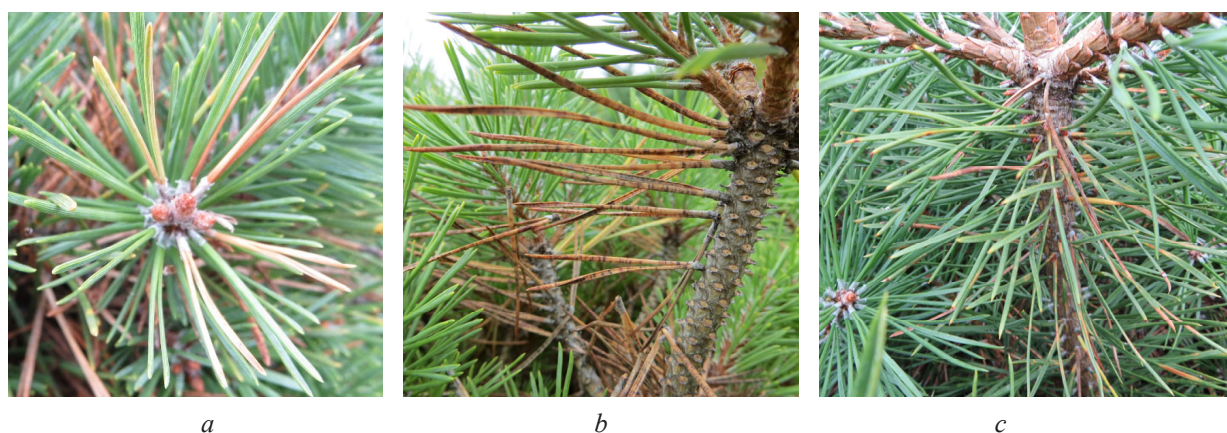


Рис. 1. Однолетняя хвоя *P. sylvestris* ‘Чупа Чупс’ (a), двухлетняя хвоя *P. sylvestris* ‘Малютка’ (b) и ‘Желтоватая’ (c) с признаками поражения хвои болезнями

Fig. 1. One-year-old needles of *P. sylvestris* ‘Chupa Chups’ (a) and two-year-old needles of *P. sylvestris* ‘Malutka’ (b) and ‘Geltowataja’ (c) with signs of pathogen damage

республики. Гриб *Sydowia polyspora* ранее в комплексе с другими микромицетами был выявлен нами в большинстве образцов хвой сосны обыкновенной и в хвое интродуцированных сосен на всей территории республики. Есть мнение, что вид провоцирует сезонное опадение хвой, но может усиливать тяжесть течения болезни, вызываемой другими патогенными грибами [14].

Таблица 2. Видовой состав микобиоты хвой и побегов декоративных форм *Pinus sylvestris* L. селекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси

Table 2. Mycobiota of *Pinus sylvestris* L. cultivars needles and shoots of the selection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus

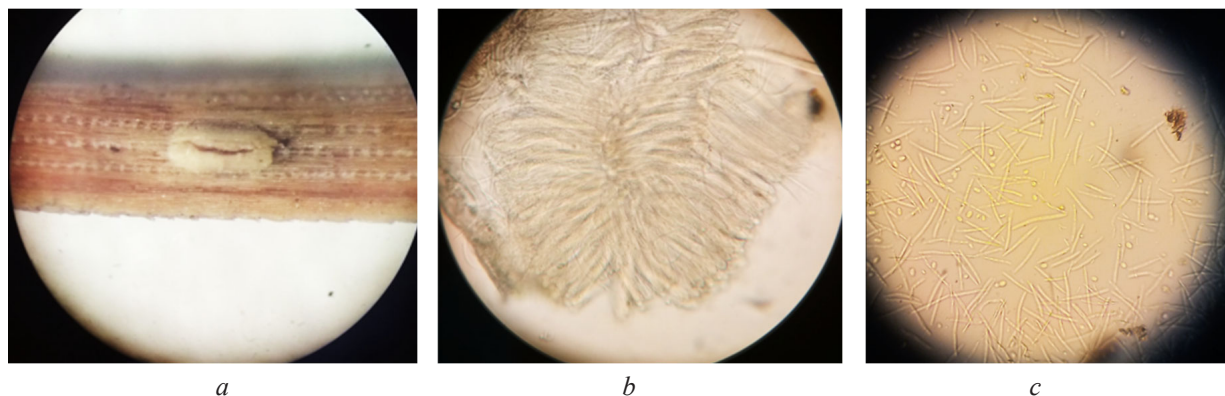
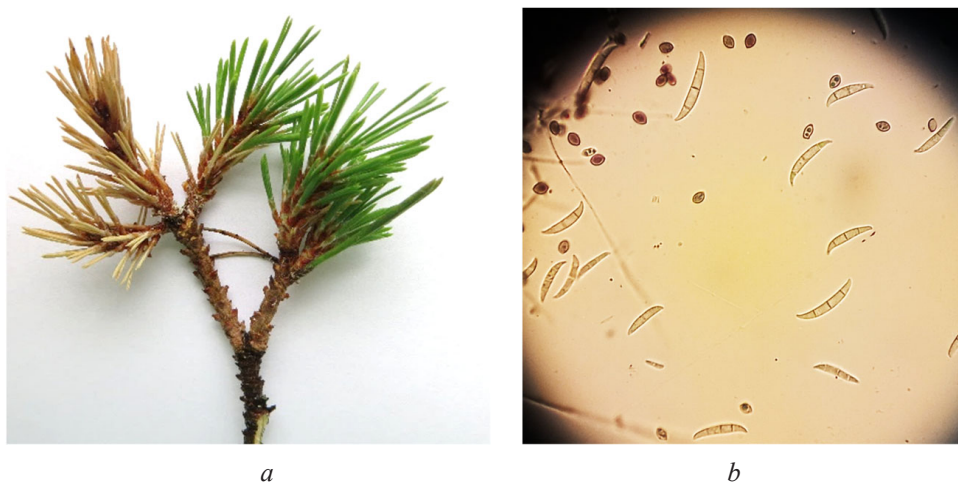
Сорт сосны	Видовой состав микобиоты хвой и побегов	Поражена хвоя		
		текущего года	однолетняя	двухлетняя
‘Восходящая’	—	—	—	—
‘Минчанка’	—	—	—	—
‘Каролина’	<i>G. abietina</i> , <i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>A. alternata</i> , <i>Cladosporium</i> sp.	—	+	+
‘Чупа Чупс’	<i>G. abietina</i> , <i>Lophodermium</i> sp., <i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>A. alternata</i> , <i>Phoma</i> sp., <i>A. pullulans</i> , <i>C. cladosporioides</i> , <i>P. fortinii</i>	—	+	++
‘Вожык’	<i>Gremmeniella abietina</i> , <i>Lophodermium</i> sp., <i>C. minus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Sydowia polyspora</i> , <i>Auerobasidium pullulans</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Clonostachys rosea</i> , <i>Phialocephala fortinii</i>	—	—	++
‘Изумрудная’	<i>G. abietina</i> , <i>L. seditiosum</i> , <i>L. pinastri</i> , <i>C. minus</i> , <i>A. alternata</i> , <i>S. polyspora</i>	—	—	++
‘Имени Челюскинцев’	<i>G. abietina</i> , <i>L. seditiosum</i> , <i>L. pinastri</i> , <i>C. minus</i> , <i>C. cladosporioides</i> , <i>A. alternata</i>	—	—	++
‘Бонсай’	<i>Lophodermium pinastri</i> , <i>Cyclaneusma minus</i>	—	—	+
‘Желтоватая’	<i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i>	—	—	+
‘Кустистая’	<i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>Phoma</i> sp.	—	—	+
‘Малютка’	<i>G. abietina</i> , <i>Lophodermium</i> sp., <i>L. pinastri</i> , <i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>A. alternata</i> , <i>Phoma</i> sp., <i>S. polyspora</i> , <i>C. cladosporioides</i> , <i>P. fortinii</i>	—	—	+
‘Пирамид’	<i>L. pinastri</i> , <i>C. minus</i> , <i>C. cladosporioides</i>	—	—	+
‘Раскидистая’	<i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>A. pullulans</i>	—	—	+
‘Слуцкая’	<i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>S. polyspora</i> , <i>C. cladosporioides</i>	—	—	+
‘Толстушка’	<i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>A. alternata</i> , <i>Cladosporium</i> sp.	—	—	+
‘Узденская’	<i>G. abietina</i> , <i>Lophodermium</i> sp., <i>A. pullulans</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>P. fortinii</i>	—	—	+
‘Чижевская’	<i>L. pinastri</i> , <i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>S. polyspora</i>	—	—	+
‘Элегантная’	<i>L. seditiosum</i> , <i>C. minus</i> , <i>S. polyspora</i>	—	—	+

Примечание. «+» — незначительное поражение хвой, «++» — значительное поражение хвой, приведшее к ее преждевременному опадению.



Рис. 2. Пикнида с конидиями *Lophodermium seditiosum*

Fig. 2. Pycnidia with conidia *Lophodermium seditiosum*

Рис. 3. Плодовое тело (a), сумки с сумкоспорами (b) и аскоспоры (c) *Cyclaneusma minus*Fig. 3. Fruiting body (a), bags with ascospores (b) and ascospores (c) *Cyclaneusma minus*Рис. 4. Поврежденные однолетние побеги (a) и споры (b) *Gremmeniella abietina* на *P. sylvestris* 'Чупа Чупс'
Fig. 4. Damaged one-year-old stems (a) of *P. sylvestris* 'Chupa Chups' and spores (b) of *Gremmeniella abietina*

Выявленные в исследованных образцах хвой виды *Alternaria alternara*, *Auerobasidium pullulans*, *Cladosporium* spp., *C. cladosporioides*, *Phoma* spp. почти всегда присутствуют в микрофлоре наземных частей многих видов древесных и травянистых растений, но способны при определенных условиях (повышенная влажность воздуха, резкие смены суточных температур, нарушение условий агротехники выращивания) вызывать болезни. Гриб *Phialocephala fortinii* выполняет микоризную функцию, помогая растению переносить стресс при недостатке питательных веществ в почве [15]. Интерес представляет гриб *Clonostachys rosea*, обнаруженный нами на хвое сосны обыкновенной 'Вожык'. Это сапротроф, который используется как агент биологического контроля фитопатогенных грибов [16].

Заключение. Фитопатологический анализ 18 сортов *Pinus sylvestris* селекции ЦБС показал, что наиболее устойчивыми являются формы 'Восходящая' и 'Минчанка', наименее устойчивыми – 'Каролина' и 'Чупа Чупс'. С применением микроскопического и молекулярно-генетического методов исследования на хвое и побегах сосны обыкновенной селекции ЦБС выявлены представители 10 родов микроскопических грибов. Микрофлора исследованных образцов хвой декоративных форм сосны обыкновенной селекции ЦБС является обычной для нашей страны и сходна с таковой в европейских и сопредельных с Беларусью государствах. Следует отметить, что инвазивные виды грибов (например, такие как *Dothistroma septosporum* (Dorogin) Morelet и *Lecanosticta acicola* (von Thümen) Sydow) в исследованных образцах не выявлены. Своевременное проведение мероприятий по защите растений от болезней позволяет успешно бороться с выявленными микромицетами.

Список использованных источников

1. Torchuk, U. I. Principles of selection of ornamental woody plants assortment for gardens on roofs in conditions of Minsk / U. I. Torchuk // *Acta Horticulturae*. – Vol. 881. – P. 733–738. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.881.121>
2. Синадский, Ю. В. Сосна. Ее вредители и болезни / Ю. В. Синадский. – М. : Наука, 1983. – 344 с.
3. Жуков, А. М. Опасные малоизученные болезни хвойных пород в лесах России / А. М. Жуков, Ю. И. Гниненко, П. Д. Жуков. – 2-е изд., испр. и доп. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2013. – 128 с.
4. Новый инвазивный вид *Mycosphaerella dearnessii* в составе микобиоты хвои сосны на территории Беларуси / Л. А. Головченко [и др.] // *Вест. НАН Беларуси. Сер. біял. навук.* – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 98–105.
5. Новые данные о распространении инвазивного вида *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet на территории Беларуси / Л. А. Головченко [и др.] // *Вест. НАН Беларуси. Сер. біял. навук.* – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 147–158.
6. Соколова, Э. С. Грибные болезни хвойных пород в питомниках и молодняках / Э. С. Соколова, Т. В. Галасьева. – М. : ГОУ ВПО МГУЛ, 2005. – 43 с.
7. Кузьмичев, Е. П. Болезни древесных растений: справочник : в 3 т. / Е. П. Кузьмичев, Э. С. Соколова, Е. Г. Молевская. – М. : ВНИИЛМ, 2004. – Т. 1 : Болезни и вредители в лесах России. – 120 с.
8. Behnke-Borowczyk, J. Fungi associated with *Cyclaneusma* needle cast in Scots pine in the west of Poland / J. Behnke-Borowczyk, H. Kwaśna, B. Kulawinek // *Forest Pathol.* – 2019. – Vol. 49, N 2. – Art. e12487. <https://doi.org/10.1111/efp.12487>
9. Дишук, Н. Г. Распространение гриба *Cyclaneusma minus* на соснах в Беларуси / Н. Г. Дишук, Л. А. Головченко // Изучение и сохранение биоразнообразия в ботанических садах и других интродукционных центрах : материалы науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 55-летию Донецк. бот. сада, Донецк, 8–10 октября 2019 г. / Донецк. бот. сад, Донбас. аграр. акад., Донецк. нац. ун-т ; отв. ред. С. А. Приходько. – Донецк, 2019. – С. 112–115.
10. Соколова, Э. С. Грибные болезни древесных интродуцентов в насаждениях Москвы и Подмоскovie / Э. С. Соколова, Г. Б. Колганихина // *Вестн. Моск. гос. ун-та леса – Лесн. вестн.* – 2009. – № 5. – С. 145–152.
11. Головченко, Л. А. Болезни хвойных растений в насаждениях Беларуси / Л. А. Головченко, Н. Г. Дишук // Субтропическое и декоративное садоводство : сб. науч. тр. – Сочи, 2017. – Вып. 63. – С. 159–165.
12. Методы экспериментальной микологии : справочник / И. А. Дудка [и др.] ; под общ. ред. В. И. Билай. – Киев : Наук. думка, 1982. – 550 с.
13. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воробаев. – Минск : Юнипол, 2007. – 176 с.
14. Ridout, M. *Sydowia polyspora* is both a Foliar endophyte and a preemergent seed pathogen in *Pinus ponderosa* / M. Ridout, G. Newcombe // *Plant Disease*. – 2018. – Vol. 102, N 3. – P. 640–644. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-17-1074-RE>
15. Jumpponen, A. Mycorrhizal functioning of *Phialocephala fortinii* with *Pinus contorta* on glacier forefront soil: Interactions with soil nitrogen and organic matter / A. Jumpponen, K. G. Mattson, J. M. Trappe // *Mycorrhiza*. – 1998. – Vol. 7, N 5. – P. 261–265. <https://doi.org/10.1007/s005720050190>
16. Schroers, H.-J. A monograph of *Bionectria* (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its *Clonostachys* anamorphs / H.-J. Schroers // *Stud. Micol.* – 2001. – Vol. 46. – P. 1–211.

References

1. Torchuk U. I. Principles of selection of ornamental woody plants assortment for gardens on roofs in conditions of Minsk. *Acta Horticulturae*, vol. 881, pp. 733–738. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.881.121>
2. Sinadskii Yu. V. *Pests and diseases of Pine*. Moscow, Nauka Publ., 1983. 344 p. (in Russian).
3. Zhukov A. M., Gninenko Yu. I., Zhukov P. D. *Hazardous understudied coniferous diseases in Russian forests*. 2nd ed. Pushkino, All-Russian Research Institute of Silviculture and Mechanization of Forestry, 2013. 128 p. (in Russian).
4. Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Pantelev S. V., Baranov O. Yu. New invasive specie of *Mycosphaerella dearnessii* in the composition of mycobiota of pine needles in the territory of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 98–105 (in Russian).
5. Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Pantelev S. V., Baranov O. Yu. New host and country records of the *Dothistroma* needle blight pathogen from Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 147–158 (in Russian).
6. Sokolova E. S., Galas'eva T. V. *Fungal diseases of conifers in nurseries and young stands*. Moscow, Moscow State Forest University, 2005. 43 p. (in Russian).
7. Kuz'michev E. P., Sokolova E. S., Mozolevskaya E. G. *Diseases of Woody Plants: A Handbook. Vol. 1. Diseases and pests in Russian forests*. Moscow, All-Russian Research Institute for silviculture and mechanization of forestry, 2004. 120 p. (in Russian).
8. Behnke-Borowczyk J., Kwaśna H., Kulawinek B. Fungi associated with *Cyclaneusma* needle cast in Scots pine in the west of Poland. *Forest Pathology*, 2019, vol. 49, no. 2, art. e12487. <https://doi.org/10.1111/efp.12487>
9. Dishuk N. G., Golovchenko L. A. *Cyclaneusma minus* (Butin) Dicosmo, Peredo and Minter on *Pinus* species in Belarus. *Izuchenie i sokhranenie bioraznoobraziya v botanicheskikh sadakh i drugih introduksionnykh tsentrakh: materialy nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennaya 55-letiyu Donetskogo botanicheskogo sada (Donetsk, 8–10 oktyabrya 2019 goda)* [Study and conservation of biodiversity in botanical gardens and other introduction centers: materials of a scientific conference with international participation dedicated to the 55th anniversary of the Donetsk Botanical Garden (Donetsk, October 8–10, 2019)]. Donetsk, 2019, pp. 112–115 (in Russian).

10. Sokolova E. S., Kolganikhina G. B. Fungal diseases of introduced woody plants in urban plantations of Moscow and the Moscow region. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta lesa – Lesnoi vestnik* [Bulletin of the Moscow State Forest University – Forest Bulletin], 2009, no. 5 (68), pp. 145–153 (in Russian).
11. Golovchenko L. A., Dishuk N. G. Diseases of conifers in The Republic of Belarus. *Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo: sbornik nauchnykh trudov* [Subtropical and ornamental horticulture: a collection of scientific papers]. Sochi, 2017, vol. 63, pp. 159–165 (in Russian).
12. Bilai V. I. (ed.). *Guide of the experimental mycology methods*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1982. 550 p. (in Russian).
13. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *The methods of molecular genetic technique*. Minsk, Yunipol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
14. Ridout M., Newcombe G. *Sydowia polyspora* is both a Foliar endophyte and a preemergent seed pathogen in *Pinus ponderosa*. *Plant Disease*, 2018, vol. 102, no. 3, pp. 640–644. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-17-1074-RE>
15. Jumpponen A., Mattson K. G., Trappe J. M. Mycorrhizal functioning of *Phialocephala fortinii* with *Pinus contorta* on glacier forefront soil: Interactions with soil nitrogen and organic matter. *Mycorrhiza*, 1998, vol. 7, no. 5, pp. 261–265. <https://doi.org/10.1007/s005720050190>
16. Schroers H.-J. A monograph of *Bionectria* (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its *Clonostachys* anamorphs. *Studies in Micology*, 2001, vol. 46, pp. 1–211.

Информация об авторах

Келько Анна Федоровна – канд. биол. наук. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna.kelko@inbox.ru

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

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

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

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

Information about the authors

Hanna F. Kelko – Ph. D. (Biol.). Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna.kelko@inbox.ru

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

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

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

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.113:579.25

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-359-373>

Поступила в редакцию 07.06.2022

Received 07.06.2022

С. В. Пантелеев, Л. В. Можаровская, П. С. Кирьянов, Д. И. Каган, О. Ю. Баранов

Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *PHOMA* SP.1

Аннотация. В статье изложены результаты исследования митохондриальной ДНК фитопатогена *Phoma* sp.1 – одного из возбудителей фомоза посадочного материала сосны и ели в лесных питомниках Беларуси. Осуществлены секвенирование и аннотация митохондрии *Phoma* sp.1 (30 837 н. о., 43 кодирующих локуса), изучены его структурно-функциональные особенности и составлена генетическая карта. Идентифицированы интронные вставки в генах *cox3* и *nad1*, а также описаны потенциальные открытые рамки считывания *orf89*, *orf87*, *orf76* и *orf108* с неустановленной функцией. Проведен сравнительный генетический анализ митохондрии и его отдельных генов в базе данных NCBI BLAST. На основании результатов генетико-таксономического анализа установлена близкая степень родства исследованного фитопатогена *Phoma* sp.1 с видами рода *Didymella*, что согласуется с современными научными данными об анаморфно-телеоморфных взаимоотношениях *Phoma* и *Didymella*. Показано, что гены мтДНК могут выступать в качестве маркеров для диагностики *Phoma* и фомо-подобных грибов на уровне семейств, родов и видов. В ходе изучения синтении митохондриальных геномов *Phoma* sp.1 и близкородственных видов выявлены значительные структурные перестройки мтДНК в ходе филогенеза.

Ключевые слова: секвенирование, мтДНК, геном, ген, ORF, фитопатоген, микобиом, фомо-подобные грибы, митохондрия, *Phoma*, *Didymella*, фомоз

Для цитирования: Структурно-функциональная организация митохондриального генома фитопатогенного гриба *Phoma* sp.1 / С. В. Пантелеев [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 359–373. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-359-373>

Stanislav V. Panteleev, Ludmila V. Mozharovskaya, Pavel S. Kiryanov, Dmitri I. Kagan, Oleg Yu. Baranov

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

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANISATION OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGI *PHOMA* SP.1 MITOCHONDRIAL GENOME

Abstract. The article presents the results of the mitochondrial DNA (30 837 n. r.) sequencing of the phytopathogenic fungi *Phoma* sp.1 – causative agent of Phoma blight of the pine and spruce plants cultivated in the forest nurseries. Annotation of the *Phoma* sp.1 mitochondrion showed 43 coding loci. Potential open reading frames (*orf89*, *orf87*, *orf76* and *orf108*) and gene introns (*cox3*, *nad1*) are described. A comparative single genes analysis in the NCBI GenBank database showed, that *Phoma* sp.1 belongs to the *Didymella* spp., which can have *Phoma* anamorph. It has been shown that mitochondrial genes can be used as DNA markers for the diagnosis of *Phoma* and phoma-like fungi. Analysis of the mitochondrial synthenia of *Phoma* sp.1 and a related species (including phoma-like fungi), revealed significant structural rearrangements in mtDNA during phylogenesis.

Keywords: sequencing, mtDNA, genome, gene, ORF, phytopathogen, mycobiome, *Phoma*-like fungi, mitochondrion, *Phoma*, *Didymella*, phomosis

For citation: Panteleev S. V., Mozharovskaya L. V., Kiryanov P. S., Kagan D. I., Baranov O. Yu. Structural and functional organisation of the phytopathogenic fungi *Phoma* sp.1 mitochondrial genome. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 359–373 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-359-373>

Введение. *Phoma* – род анаморфных почвенных грибов, представители которого ведут как сапротрофный, так и паразитический образ жизни [1], нанося в ряде случаев и косвенный ущерб [2]. В литературе *Phoma* spp. описаны в основном как хозяйственно значимые патогены широкого спектра сельскохозяйственных и лесных растений [1, 3, 4], в меньшей степени представлены паразиты человека [5], животных [6], рыб [7], грибов [8] и группа лихенофильных грибов [9].

Систематика рода *Phoma* неоднократно подвергалась ревизии, что постоянно выражалось в изменении количества выделяемых видовых таксонов. Так, в период с конца XIX до первой половины XX в. их число составляло несколько тысяч [10], а к началу XXI в. оно было уменьшено

до 200 [1]. В первую очередь это было связано как с множеством выявленных синонимов при повторном описании гербарных образцов, так и с отсутствием возможности верификации ранее исследованных видов [10]. В настоящее время в связи с появлением новых подходов к систематике регулярно описываются новые виды *Phoma* [11–13].

В таксономическом аспекте грибы, относимые к анаморфе *Phoma*, являются трудно классифицируемой группой, что связано с полифилитическим происхождением ее представителей (телеоморфов *Didymella*, *Leptosphaeria*, *Pleospora* и *Mycosphaerella*). Первоначально, основываясь на принципе морфологического критерия отбора, Борема в своей монографии разделил род *Phoma* на 9 секций: *Phoma s.s.*, *Heterospora*, *Macrospora*, *Paraphoma*, *Peyronellaea*, *Phyllostictoides*, *Pilosa*, *Plenodomus* и *Sclerophomella* [14]. В дальнейшем, с использованием молекулярно-генетических методов, данная классификация была признана искусственной, а систематическое положение большого количества видов требовало проведения повторной ревизии [12, 15]. Так, например, в ходе изучения широкого спектра видов фома-подобных грибов порядка Плеоспоровые (*Pleosporales*) Грюйтером с соавт. был сделан вывод, что все они должны быть систематизированы в пределах семейства Дедимелловые (*Didymellaceae*) [12, 15]. В качестве ДНК-маркеров для проведения филогенетических исследований *Phoma* и фома-подобных грибов использовали последовательности рибосомного оперона (рДНК), генов актина, тубулина, две субъединицы РНК-полимеразы и др. [12, 13, 15].

В то же время, согласно мнению разных авторов, видовая идентификация с применением большинства указанных ДНК-маркеров зачастую затруднена, а мультилокусный анализ позволяет классифицировать грибы в основном в пределах семейств [12, 15]. Наибольшей разрешающей способностью на видовом уровне характеризуется только ген субъединицы II РНК-полимеразы (*rpb2*) [13]. Использование ДНК-маркеров на основе гена актина (*act*) для оценки генетико-таксономических взаимоотношений грибов, относящихся к анаморфе *Phoma*, также сопряжено с рядом трудностей, что обусловлено высоким уровнем полиморфизма как на надвидовом, так и на подвидовом уровне [16].

Исходя из изложенного выше, для фома-подобных грибов актуальным остаются исследования по поиску информативных молекулярных маркеров для проведения таксономической оценки на видовом уровне. В связи с этим возникает необходимость проведения геномного анализа видов данной группы с целью разработки новых молекулярно-филогенетических подходов к их оценке или поиску альтернативных ДНК-маркеров, характеризующихся высокой разрешающей способностью.

К настоящему времени секвенирование геномов грибов рода *Phoma* выполнено для *Phoma* sp. XZ068 (Институт микробиологии Китайской академии наук), *Phoma herbarum* strain JCM 15942 (Институт физико-химических исследований RIKEN, Япония) и *Phoma* sp. RAV-16-625 (Университет Кертин, Австралия), однако аннотация полученных последовательностей не завершена [17]. Кроме того, в генетической базе данных NCBI (Национальный центр биотехнологической информации, США) депонировано большое количество секвенированных последовательностей грибов рода *Phoma*, локализованных в митохондриальной (гены рРНК и НАДН-дегидрогеназного комплекса) и ядерной (гены рРНК и др.) ДНК, а также неаннотированные ассемблированные последовательности, полученные в ходе высокопроизводительного секвенирования [17–19]. Среди аннотированных геномных данных фома-подобных грибов следует отметить мтДНК *Didymella pinodes* и *Parastagonospora nodorum* (см. таблицу).

Депозиты мтДНК микромицетов из NCBI GenBank, использованные в данном исследовании

List of fungi, whose genomic data was exported from NCBI GenBank

Вид	NCBI GenBank	Растение-хозяин	Страна
<i>Phoma</i> sp. (текущее исследование)	OM236666	<i>Picea abies</i>	Беларусь
<i>Didymella pinodes</i>	KT946597	<i>Pisum sativum</i> cv. Piast	Польша
<i>Parastagonospora nodorum</i>	EU053989	<i>Triticum aestivum</i>	Австралия
<i>Bipolaris oryzae</i>	NC_057095	<i>Oryza sativa</i>	Китай

Целью данного исследования являлось секвенирование, аннотация и анализ структурно-функциональной организации митохондриального генома *Phoma* sp.1 (изолят ОВ-2014).

Материалы и методы исследования. *Объект исследования.* Объектом исследования являлась чистая культура гриба, полученная в 2014 г. из тканей двухлетнего саженца ели обыкновенной с признаками усыхания хвои (лесной питомник Октябрьского лесхоза). Предварительные морфолого-культуральные исследования на картофельно-морковном агаре и секвенирование внутренних транскрибируемых спейсеров рДНК показали, что выявленный гриб относится к фома-подобным грибам, предположительно к роду *Phoma*. Полная нуклеотидная последовательность рибосомного оперона данного изолята была депонирована в NCBI GenBank под номером KM387394.1, а сам изолят обозначен как *Phoma* sp.1. ОВ-2014.

Выделение ДНК. Выделение ДНК из мицелия проводили с помощью модифицированного СТАВ-метода [20]. Дополнительную очистку полученных препаратов суммарной ДНК осуществляли, используя набор Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США) согласно инструкции компании-производителя.

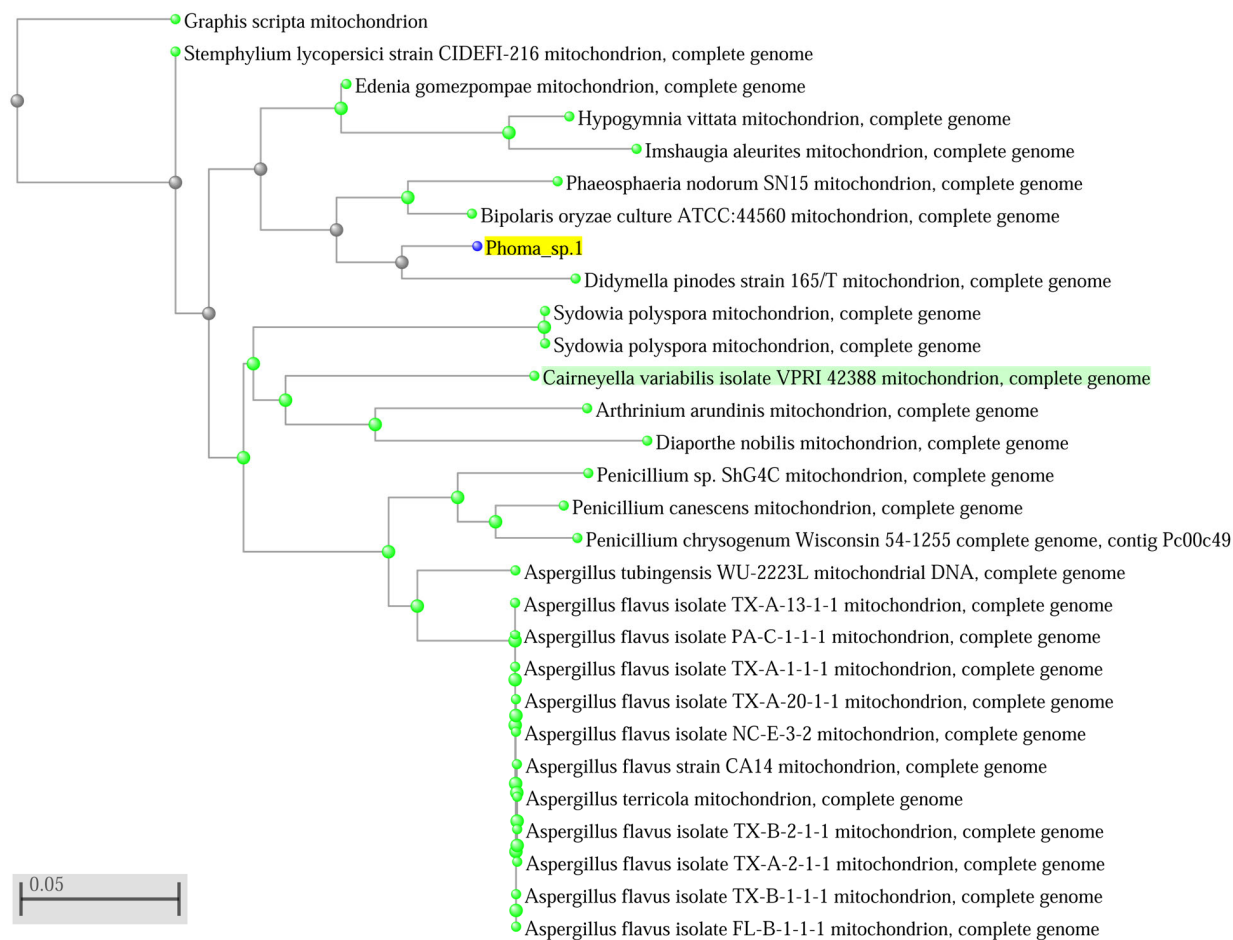
Высокопроизводительное секвенирование. Высокопроизводительное секвенирование выполняли с использованием секвенатора Ion PGM Torrent (Thermo Scientific, США). Все этапы подготовки и секвенирования ДНК-библиотек (3 шт.) проводили в соответствии с инструкцией фирмы-производителя, используя наборы реагентов (Thermo Scientific, США), соответствующих техническим параметрам оборудования и протокола анализа для ДНК-библиотек размером 200 п. н. Первичную фрагментацию препаратов суммарной ДНК осуществляли ферментативным способом с применением набора Ion Plus Fragment Library Kit (Termo Fisher Scientific, США). Для секвенирования ДНК-библиотек *Phoma* sp.1 использовали чипы Ion 314 Chip Kit v2 BC.

Анализ и интерпретация данных. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования осуществляли с помощью программного обеспечения Ion Torrent Suite v. 5.4, Unipro UGENE v. 42.0, MITOS и CLC Sequence Viewer v.6.3.

Построение дендрограмм выполняли в NCBI BLAST (Blast Tree View) с использованием методов Neighbor Joining (NJ) и Fast Minimum Evolution (FastME). Для сохранения полученных дендрограмм в графическом формате файлы NCBI сохраняли в формате Newick и повторно визуализировали в MEGA v.7.0. Анализ синтении митохондриальных локусов осуществляли в программе Mauve v.20150226.

Результаты и их обсуждение. В ходе *de novo* сборки прочтений, полученных по результатам высокопроизводительного секвенирования ДНК-библиотек, было получено более 24 тыс. ассемблированных последовательностей, среди которых была диагностирована закольцованная молекула размером 30 837 н. о. с усредненным уровнем прочтения, равным 77,68х. Сравнительный анализ полученной последовательности с депозитами NCBI GenBank показал, что она относится к митохондриальной ДНК грибов. Результаты кластеризации мтДНК *Phoma* sp.1 с другими депозитами NCBI GenBank представлены на рис. 1.

Как видно из рис. 1, исследуемый микромицет *Phoma* sp.1 формирует кладу с несколькими депозитами из подотряда Pleosporineae, два из которых являются фома-подобными грибами: *Didymella pinodes* – возбудитель аскохитоза гороха и *Parastagonospora nodorum* (син. *Phaeosphaeria nodorum*) – возбудитель септориоза листьев и колоса пшеницы. Еще одним видом, входящим в кластер, являлся *Bipolaris oryzae* – возбудитель гельминтоспориоза риса (коричневая пятнистость). Степень перекрытия непрерывной последовательности мтДНК *Phoma* sp.1 с указанными депозитами составила 74, 45 и 56 % соответственно (алгоритм megablast). В то же время уровень сходства был более высоким и равнялся 96,65; 90,27 и 87,44 %. Исходя из того, что размер митохондриальных геномов сравниваемых депозитов *D. pinodes* (55 973 н. о.), *P. nodorum* (49 761 н. о.) и *B. oryzae* (124 887 н. о.) превышал таковой *Phoma* sp. 1, полученные результаты выравнивания последовательностей могут быть объяснены структурными перестройками мтДНК грибов, при которых происходила перегруппировка отдельных фрагментов в пределах целостной молекулы. Подтверждением этому явились более высокие значения параметра степени перекрытия при использовании алгоритмов анализа (discontiguous megablast и blastn), позволяющие сравнивать последовательности пофрагментно.

Рис. 1. Сравнительный анализ митогеномов *Phoma* sp.1 и депозитов NCBI (Blast Tree View, NJ)Fig. 1. Comparative analysis of *Phoma* sp.1 mtDNA sequence in NCBI GenBank database (Blast Tree View, NJ)

Исходя из полученных генетико-таксономических данных, видно, что из трех вышеперечисленных видов плесневых грибов (порядок Pleosporales) исследуемый вид *Phoma* sp.1 характеризовался более высоким сходством с депозитом *D. pinodes* (семейство Didymellaceae), а меньший уровень подобия был установлен с *B. oryzae* (семейство Pleosporaceae) и *P. nodorum* (семейство Phaeosphaeriaceae). В целом результаты кластеризации согласуются с приведенными в литературе материалами о принадлежности анаморфы *Phoma* к телеоморфам *Didymella* [12, 15].

Анализ содержания различных нуклеотидных оснований в мтДНК *Phoma* sp.1 показал, что преобладающими типами мономеров являются А (34,5 %) и Т (35,4 %), а на долю G и C приходится 15,5 и 14,6 % соответственно. При этом частота встречаемости разных типов нуклеотидных оснований в ядерном геноме *Phoma* sp.1 отличалась от мтДНК и составила ≈ 25 % для каждого.

Полученные данные о первичной структуре мтДНК в целом соответствуют средним значениям ($G + C \approx 25$ %), получаемым для депозитов митохондриальных геномов аскомицетных грибов, представленных в NCBI GenBank. В то же время диапазон содержания $G + C$ у Ascomycota является широким и составляет 4–53 %, а с двумя наиболее представленными группами – 16 и 27 %. По мнению ряда исследователей, низкое содержание GC-нуклеотидов снижает вероятность возникновения мутаций в митохондриальных генах [21].

Следует также отметить, что характер распределения GC-насыщенных регионов в геноме *Phoma* sp.1 был неравномерным, а его график носил в основном волнообразный характер с периодичностью в ~ 2 тыс. н. о. При этом минимальное содержание GC-оснований могло достигать 3 %, а максимальное – 73 %. Наряду с периодически повторяющимися (по GC-составу) регионами в мтДНК *Phoma* sp.1 было диагностировано два протяженных (≈ 2 и ≈ 3 тыс. н. о.) участка с повышенным (37,4 и 35,4 %) содержанием GC-оснований. Аннотация данных регионов показала, что

они относятся к генам 16S (*rrnS*) и 23S (*rrnL*) рРНК. Гены тРНК также были локализованы в участках с более высоким содержанием (25,4–50 %, в среднем 39,1 %) нуклеотидов G + C. Среди структурных генов диапазон значений показателя P_{G+C} был умеренный – 24,9–33,2 % (в среднем 29,4 %), достигая максимальной величины у *cox1-3*, а наименьший – у генов NADH-дегидрогеназ.

Таким образом, исходя из полученных данных, можно предположить, что характер и направленность филогенетических преобразований генов рибосомной ДНК и белок-кодирующих последовательностей в митохондриальном геноме отличаются и обусловлены у последних количественным составом тРНК и определенной «согласованностью» с ядерным геномом составом кодонов, используемых в структурных генах.

Изучение частот встречаемости различных типов и вариантов сочетаний нуклеотидов (частотные словари) показало, что в большинстве случаев расчетные показатели совпадали с наблюдаемыми. Наибольшим долевым участием, как и ожидалось, характеризовались комбинации, сформированные из нуклеотидных оснований А и Т. Так, например, среди тринуклеотидных сочетаний преобладали ТТТ (4,9 % от всех трехчленных комбинаций), ААА (4,7 %), ТАТ (4,5 %), ТТА (4,5 %) и др.

Среди повторяющихся последовательностей следует выделить поли-А и Т мотивы, количество мономеров в которых могло достигать 11. Представленность последовательностей, содержащих повторяющиеся нуклеотидные мотивы размером от 2 до 8 нуклеотидов, соответствовала расчетной. Среди повторяющихся 9- и 10-членных мотивов были выявлены GAAGTATAA (*cytb*), ATATTACCT, ATTAAAAAA и AAAGAAAAAC соответственно. При этом две первые последовательности представляли собой кодоны генов *cytb* и *nad4*, кодирующих функциональные аминокислотные мотивы FYL и ILP.

В ходе проведенной аннотации (таблица трансляции 4, митохондриальный генетический код микромицетов, простейших, стрекающих и др.) было идентифицировано 43 гена, детерминирующих различные функциональные системы: 28 – транспортные РНК (для 20 видов аминокислот), 2 – рибосомные РНК (16S и 23S), 13 – белок-кодирующие (7 – субъединицы НАДН-дегидрогеназы, 3 – субъединицы цитохром-с-оксидазы, 1 – цитохрома b, 1 – субъединицы АТФ-синтазы, 1 – рибосомного белка S5). Также в митохондриальном геноме *Phoma* sp.1 была идентифицирована последовательность, потенциально транслируемая в полипептид, гомологичный рибосомному белку S3. Однако размер получаемой аминокислотной цепи составлял порядка ≈ 25 % от длины депозитов белка S3 других грибов, представленных в базе данных NCBI. Кроме того, выявлены две потенциальные открытые рамки считывания (ORF), кодирующие гипотетические полипептиды размером менее 90 а. о. Сравнительный анализ первичной структуры данных полипептидов в базе данных NCBI не выявил гомологов.

Как было указано выше, диагностируемое разнообразие генов тРНК превышало общее число используемых в синтезе белка аминокислот, что указывает на наличие дублирующих молекул тРНК. Так, несколько типов тРНК были выявлены для следующих аминокислот: метионина, включая формилметионин (3 ед.), валина (2 ед.), серина (2 ед.), аргинина (2 ед.), лейцина (2 ед.), цистеина (2 ед.), тирозина (2 ед.). При этом четыре пары (валин, серин, лейцин и аргинин) были изоакцепторными, т. е. содержали разные антикодоны в пределах одного типа тРНК. В случае генов цистеиновой тРНК область антикодонов была одинаковой, а в других частях молекулы выявлялись нуклеотидные отличия. Три гена метиониновой тРНК имели одинаковые антикодоны (CAT), но различались нуклеотидной структурой в других частях молекул. При этом уровень различий в пределах типов метиониновой, сериновой, аргининовой и лейциновой тРНК был существенным, что может указывать на их вероятное полифилитическое происхождение.

Из 12 белок-кодирующих генов у 10 идентифицирован старт-кодон ATG. Исключения составили *nad2* (GTG) и *rps5* (TTA). Согласно литературным данным, триплет GTG частично комплементарен антикодону иницирующей аминоацил-тРНК и является альтернативным вариантом стартового кодона в мтДНК грибов и ряда других микроорганизмов. Стартовый кодон ТТА также часто выявляется в генах митохондриальных геномов грибов, однако до настоящего времени молекулярные механизмы с использованием данного триплета в полной мере не описаны и представляют особый интерес для дальнейшего изучения [22].

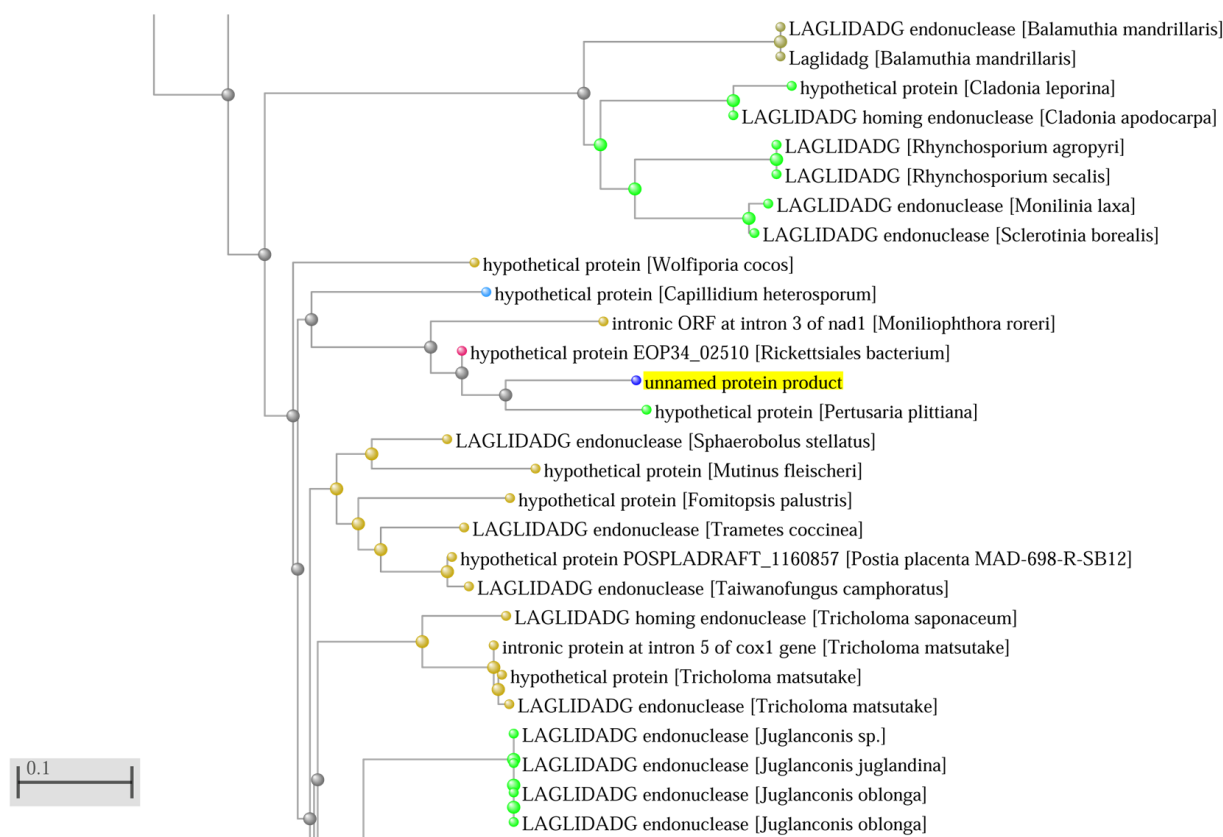


Рис. 3. Сравнительный анализ интронной ORF (unnamed protein, выделен желтым) в гене *nad1* (NCBI blastp, NJ, Grishin protein model, фрагмент данных)

Fig. 3. Comparative analysis of *nad1* gene intronic ORF sequence (unnamed protein, highlighted in yellow) in NCBI database (NCBI blastp, NJ, Grishin protein model, data fragment)

представляет собой интеин и способен вырезать себя из полипептида и соединять оставшиеся части (экстеины) с помощью пептидной связи во время сплайсинга белка. В этой связи интеины также называют белковыми интронами по аналогии с интронами пре-мРНК. Как самораспространяющиеся элементы гены самонаводящихся эндонуклеаз являются одним из факторов, определяющих изменение размеров геномов как в ходе филогенеза, так и в ходе онтогенеза [23]. Также следует отметить, что выявленная ORF относится к группе LAGLIDADG-эндонуклеаз, содержащих один функциональный мотив.

Митохондриальные интронные открытые рамки считывания на протяжении длительного времени изучаются у грибов с точки зрения их коэволюции, включая изменение вторичной структуры интронов, анализ сайтов-мишеней и их распределение в генах-хозяевах [23, 24]. Согласно эволюционной модели аепаоп, изначально грибные организмы, по всей вероятности, имели независимые интроны и HEG, которые коэволюционировали посредством рекомбинаций, транспозиций, вертикального и горизонтального переноса генов [24].

Среди перекрывающихся последовательностей следует отметить *nad4l* и *nad5*. Согласно результатам аннотации, зона перекрытия представляет собой одну нуклеотидную позицию А, являющуюся последним основанием в стоп-кодоне ТАА гена *nad4l* и первым нуклеотидом в старт-кодоне АТГ гена *nad5*.

Кроме интронных вставок в первичной структуре митохондриальных генов выявлены также различные элементы, относящиеся к повторяющимся последовательностям ДНК, включая инвертированные повторы, палиндромы и последовательности с диадной симметрией. Повторяющиеся последовательности в геноме представляют научный интерес с точки зрения их биологических функций, включая функциональные участки мигрирующих генетических элементов, области экспансии ДНК, регионы, формирующие различные вторичные структуры, и др.

Наиболее крупные единичные палиндромы (14 и 18 н. о.) отмечались в генах комплекса NADH-дегидрогеназы. В остальных белковых генах и генах рРНК их размер не превышал 12 н. о. Палиндром 20 н. о. отмечался в интроне *nad2-cox1*.

Максимальный размер внутригенных инвертированных повторов (IR) составлял 10–11 н. о. независимо от размера изученных генов. Расстояние между IR варьировалось от нескольких десятков до 2000 н. о. при максимальном размере гена около 3000 н. о. (*LSU*). В гене *rps5* инвертированные повторы (≥ 8 н. о.) не отмечались.

Среди крупных инвертированных повторов мтДНК *Phoma* sp.1 следует отметить локус размером 103 н. о., содержащий в своем составе ген тирозиновой тРНК. Прямая и обратная последовательности находились на значительном удалении друг от друга (7,2 кБ) и относились к противоположно направленным группам генов. Одним из наиболее вероятных механизмов формирования данного повтора, на наш взгляд, является первичная прямая дупликация локуса с последующей инверсией региона, содержащего 10 генов. Еще одним идентифицированным вариантом инвертированных повторов являлась пара последовательностей размером 36 н. о. с координатами 15 751–15 786 и 24 031–24 066. Прямая копия была локализована в гене *nad6*, а обратная – в межгенной области *rps5-trnY(1)*. Подобная схема локализации была отмечена и для 34-нуклеотидной последовательности, прямая копия которой находилась в межгенной области *cox3-nad1*, а обратная – в регионе *nad2-cox1*, включая два первых кодона гена *nad2*. Таким образом, на примере рассмотренных IR видно, что обратный характер направленности их последовательностей был связан исключительно с локализацией в инвертированном регионе мтДНК.

Прямые повторы с наибольшим размером (16 н. о.) отмечались по одной паре в генах *atp6* и *nad2*, а также в генах *nad5* (две пары – 13 н. о.) и *cox1* (одна пара – 13 н. о.). В остальных белковых генах прямые повторы встречались также, но с меньшим размером. В генах рРНК размер прямых повторов не превышал 11 н. о. Расстояние между ними варьировалось от нескольких десятков до ~1800 н. о.

Кроме аннотированных последовательностей в мтДНК *Phoma* sp.1 также были выявлены межгенные регионы с неустановленной функцией (например, 1187-нуклеотидный (между генами *rps5* и *trnY(gta)*), 844-нуклеотидный (между генами *trnC(gca)* и *cox1*), 508-нуклеотидный (между генами *trnM(cat)* и *atp6*), 333-нуклеотидный (между генами *trnC(gca)* и *nad4*) и др.). Как указывалось выше, в данных регионах диагностировались потенциальные открытые рамки считывания с неустановленной функцией кодируемых полипептидов – *orf89*, *orf87*, *orf76* и др.

В межгенном спейсере *trnR(1)–cox3* отмечался прямой повтор из трех 18 н. о. tandemных мотивов, в одном из которых произошла модификация (однонуклеотидная делеция и транзиция).

В целом, исходя из полученных данных анализа мтДНК *Phoma* sp.1, видно, что ее текущая структура является результатом комплексных перестроек, отражающих филогенетические преобразования митохондриального генома, что может быть использовано в качестве молекулярных маркеров для проведения генетико-таксономической оценки.

Подтверждением этого являются и результаты выравнивания последовательностей митохондриальных геномов *Phoma* sp.1 и рассмотренных ранее образцов видов *D. pinodes*, *B. oryzae*, *P. nodorum*, задепонированных в NCBI GenBank. Несмотря на то что размер мтДНК *Phoma* sp.1 был среди указанных видов наименьшим, ее последовательность не перекрывалась (без учета промежутков) с ними в полной мере, а фрагментировалась на отдельные сравниваемые регионы, порядок расположения которых в геномах у сравниваемых пар зачастую не соответствовал друг другу. Исходя из этого, для визуальной оценки уровня сходства гомологичных последовательностей и, в частности, ортологичных генов нами был использован алгоритм Shuffle-LAGAN (SLAGAN) (онлайн сервис VISTA). Использование данного алгоритма позволяет проводить сравнение нуклеотидных структур геномов даже в случае наличия различных перестроек или инверсий последовательности расположения генов. На рис. 4 представлен фрагмент сравниваемых последовательностей *Phoma* sp.1, *D. pinodes*, *P. nodorum*, *B. oryzae*.

Исходя из полученных результатов выравнивания последовательностей грибов семейств Didymellaceae, Phaeosphaeriaceae и Pleosporaceae, установлено, что все белок- и рРНК-кодирующие гены сравниваемых видов имели существенные отличия в первичной структуре (достигающие на

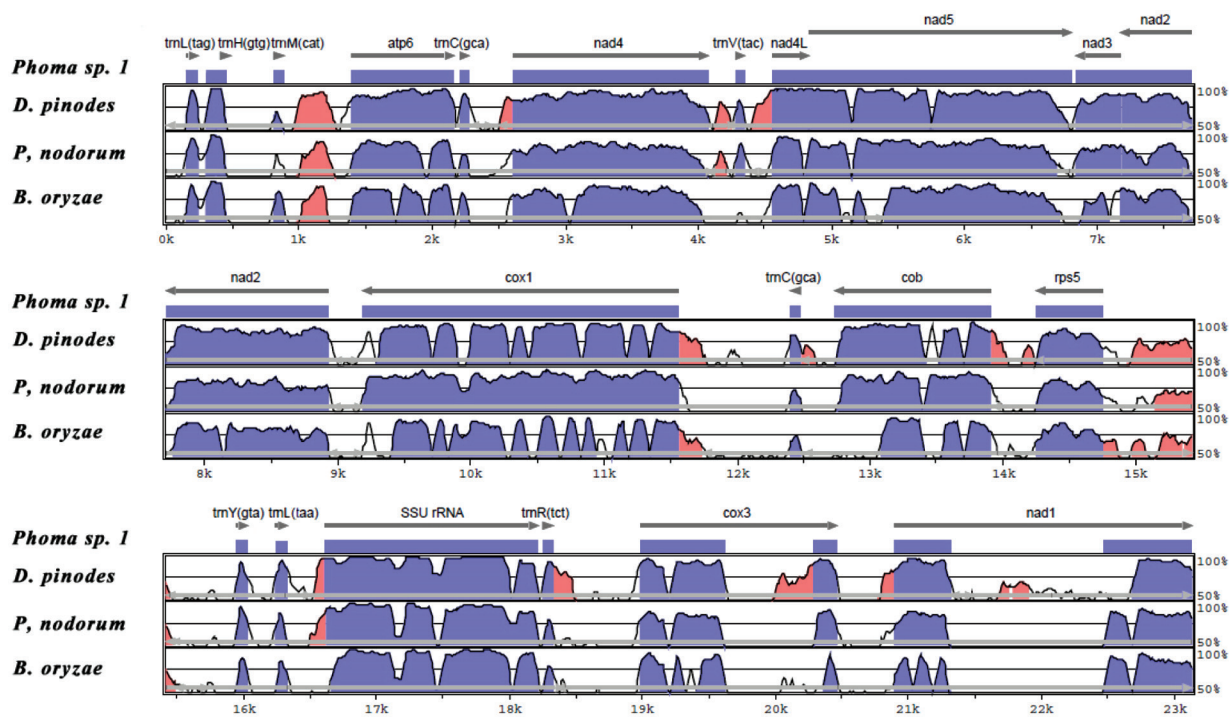


Рис. 4. Сравнительный генетический анализ митохондрий *Phoma* sp.1 (OM236666), *D. pinodes* (KT946597), *P. nodorum* (EU053989), *B. oryzae* (NC_057095) на онлайн сервере VISTA (алгоритм SLAGAN)

Fig. 4. Comparative genomic analysis of *Phoma* sp.1 (OM236666), *D. pinodes* (KT946597), *P. nodorum* (EU053989), *B. oryzae* (NC_057095) mitochondria (VISTA tool (SLAGAN module))

отдельных участках до 50 %). Таким образом, большинство генов мтДНК, на наш взгляд, в равной степени может быть использовано в качестве таксономических маркеров анаморф *Phoma* и фомы-подобных грибов для диагностики не только на уровне семейств, но и родов. Для детального сравнения диагностических характеристик митохондриальных генов как ДНК-маркеров были использованы локусы, детерминирующие субъединицы цитохромоксидазы, NADH-дегидрогеназы, АТФ-синтазы и рРНК. Анализ последовательностей производился в системе NCBI BLAST с использованием депозитов, относящихся к видам подотряда Pleosporineae (рис. 5–8).

Результаты кластеризации с применением методов FastME и NJ были в значительной степени сходными. Высокой диагностической информативностью на уровне как родов, так и видов Pleosporineae характеризовались гены *cox1*, *cox3* и *cob*. Для *Phoma* и фомы-подобных грибов диагностические различия на видовом уровне отмечались также по генам *atp6*, *nad1* и *nad6*, *rps5*. В то же время среди Pleosporaceae информативность данных маркеров была невысокой. Оставшаяся группа генов не позволяла провести достоверную систематизацию Pleosporineae. Характер кластеризации не имел выраженного характера даже на уровне семейств.

Для выявления генетико-таксономических различий, связанных с особенностями структурно-функциональной организации митохондриальных геномов родственных с *Phoma* sp.1 видов грибов (*D. pinodes*, *P. nodorum*, *B. oryzae*) проведено их глобальное выравнивание с использованием программного обеспечения Mauve (рис. 9). Как видно из рис. 9, все виды вне зависимости от степени родства характеризовались значительными отличиями в структуре расположения как отдельных генов, так и их групп: ортологичные области геномов (обозначены одним цветом) переупорядочены.

Кроме выявленных структурных перестроек особенностями геномов Pleosporineae является вариация их размера. При этом, как указывалось ранее, наименьшим размером среди сравниваемых видов характеризовался *Phoma* sp.1, а наибольшим – *B. oryzae*. Полученные данные показывают, что увеличение размеров геномов не связано с дупликацией отдельных участков мтДНК, а обусловлено наличием дополнительных последовательностей, отсутствующих у видов с меньшим

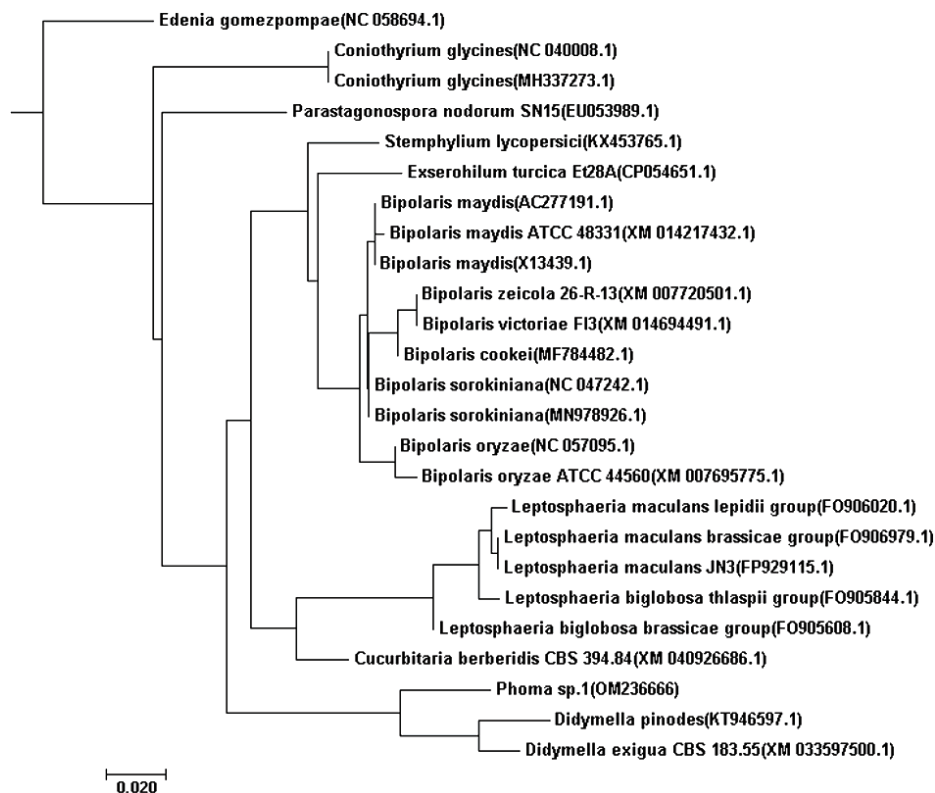


Рис. 5. Дендрограмма, иллюстрирующая генетико-таксономические взаимоотношения видов Pleosporineae (ген *atp6*, метод кластеризации FastME)

Fig. 5. Results of comparative analysis of *Phoma* sp.1 and Pleosporineae spp. (*atp6* gene)

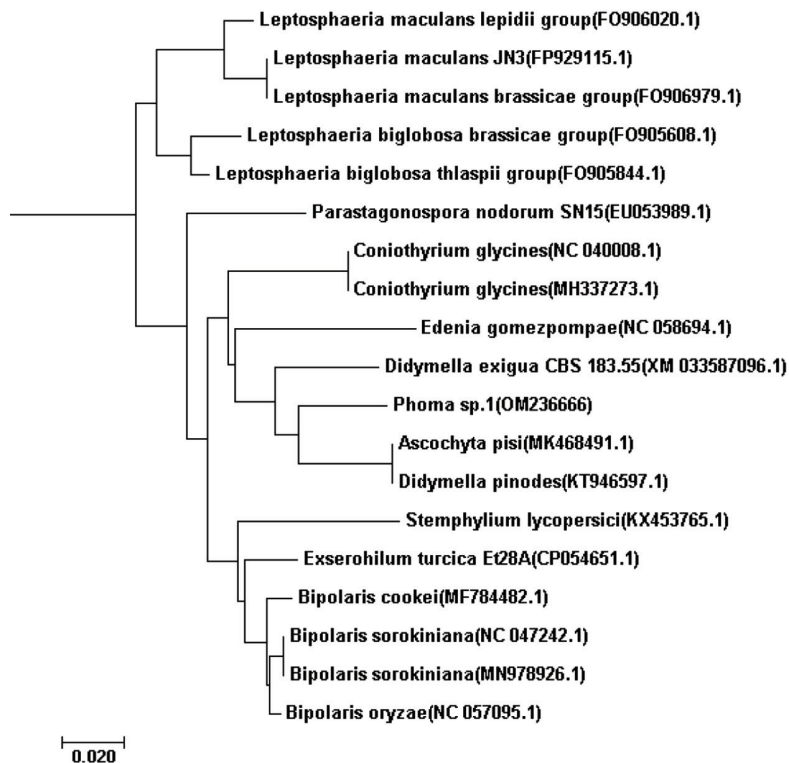


Рис. 6. Дендрограмма, иллюстрирующая генетико-таксономические взаимоотношения видов Pleosporineae (ген *cox1*, метод кластеризации NJ)

Fig. 6. Results of comparative analysis of *Phoma* sp.1 and Pleosporineae spp. (*cox1* gene)

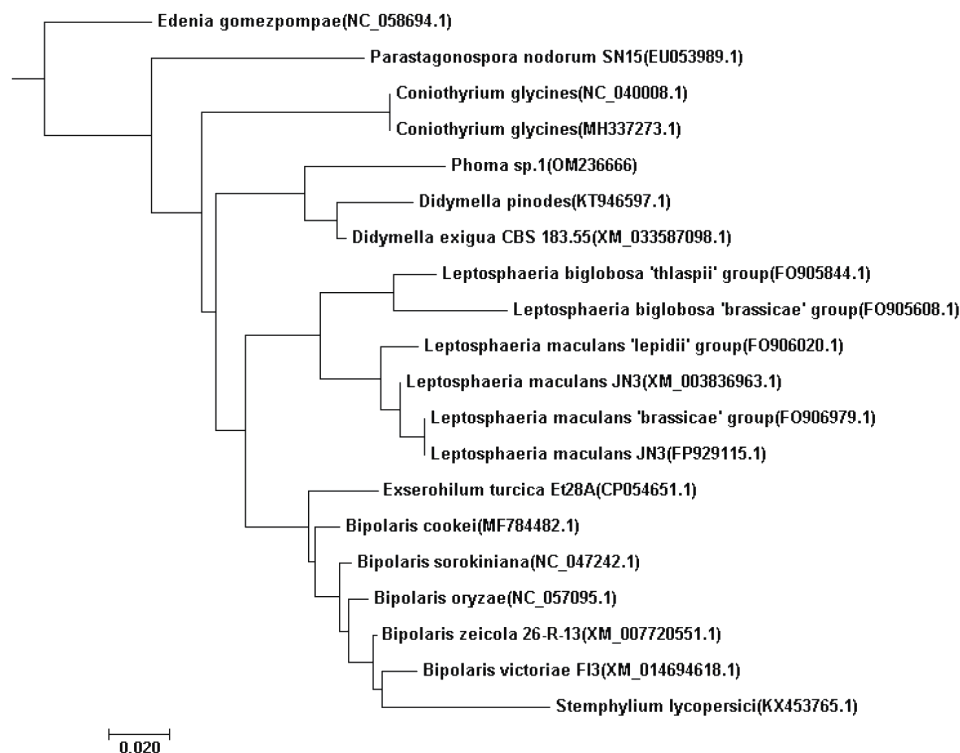


Рис. 7. Дендрограмма, иллюстрирующая генетико-таксономические взаимоотношения видов Pleosporineae (ген *cox3*, метод кластеризации NJ)

Fig. 7. Results of comparative analysis of *Phoma* sp.1 and Pleosporineae spp. (*cox3* gene)

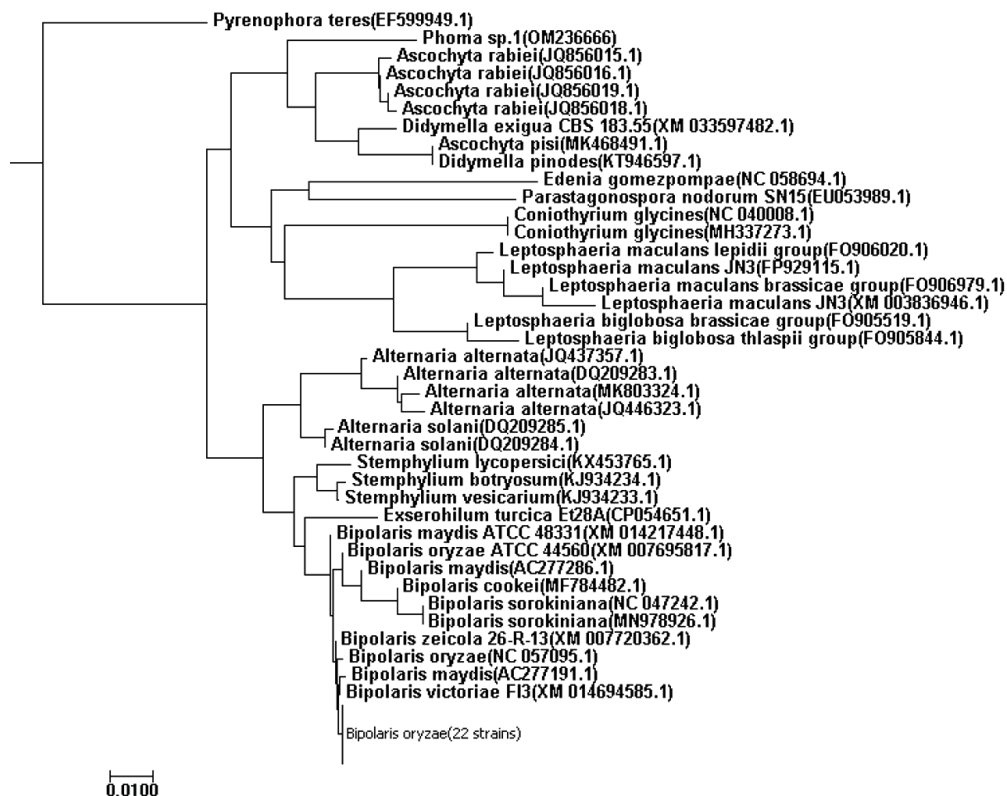


Рис. 8. Дендрограмма, иллюстрирующая генетико-таксономические взаимоотношения видов Pleosporineae (ген *cob*, метод кластеризации NJ)

Fig. 8. Results of comparative analysis of *Phoma* sp.1 and Pleosporineae spp. (*cob* gene)

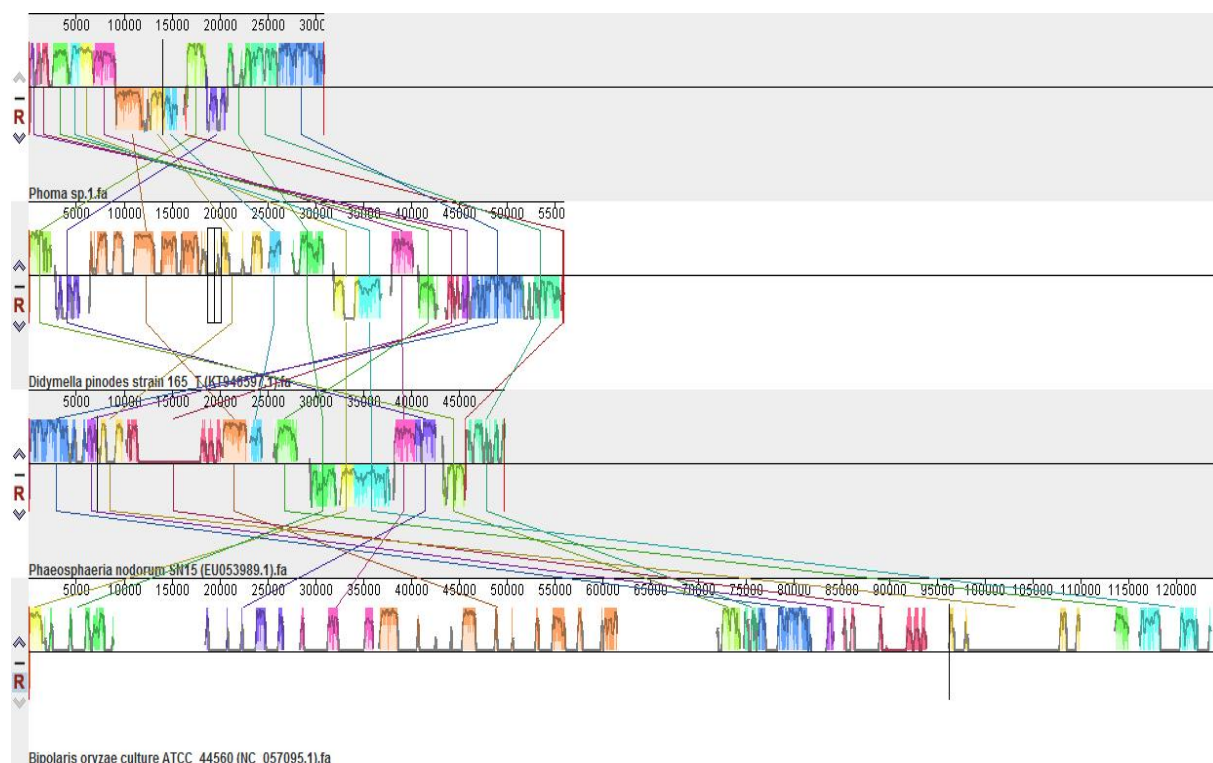


Рис. 9. Карта митохондриальной синтении *Phoma* sp.1 (OM236666), *D. pinodes* (KT946597), *P. nodorum* (EU053989), *B. oryzae* (NC_057095) (Mauve)

Fig. 9. Map of mitochondrial syntenia of *Phoma* sp.1 (OM236666), *D. pinodes* (KT946597), *P. nodorum* (EU053989), *B. oryzae* (NC_057095) (Mauve)

размером. При этом в ходе реаннотации последовательностей сравниваемых депозитов Pleosporineae установлено, что количество структурных генов (в частности, кодирующих митохондриальные белки) у данных видов является сходным. Проведенное изучение данных регионов, обуславливающих увеличение размера митохондриальных геномов Pleosporineae, показало, что в основном они представляют собой гены самонаводящихся эндонуклеаз LAGLIDADG типа, а увеличение числа копий является следствием их экспансии. Так, у *Phoma* sp.1 была выявлена 1 копия данного гена, а у *B. oryzae* – 9. Сравнительный анализ последовательностей копий генов самонаводящихся эндонуклеаз выявил различия между ними, что указывает на филогенетический характер преобразований или на их разное происхождение. Кроме того, увеличение размеров геномов было связано с появлением дополнительных потенциальных рамок считывания, кодирующих полипептиды с неустановленной функцией.

В целом полученные данные свидетельствуют о возможности использовать в качестве таксономических маркеров не только особенности нуклеотидного состава генов и некодирующих последовательностей, но и порядок их расположения в митохондриальном геноме.

Заключение. В ходе исследований была описана структурно-функциональная организация митохондриального генома *Phoma* sp.1. Показано, что этот геном, несмотря на относительно небольшой размер, содержит полный перечень структурных генов, выявляемых у видов Pleosporineae. На основании полученных данных сравнительного анализа мтДНК среди представителей подотряда Pleosporineae выявлено, что филогенетические преобразования митохондриальных геномов связаны не только с внутригенными изменениями, но и затрагивают порядок расположения генов, а также обусловлены инсерцией генетических элементов с неустановленной функциональной значимостью. По результатам оценки диагностических характеристик генов мтДНК как молекулярных признаков для проведения таксономических исследований установлено, что наиболее информативными ДНК-маркерами являются *cob* и *cox*. Меньшей информативностью

характеризуются *nad1*, *nad6*, *rps5* и *atp6*. Исходя из данных молекулярно-генетического анализа следует, что исследованная анаморфа *Phoma* sp.1 имеет наибольшую степень сходства с депозитами NCBI GenBank, относящихся к грибам с телеоморфной стадией *Didymella*, что в свою очередь позволяет уточнить ее таксономический статус и оптимизировать подходы к фитопатологической диагностике возбудителей фомоза лесного посадочного материала хвойных пород Беларуси.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке БРФФИ в рамках научного проекта № B20M-014.

Acknowledgements. The study was financially supported by the BRFFR within the framework of the Scientific Project No. B20M-014.

Список использованных источников

1. *Phoma* identification manual. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture / G. H. Boerema [et al.]. – Wallingford : CABI, 2004. – 470 p.
2. Chemical characterization of *Phoma pomorum* isolated from Danish maize / J. L. Sørensen [et al.] // Int. J. Food Microbiol. – 2010. – Vol. 136, N 3. – P. 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.001>
3. Yarmalovich, V. A. *Phoma* blight of planting stock of *Pinus sylvestris* L. and *Picea abies* L. in forest nurseries of Belarus / V. A. Yarmalovich, M. O. Siaredzich // Bull. Transilv. Univ. Brasov. – 2019. – Vol. 12, N 2. – P. 27–36. <https://doi.org/10.31926/but.fwiafe.2019.12.61.2.2>
4. Deb, D. *Phoma* diseases: epidemiology and control / D. Deb, A. Khan, N. Dey // Plant Pathol. – 2020. – Vol. 69, N 7. – P. 1203–1217. <https://doi.org/10.1111/ppa.13221>
5. Bennett, A. *Phoma* infections: classification, potential food sources, and its clinical impact / A. Bennett, M. M. Ponder, J. Garcia-Diaz // Microorganisms. – 2018. – Vol. 6, N 3. – P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030058>
6. Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of Sao Paulo, Brazil / E. O. Costa [et al.] // Mycopathologia. – 1993. – Vol. 124. – P. 13–17. <https://doi.org/10.1007/BF01103051>
7. Outbreaks of phaeohyphomycosis in the chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) caused by *Phoma herbarum* / M. Faisal [et al.] // Mycopathologia. – 2007. – Vol. 163, N 1. – P. 41–48. <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0084-z>
8. Sullivan, R. F. *Phoma glomerata* as a mycoparasite of powdery mildew / R. F. Sullivan, J. F. White Jr. // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – Vol. 66, N 1. – P. 425–427. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.1.425-427.2000>
9. The lichenicolous *Phoma* species (Coelomycetes) on *Cladonia* / P. Diederich [et al.] // Lichenologist. – 2007. – Vol. 39, N 2. – P. 153–163. <https://doi.org/10.1017/s0024282907006044>
10. Gruyter, J. Revised taxonomy of *Phoma* and allied genera : Ph. D. Thesis / J. Gruyter ; Wageningen Univ. – 2012. – 180 p.
11. A new species and its phylogenetic placement in the *Didymella/Phoma* complex (Phaeosphaeriaceae, Pleosporales) / M. S. Torres [et al.] // Mycotaxon. – 2005. – Vol. 93. – P. 297–308.
12. Redisposition of phoma-like anamorphs in Pleosporales / J. Gruyter [et al.] // Stud. Mycol. – 2013. – Vol. 75, N 1. – P. 1–36. <https://doi.org/10.3114/sim0004>
13. The phoma-like dilemma / L. W. Hou [et al.] // Stud. Mycol. – 2020. – Vol. 96. – P. 309–396. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.001>
14. Boerema, G. H. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) – V. Subdivision of the genus in sections / G. H. Boerema // Mycotaxon. – 1997. – Vol. 64. – P. 321–333.
15. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterize *Phoma* and related pleosporalean genera / M. M. Aveskamp [et al.] // Stud. Mycol. – 2010. – Vol. 65. – P. 1–60. <https://doi.org/10.3114/sim.2010.65.01>
16. DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section Peyronellaea and multiple taxonomic novelties / M. M. Aveskamp [et al.] // Mycologia. – 2009. – Vol. 101. – P. 363–382. <https://doi.org/10.3852/08-199>
17. NCBI Genome search [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Phoma>. – Date of access: 04.05.2022.
18. Zhang, X. Draft genome sequence of *Phoma arachidicola* Wb2 causing peanut web blotch in China / X. Zhang // Curr. Microbiol. – 2019. – Vol. 76, N 2. – P. 200–206. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1612-z>
19. Genomics-driven discovery of a biosynthetic gene cluster required for the synthesis of BII-Rafflesfungin from the fungus *Phoma* sp. F3723 / S. Sinha [et al.] // BMC Genomics. – 2019. – Vol. 20, N 1. – Art. 374. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5762-6>
20. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск : Юнипол, 2007. – 176 с.
21. Lang, B. F. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes / B. F. Lang, M. W. Gray, G. Burger // Annu. Rev. Genet. – 1999. – Vol. 33. – P. 351–397. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.33.1.351>
22. The mitochondrial genome of a plant fungal pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (Mycosphaerellaceae), comparative analysis and diversification times of the *Sigatoka* disease complex using fossil calibrated phylogenies / J. E. Arcila-Galvis [et al.] // Life. – 2021. – Vol. 11, N 3. – Art. 215. <https://doi.org/10.3390/life11030215>

23. Mullineux, S. T. Evolutionary dynamics of the mS952 intron: a novel mitochondrial group II intron encoding a LAGLIDADG homing endonuclease gene / S. T. Mullineux, K. Willows, G. Hausner // *J. Mol. Evol.* – 2011. – Vol. 72, N 5–6. – P. 433–449. <https://doi.org/10.1007/s00239-011-9442-7>

24. Megarioti, A. H. The coevolution of fungal mitochondrial introns and their homing endonucleases (GIY-YIG and LAGLIDADG) / A. H. Megarioti, V. N. Kouvelis // *Genome Biol. Evol.* – 2020. – Vol. 12, N 8. – P. 1337–1354. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa126>

References

1. Boerema G. H., de Gruyter J., Noordeloos M. E., Hamers M. E. C. *Phoma identification manual. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture*. CABI, 2004. 470 p.
2. Sørensen J. L., Aveskamp M. M., Thrane U., Andersen B. Chemical characterization of *Phoma pomorum* isolated from Danish maize. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, vol. 136, no. 3, pp. 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.001>
3. Yarmalovich V. A., Siaredzich M. O. *Phoma* blight of planting stock of *Pinus sylvestris* L. and *Picea abies* L. in forest nurseries of Belarus. *Bulletin of the Transilvania University of Bradov*, 2019, vol. 12, no. 2, pp. 27–36. <https://doi.org/10.31926/but.fwi.2019.12.61.2.2>
4. Deb D., Khan A., Dey N. *Phoma* diseases: epidemiology and control. *Plant Pathology*, 2020, vol. 69, no. 7, pp. 1203–1217. <https://doi.org/10.1111/ppa.13221>
5. Bennett A., Ponder M. M., Garcia-Diaz J. *Phoma* infections: classification, potential food sources, and its clinical impact. *Microorganisms*, 2018, vol. 6, no. 3, pp. 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030058>
6. Costa E. O., Gandra C. R., Pires M. F., Coutinho S. D., Castilho W., Teixeira C. M. Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of Sao Paulo, Brazil. *Mycopathologia*, 1993, vol. 124, pp. 13–17. <https://doi.org/10.1007/BF01103051>
7. Faisal M., Elsayed E., Fitzgerald S. D., Silva V., Mendoza L. Outbreaks of phaeohyphomycosis in the chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) caused by *Phoma herbarum*. *Mycopathologia*, 2007, vol. 163, no. 1, pp. 41–48. <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0084-z>
8. Sullivan R. F., White J. F. Jr. *Phoma glomerata* as a mycoparasite of powdery mildew. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, vol. 66, no. 1, pp. 425–427. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.1.425-427.2000>
9. Diederich P., Kocourkova J., Etayo J., Zhurbenko M. The lichenicolous *Phoma* species (Coelomycetes) on *Cladonia*. *Lichenologist*, 2007, vol. 39, no. 2, pp. 153–163. <https://doi.org/10.1017/s0024282907006044>
10. Gruyter J. *Revised taxonomy of Phoma and allied genera*. Ph. D. Thesis. Wageningen, 2012. 180 p.
11. Torres M. S., White J. F. Jr., Cazares G., Bergen M., Bischoff J. F., Sullivan R. F. A new species and its phylogenetic placement in the *Didymella/Phoma* complex (Phaeosphaeriaceae, Pleosporales). *Mycotaxon*, 2005, vol. 93, pp. 297–308.
12. Gruyter J., Woudenberg J. H. C., Aveskamp M. M., Verkley G. J. M., Groenewald J. Z., Crous P. W. Redisposition of phoma-like anamorphs in Pleosporales. *Studies in Mycology*, 2013, vol. 75, no. 1, pp. 1–36. <https://doi.org/10.3114/sim0004>
13. Hou L.W., Groenewald J. Z., Pfenning L. H., Yarden O., Crous P. W., Cai L. The phoma-like dilemma. *Studies in Mycology*, 2020, vol. 96, pp. 309–396. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.001>
14. Boerema G. H. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) – V. Subdivision of the genus in sections. *Mycotaxon*, 1997, vol. 64, pp. 321–333.
15. Aveskamp M. M., Gruyter J., Woudenberg J. H. C., Verkley G. J. M., Crous P. W. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterize *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 2010, vol. 65, pp. 1–60. <https://doi.org/10.3114/sim.2010.65.01>
16. Aveskamp M. M., Verkley G. J. M., Gruyter J., Murace M. A., Perello A., Woudenberg J. H. C., Groenewald J. Z., Crous P. W. DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section Peyronellaea and multiple taxonomic novelties. *Mycologia*, 2009, vol. 101, pp. 363–382. <https://doi.org/10.3852/08-199>
17. NCBI Genome search. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Phoma> (accessed 04.05.2022).
18. Zhang X. Draft genome sequence of *Phoma arachidicola* Wb2 causing peanut web blotch in China. *Current Microbiology*, 2019, vol. 76, no. 2, pp. 200–206. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1612-z>
19. Sinha S., Nge C.-E., Leong C. Y., Ng V., Crasta S., Alfatah M. [et al.]. Genomics-driven discovery of a biosynthetic gene cluster required for the synthesis of BII-Rafflesfungin from the fungus *Phoma* sp. F3723. *BMC Genomics*, 2019, vol. 20, no. 1, art. 374. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5762-6>
20. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *Methods of molecular genetic analysis*. Minsk, Ynopol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
21. Lang B. F., Gray M. W., Burger G. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual Review of Genetics*, 1999, vol. 33, pp. 351–397. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.33.1.351>
22. Arcila-Galvis J. E., Arango R. E., Torres-Bonilla J. M., Arias T. The mitochondrial genome of a plant fungal pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (Mycosphaerellaceae), comparative analysis and diversification times of the *Sigatoka* disease complex using fossil calibrated phylogenies. *Life*, 2021, vol. 11, no. 3, art. 215. <https://doi.org/10.3390/life11030215>
23. Mullineux S. T., Willows K., Hausner G. Evolutionary dynamics of the mS952 intron: a novel mitochondrial group II intron encoding a LAGLIDADG homing endonuclease gene. *Journal of Molecular Evolution*, 2011, vol. 72, no. 5–6, pp. 433–449. <https://doi.org/10.1007/s00239-011-9442-7>
24. Megarioti A. H., Kouvelis V. N. The coevolution of fungal mitochondrial introns and their homing endonucleases (GIY-YIG and LAGLIDADG). *Genome Biology and Evolution*, 2020, vol. 12, no. 8, pp. 1337–1354. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa126>

Информация об авторах

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

Можаровская Людмила Валентиновна – науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: milamozh@yandex.by

Кирьянов Павел Сергеевич – мл. науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: pkirjanov@yandex.ru

Каган Дмитрий Ильич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: quercus-belarus@mail.ru

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

Information about the authors

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

Ludmila V. Mozharovskaya – Researcher. Forest Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: milamozh@yandex.by

Pavel S. Kiryanov – Junior Researcher. Forest Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: pkirjanov@yandex.ru

Dmitri I. Kagan – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Forest Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: quercus-belarus@mail.ru

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.524.2/34;58.002;504.056;504.064

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-374-385>

Паступіў у рэдакцыю 21.02.2022

Received 21.02.2022

I. М. Сцепановіч, Я. С. Шавалда

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

УДАСКАНАЛЕНАЯ МЕТОДЫКА ЭКОЛАГА-ГЕАБАТАНІЧНЫХ ДАСЛЕДАВАННЯЎ ПРЫДАРОЖНАЙ РАСЛІННАСЦІ

Анотацыя. Прасочаны магчымасці метаду экалага-фітацэнатычных профіляў у даследаваннях прыдарожнай расліннасці. Адзначана, што прымяненне дадзенага метаду дазваляе павысіць рэпрэзэнтатыўнасць геабатанічных апісанняў, а таксама зрабіць аб'ектыўны параўнальны аналіз стану фітацэнозаў, іх кампанентаў, экатопу ў прасторы і часе.

Экалага-фітацэналагічныя даследаванні, праведзеныя ўздоўж аўтадарог і чыгунак, сведчаць, па-першае, аб рэгіянальных асаблівасцях флоры і расліннасці, па-другое – аб спецыфіцы экасістэмнай прыналежнасці відаў і фітацэнозаў. Ступень сінантрапізацыі расліннасці ва ўсіх экасістэмах – «выемка», «нулявая адзнака» і «насып» – заканамерна зніжаецца ад лімітава высокай ля дарожнага палатна да мінімальнай на аддаленні 50 м і больш ад паласы адводу. Пры гэтым самыя высокія паказчыкі і найбольш рэзкае падзенне сінантрапізацыі назіраюцца ў экасістэме «насып» у закрытых поплавнай і балотнай экасістэмах, а таксама ў экасістэме «выемка» ў лясной экасістэме. Крыху меншыя змены ў лясной экасістэме ў экасістэмах «насып» і «нулявая адзнака». Лес выконвае бар'ерную функцыю. У адкрытых лугавых і аграэкасістэмах амплітуда распаўсюджвання антрапафітаў па лініі профілю ўсюды невысокая. Заўважаны ўплыў кірунку аўтадарог і чыгунак і, адпаведна, схілаў насыпаў на інтэнсіўнасць сінантрапізацыі расліннасці, у тым ліку на пранікненне інвазійных відаў.

Ключавыя словы: метады экалага-фітацэнатычных профіляў, праграма PROFIL, прыдарожная расліннасць, біялагічная разнастайнасць, сінантрапізацыя, інвазійныя расліны, антрапагеннае ўздзеянне, экалогія

Для цытавання: Сцепановіч, І. М. Удасканаленая методыка экалага-геабатанічных даследаванняў прыдарожнай расліннасці / І. М. Сцепановіч, Я. С. Шавалда // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 374–385. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-374-385>

Iosiph M. Stepanovich, Yauheni S. Shavald

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

ADVANCED METHODOLOGY OF ECOLOGICAL AND GEOBOTANICAL RESEARCH OF ROADSIDE VEGETATION

Abstract. The possibilities of the method of ecological-phytocenotic profiles in the study of roadside vegetation are tracked. Its advantages are noted: it increases the representativeness of geobotanical relevés, allows to make an objective comparative analysis of the state of phytocenoses, their components, ecotopes in spatiotemporal relationship.

Ecological and phytocenological studies carried out along roads and railways show, firstly, the regional features of flora, and secondly, the specifics of the ecosystem belonging of species and phytocenoses. The degree of synanthropization of vegetation in all exposures (“notch”, “zero mark” and “mound”) naturally decreases from extremely high near the road to the minimum at a distance of 50 m or more from the road path. At the same time the highest rates and the sharpest decrease in synanthropization are observed in the “mound” exposition in closed floodplain and swampy ecosystems, as well as in the “notch” exposition in the forest ecosystem. These changes in the forest ecosystem are somewhat lower in the expositions “mound” and “zero mark”. Forest acts as a barrier. The amplitude of the distribution of anthropophytes along the profile is generally small in open meadows and in agroecosystems. The impact of mound slopes, the direction of roads and railways on the intensity of synanthropization of vegetation, including the penetration of invasive species, was found.

Keywords: method of ecological and phytocenotic profiles, PROFIL Program, roadside vegetation, biodiversity, synanthropization, invasive plants, anthropogenic impact, ecology

For citation: Stepanovich I. M., Shavald Ya. S. Advanced methodology of ecological and geobotanical research of roadside vegetation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 374–385 (in Belarusian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-374-385>

Уводзіны. Выгаднае геаграфічнае становішча Рэспублікі Беларусь, наяўнасць сучасных мультымадальных транспартных калідораў, пашырэнне экспарту транспартных паслуг з'яўляюцца складовымі хуткага развіцця дарожнай сеткі краіны. Працягласць сеткі аўтамабільных дарог агульнага карыстання ў Беларусі зараз складае 86,9 тыс. км, у тым ліку 15,9 тыс. км рэспубліканскіх (магістральных) і 71 тыс. км мясцовых дарог. Эксплуатацыйная працягласць чыгуначных трас складае 5,5 тыс. км [1]. Але будаўніцтва і эксплуатацыя дарожных камунікацый можа мець і мае разнастайныя наступствы, якія ўплываюць на стан прылеглых прыродна-раслінных комплексаў.

Развіццё транспартнай інфраструктуры, як правіла, суправаджаецца знішчэннем прыроднай (лясной, лугавой, балотнай) расліннасці. Змяняюцца экалагічныя рэжымы ў паласе адводу і на прылеглых тэрыторыях. Адпаведна трансфармуюцца расліннасць, рэльеф, глебава-гідралагічны рэжым. Ствараюцца новыя, не характэрныя для дадзенай мясцовасці экалагічныя нішы. Менавіта развітая транспартная сетка і сістэма камунікацый з вялікімі плошчамі парушаных тэрыторый, занятых сінантропнымі, у тым ліку сеянымі, супольніцтвамі з рэжымам аслабленай цэнатычнай замкнёнасці могуць служыць плацдармам для ўкаранення і далейшага распаўсюджвання адвентыўных відаў, у тым ліку у прылеглыя прыродныя экасістэмы, выклікаючы іх трансфармацыю, што праяўляецца ў выцясненні абарыгенных раслін, зніжэнні біяразнастайнасці на папуляцыйна-відавым і фітацэнатычным узроўнях, нанясенні экалагічнага і эканамічнага ўрон.

Неабходна адзначыць, што расліннасць паласы адводу ў плане геабатанічнай структуры і на фоне тэхнагеннага ўздзеяння ў Беларусі не вывучалася. Маецца значны досвед у ацэнцы экалагічнага стану гарадской расліннасці, прысадаў і прыдарожных лясных масіваў [2–5], але толькі пачатковы і фрагментарны ў сінтаксанамічных [6] і маніторынгавых [7] даследаваннях травяністай расліннасці. Асаблівасці фармавання прыдарожных раслінных комплексаў, вертыкальнай і гарызантальнай структуры, фларыстычнага складу фітацэнозаў вымагаюць шукаць нестандартныя падыходы і метады даследаванняў, якія аб'ектывізуюць атрыманне вынікаў, неабходных для распрацоўкі тэарэтычных асноў фітацэнатычнай зменлівасці і распаўсюджвання відаў уздоўж транспартных камунікацый, а таксама распрацоўкі практычных мер па рэгуляванні сукцэсійным працэсам, зніжэнні негатыўных уплываў на расліннасць і павелічэнні яе часовай трываласці і эстэтычнасці.

Мэта даследаванняў – выбар і апрабаванне метадаў экалага-геабатанічных даследаванняў прыдарожнай расліннасці. Для яе дасягнення было прадугледжана:

правесці маршрутна-дэталёвыя экалага-геабатанічныя даследаванні прыдарожнай расліннасці; закласці экалага-фітацэнатычныя профілі (уключаючы інструментальнае нівеляванне мясцовасці) і сетку пробных пляцовак (ПП) на мадэльных участках дарог;

выканаць экалагічны аналіз і выявіць заканамернасці распаўсюджвання прыдарожных фітацэнозаў;

вызначыць ступені сінантрапізацыі прыдарожных раслінных супольніцтваў і асаблівасці распаўсюджвання інвазійных відаў.

Аб'екты і метады даследавання. Аб'ектамі даследаванняў з'яўляліся ўсе катэгорыі расліннага покрыва, якія сустракаюцца ўздоўж аўтамабільных і чыгуначных трас. У 2021 г. закладзена 45 ключавых участкаў (КУ) у паласе адводу. Паколькі транспартныя артэрыі пралягаюць праз розныя геамарфалагічныя структуры (узвышшы, раўніны, нізіны) і экасістэмы (лясныя, лугавыя, балотныя, сельскагаспадарчыя), у аснову палявых экалага-геабатанічных даследаванняў пакладзены метады экалага-фітацэнатычных профіляў (ЭФП). Сутнасць метаду заключаецца ў фіксаванні і вывучэнні ўсяго экалагічнага спектру раслінных супольніцтваў, размешчаных па лініі ЭФП на пэўным КУ. Па лініі профілю з улікам фітацэнатычнай рознасці і зменаў у рэльефе на 10 КУ (на прыкладзе экспазіцыі «выемка») здзейснена геадэзічная здымка мясцовасці (нівелірам). У камп'ютарных умовах нівелёвачныя даныя матэматычна апрацаваны і з дапамогай камп'ютарнай праграмы Profil (аўтары: П. А. Радзівонаў і І. М. Сцепановіч) ЭФП пабудаваны графічна [8, 9].

У маршрутна-дэталёвых і маніторынгавых даследаваннях выкарыстаны класічныя экалага-геабатанічныя метады [10–13]. Сасудзістыя расліны вызначаны з дапамогай выданняў [14–18],

імхі – [19, 20], лішайнікі – [21]. Прыналежнасць супольніцтваў да канкрэтных сінтаксонаў вызначаецца як з дапамогай паслядоўнай таблічнай апрацоўкі метадам Й. Браўн-Бланке [22], так і шляхам аналогій паводле распрацаваных сістэм [23–27], іх сінфітасазалагічны статус – па папярэднім спісе [28, 29].

Ацэнка сінантрапізацыі расліннасці праведзена з выкарыстаннем паказчыкаў: 1) індэкса сінантрапізацыі або сінантропнасці (Is) – адносіны колькасці сінантропных відаў (раслін, прышлых у выніку прамога ці ўскоснага дзеяння чалавека) да агульнай колькасці відаў у фітацэнозе; 2) індэкса апафітызацыі або апафітнасці (Iap) – адносіны колькасці апафітаў (раслін з мясцовай флоры, але не характэрных, прышлых у выніку дзеяння чалавека) да агульнай колькасці сінантропных відаў; 3) індэкса адвентызацыі або адвентыўнасці (Iad) – адносіны колькасці адвентаў (чужародных раслін з аддаленых рэгіёнаў, прышлых у выніку дзеяння чалавека) да агульнай колькасці сінантропных відаў [30]. Такі інтэграваны паказчык, як ступень сінантрапізацыі, вызначаны ў працэнтах суадносінай сумарнай праекцыйнай покрывнасці сінантропных раслін да агульнай сумарнай покрывнасці ўсіх вышэйшых сасудзістых відаў, зафіксаваных у геабатанічным апісанні супольніцтва [31].

У табл. 1 прыведзены прыклад ацэнкі сінантрапізацыі прыдарожнага расліннага супольніцтва на ПП-1п КУ-3 «Гарадзішча» ў поплаўнай экасістэме левабярэжнай р. Ясельда (1,2 км на паўднёвы захад ад в. Гарадзішча Пінскага раёна Брэсцкай вобласці. GPS-каардынаты: N 52°10'19,1"; E 26°14'28,3". Глебагрунт насыпны рыхлапясчаны з друзам, УГВ ніжэй за 2,0 м).

Табліца 1. Экалага-фларыстычная характарыстыка дэрыватнага супольніцтва на ПП-1п КУ-3 «Гарадзішча» ў поплаўнай экасістэме левабярэжнай р. Ясельда

Table 1. Ecological and floristic characteristics of the derivative community on the sample plot 1p of the key area 3 Haradzishcha in the floodplain ecosystem of the left-bank river Jasiel'da

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фена- фаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрывнасць, %	Багатаснасць, балы	Сінантропны кампанент
Падрост	II	1,5			0,1		
<i>Acer negundo</i>			вег	4	0,1	Rr	адв (інв)
Жывое наглебавае покрыва: травы	III	1,2–0,3			96		
<i>Arrhenatherum elatius</i>			цв	3	20	Sp	адв (інв)
<i>Melilotus officinalis</i>			бут	4	50	Cop ₂	адв (інв)
<i>Centaurea rhenana</i>			бут	3	7	Sp	адв (інв)
<i>Gypsophila paniculata</i>			цв	5	2	Sol	адв (інв)
<i>Vincetoxicum hirundinaria</i>			цв	4	25	Cop ₁	аб/ап
<i>Elytrigia repens</i>			кол	3	10	Sp	аб/ап
<i>Conyza canadensis</i>			бут	3	5	Sp	адв (інв)
<i>Artemisia campestris</i>			вег	4	3	Sol	аб/ап
<i>Poa angustifolia</i>			цв	3	12	Sp	аб/ап
<i>Pimpinella saxifraga</i>			вег	3	5	Sp	аб/ап
<i>Galium verum</i>			бут	3	6	Sp	аб/ап
<i>Galium album</i>			вег	3	4	Sol	аб/ап
<i>Coronilla varia</i>			бут	5	5	Sp	аб/ап
<i>Anisantha tectorum</i>			пл	4	15	Sp	аб/ап
<i>Vicia angustifolia</i>			цв	3	1	Sol	аб/ап
<i>Equisetum arvense</i>			вег	3	4	Sol	аб/ап
<i>Convolvulus arvensis</i>			вег	3	1	Sol	адв (інв)
Жывое наглебавае покрыва: імхі	IV	0,01			10		
<i>Brachythecium albicans</i>			вег	2	3	Sol	
<i>Ceratodon purpureus</i>			вег	3	7	Sp	

Заканчэнне табл. 1

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фена- фаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць, балы	Сінантропны кампанент
Індэкс сінантрапізацыі (Is)	1,00						
Індэкс апафітызацыі (Iap)							0,61
Індэкс адвентызацыі (Iad)							0,39
Ступень сінантрапізацыі, %							100,0

З а ў в а г і. 1. Лацінскія назвы сасудзістых раслін дадзены па С. К. Чарапанаву [32], імхоў – па М. С. Ігнатаву і інш. [33].

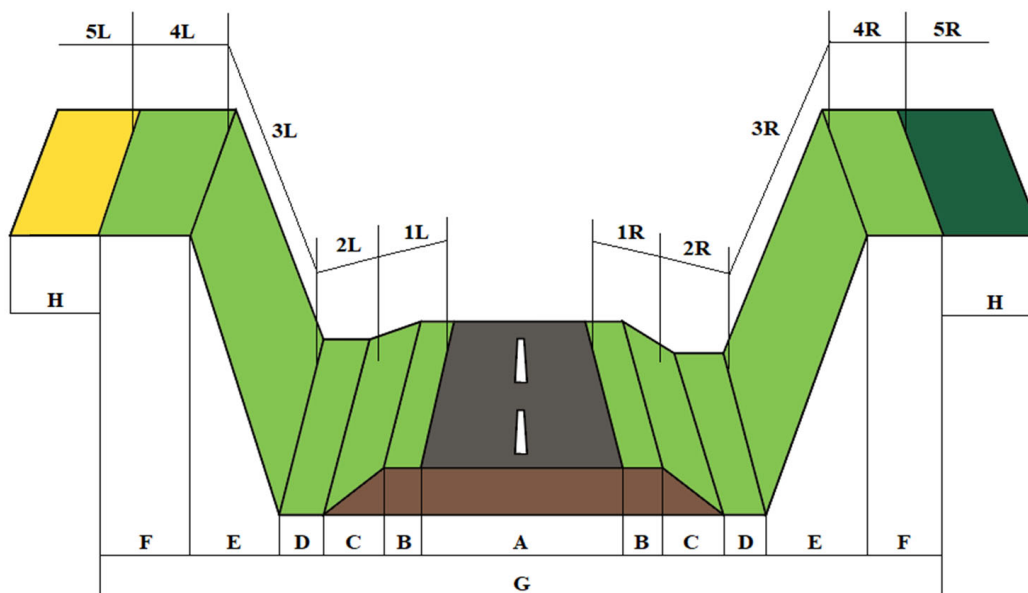
2. Багатаснасць відаў вызначана па ўдасканаленай шкале О. Друдэ: Un (unicum) – расліны прадстаўлены адной асобінай; Rr (rari) – расліны сустракаюцца адзінкава; Sol (solitariae) – расліны сустракаюцца рэдка; Sp (sparsae) – расліны сустракаюцца ў невялікай колькасці, расцярушана; Cor₁₋₃ (copiosae) – расліны прадстаўлены ў вялікай колькасці асобін; Soc (sociales) – расліны ўтвараюць фон, наземныя часткі іх змыкаюцца.

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

4. Скарачэнне «інв» – інвазійны.

Вынікі і іх абмеркаванне. Як вядома, дарогі праходзяць у разнастайным рэльефе. Таму ЭФП закладаюцца ў трох экспазіцыях: «выемка», «нулявая адзнака» і «насып». Лінія профілю праходзіць тарчкова ад цэнтра дарожнага палатна ў абодва бакі (злева і справа), да 50 м ад краю паласы адводу. Агульная працягласць ЭФП 150–200 м і больш. ПП закладаюцца ў адпаведнасці са структурнымі часткамі паласы адводу па сектарах, якія аддалены ад цэнтра дарогі сіметрычна на пэўнай адлегласці. Колькасць ПП на профілі, як правіла, 10 (на прыкладзе экспазіцыі «выемка») (па 5 злева і справа ад дарожнага палатна) (мал. 1).

Неабходна адзначыць, што марфалагічная будова паласы адводу ў пэўных экспазіцыйных становішчах як аўтамабільных дарог, так і чыгунак амаль ідэнтычная. Адсюль і аднолькавыя назвы структурных частак прыдарожнай паласы ў адпаведных экспазіцыях.



Мал. 1. Структурныя часткі паласы адводу і адпаведныя ім пробныя пляцоўкі: А – праезная частка; В, С – абочына і верхняя частка адхону насыпу (ПП 1Л, 1Р); С, D – ніжняя частка адхону насыпу і кювет (ПП 2Л, 2Р); Е – адхон выемкі (ПП 3Л, 3Р); F – крайняя частка паласы адводу (ПП 4Л, 4Р); G – паласа адводу; H – супольніцтва экасістэмы, у якой пралягае дарога (ПП 5Л, 5Р)

Fig. 1. Structural parts of the road path and the sample plots (RP) corresponding to them: A – roadway; B, C – roadside and top of mound slope (RP 1L, 1R); C, D – the lower part of the mound slope and ditch (RP 2L, 2R); E – notch slope (RP 3L, 3R); F – edge of the road path (RP 4L, 4R); G – road path; H – the community of the ecosystem in which the road runs (RP 5L, 5R)

У экспазіцыі «выемка»: ПП-5л – у 50 м ад краю паласы адводу злева (з аднаго боку дарогі), ПП-4л – крайвая частка паласы адводу, ПП-3л – адхон выемкі, ПП-2л – кювет, ПП-1л – левая абочына, ПП-0 – цэнтр дарожнага палатна (падзяляльная паласа), ПП-1п – правая абочына (з другога боку дарогі), ПП-2п – кювет, ПП-3п – адхон выемкі, ПП-4п – крайвая частка паласы адводу, ПП-5п – у 50 м ад краю паласы адводу справа.

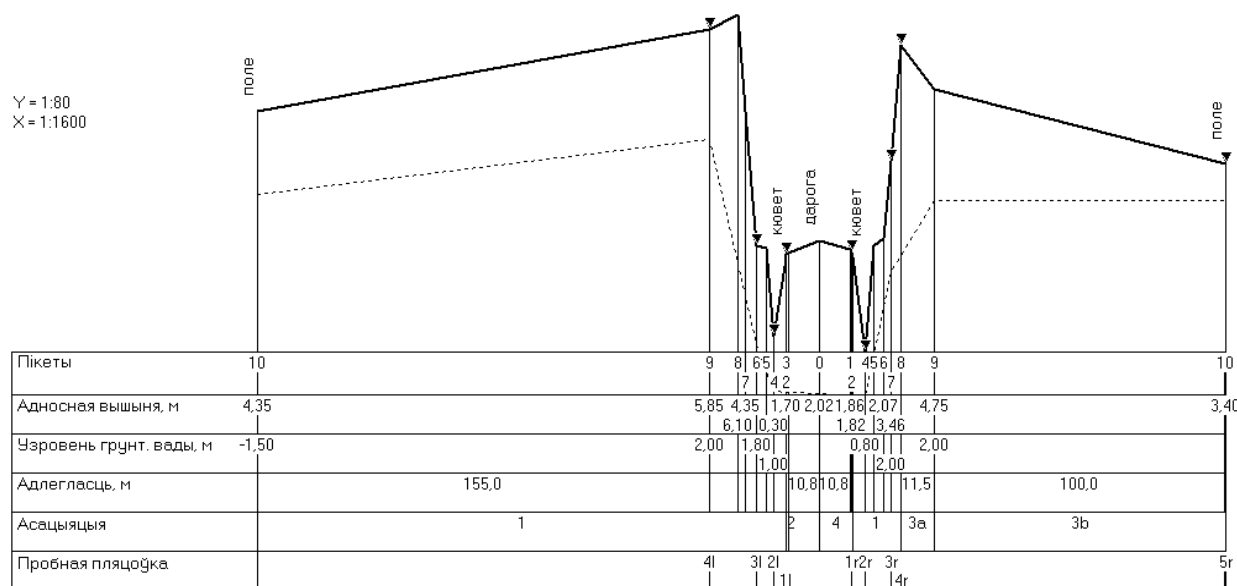
У экспазіцыі «нулявая адзнака»: ПП-5л – у 50 м ад краю паласы адводу злева (з аднаго боку дарогі), ПП-4л – крайвая частка паласы адводу (прысада), ПП-3л – вонкавая краёчка кювета, ПП-2л – кювет, або берма, ПП-1л – левая абочына, ПП-0 – цэнтр дарожнага палатна (падзяляльная паласа), ПП-1п – правая абочына (з другога боку дарогі), ПП-2п – кювет, або берма, ПП-3п – вонкавая краёчка кювета, ПП-4п – крайвая частка паласы адводу (прысада), ПП-5п – у 50 м ад краю паласы адводу справа.

У экспазіцыі «насып»: ПП-5л – у 50 м ад краю паласы адводу злева (з аднаго боку дарогі), ПП-4л – крайвая частка паласы адводу (прысада), ПП-3л – падножжа насыпу, або берма, ПП-2л – адхон насыпу, ПП-1л – левая абочына, ПП-0 – цэнтр дарожнага палатна (падзяляльная паласа), ПП-1п – правая абочына (з другога боку дарогі), ПП-2п – адхон насыпу, ПП-3п – падножжа насыпу (берма), ПП-4п – крайвая частка паласы адводу (прысада), ПП-5п – у 50 м ад краю паласы адводу справа.

У асаблівых выпадках (напрыклад, пры наяўнасці складаных элементаў рэльефу ці фітацэнацыйных асаблівасцяў) колькасць ПП можа быць павялічана, а пры спрашчэнні – зменшана.

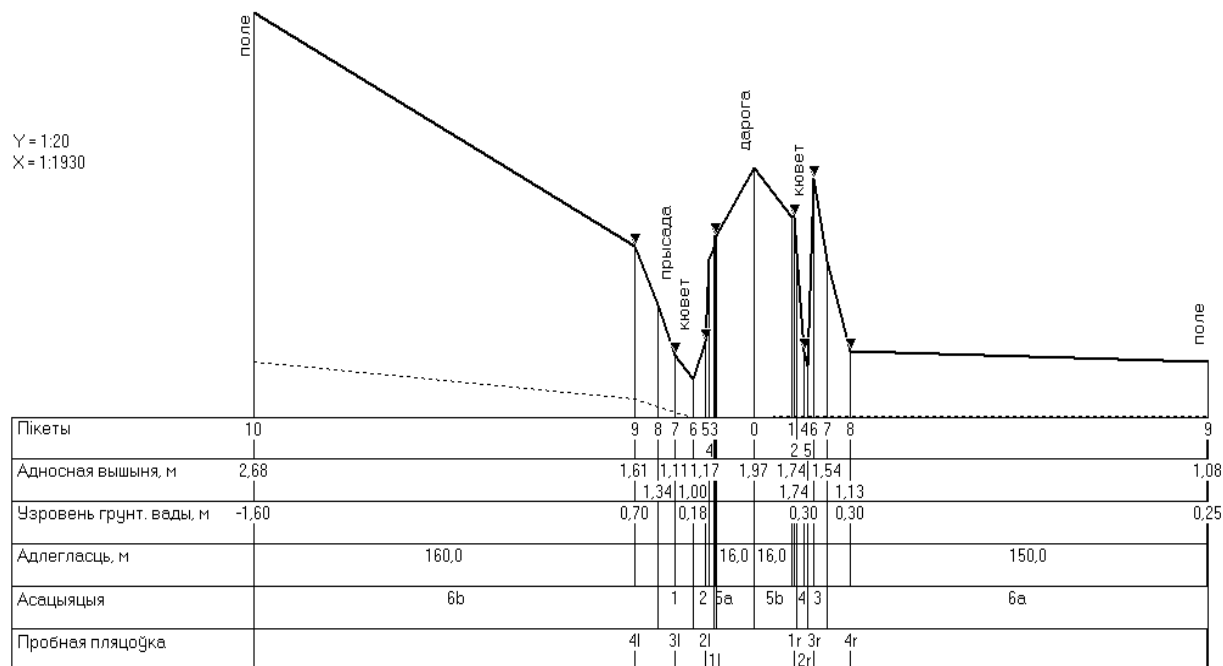
На мал. 2–4 пададзены прыклады графічнага адлюстравання ЭФП у трох становішчах дарогі.

Ад становішча дарогі ў пэўнай экспазіцыі істотна залежаць размеркаванне расліннасці, характар і інтэнсіўнасць працэсу сінантрапізацыі. Асабліва выразныя змены ў раслінным покрыве адбываюцца па лініі ЭФП. Ва ўсіх экспазіцыях назіраецца заканамернае зніжэнне колькасці антрапафітаў і іх багатаснасці (праекцыйнай покрывнасці) у кірунку ад дарожнага палатна да



Мал. 2. Экалага-фітацэнацыйны профіль праз аўтамабільную дарогу Мінск–Орша ў экспазіцыі «выемка» (0,5 км на поўдзень ад в. Высокая Горка Смалявіцкага раёна Мінскай вобласці), 2021 г. Працягласць 335,6 м. Супольніцтвы (асацыяцыі): 1 – аграфітацэноз з дамінаваннем *Lolium perenne* L.; 2 – *Echinochloo-Setarietum* Krus. et Vlieg. (1939) 1940 (subas. *E.-S. chenopodietosum albi*); 3 – *Chenopodietum albi* Solm. in Mirk. et al. 1986 (subas.: a – *Ch. a. echinochloetosum crusgalli*, b – *Ch. a. typicum*); 4 – *Lolio-Plantaginetum majoris* Beger 1930 (subas. *L.-P. m. polygonetosum aviculari*)

Fig. 2. Ecological-phytocenotic profile across the highway Minsk–Orsha in the exposition “notch” (0.5 km south of the village Vysokaja Horka, Smaliavichy district, Minsk region), 2021. Length 335.6 m. Communities (associations): 1 – agrophytocenosis dominated by *Lolium perenne* L.; 2 – *Echinochloo-Setarietum* Krus. and Vlieg. (1939) 1940 (subass. *E.-S. chenopodietosum albi*); 3 – *Chenopodietum albi* Solm. in Mirk. et al. 1986 (subass.: a – *Ch. a. Echinochloetosum crusgalli*, b – *Ch. a. typicum*); 4 – *Lolio-Plantaginetum majoris* Beger 1930 (subass. *L.-P. m. polygonetosum aviculari*)



Мал. 3. Экалага-фітацэнатычны профіль праз аўтамабільную дарогу Мінск–Брэст у экспазіцыі «нулявая адзнака» (1,0 км на поўдзень ад в. Чырвоная Горка Дзяржынскага раёна Мінскай вобласці), 2021 г. Працягласць 404,8 м. Супольніцтвы (асацыяцыі): 1 – культура *Acer platanoides* L.; 2 – *Festucetum rubrae* (Domin 1923) Válek 1956 em. Pukau et al. 1956 (subas. *F. r. elytrigietosum repentis*); 3 – *Dactylidetum glomeratae* Jenik et al. 1980 (subas. *D. g. elytrigietosum pratensis*); 4 – *Festucetum pratensis* Soó 1938 (subas. *F. p. dactylidetosum glomeratae*); 5 – *Polygonetum aviculari* Gams 1927 em. Knapp 1945 em. Jehlik in Hejný et al. 1979 (subas.: a – *P. a. potentilletosum anserinae*, b – *P. a. agrostidetosum stoloniferae*); 6 – *Chenopodietum albi* Solm. in Mirk. et al. 1986 (subas.: a – *Ch. a. typicum*, b – *Ch. a. sonchetosum arvensi*)

Fig. 3. Ecological-phytocenotic profile across the highway Minsk-Brest in the exposition “zero mark” (1.0 km south of the village Chyrvonaja Horka, Dziarzhynsk district, Minsk region), 2021. Length 404.8 m. Communities (associations): 1 – culture of *Acer platanoides* L.; 2 – *Festucetum rubrae* (Domin 1923) Válek 1956 em. Pukau et al. 1956 (subass. *F. r. elytrigietosum repentis*); 3 – *Dactylidetum glomeratae* Jenik et al. 1980 (subass. *D. g. elytrigietosum pratensis*); 4 – *Festucetum pratensis* Soó 1938 (subass. *F. p. dactylidetosum glomeratae*); 5 – *Polygonetum aviculari* Gams 1927 em. Knapp 1945 em. Jehlik and Hejný et al. 1979 (subass.: a – *P. a. potentilletosum anserinae*, b – *P. a. agrostidetosum stoloniferae*); 6 – *Chenopodietum albi* Solm. in Mirk. et al. 1986 (subass.: a – *Ch. a. typicum*, b – *Ch. a. sonchetosum arvensi*)

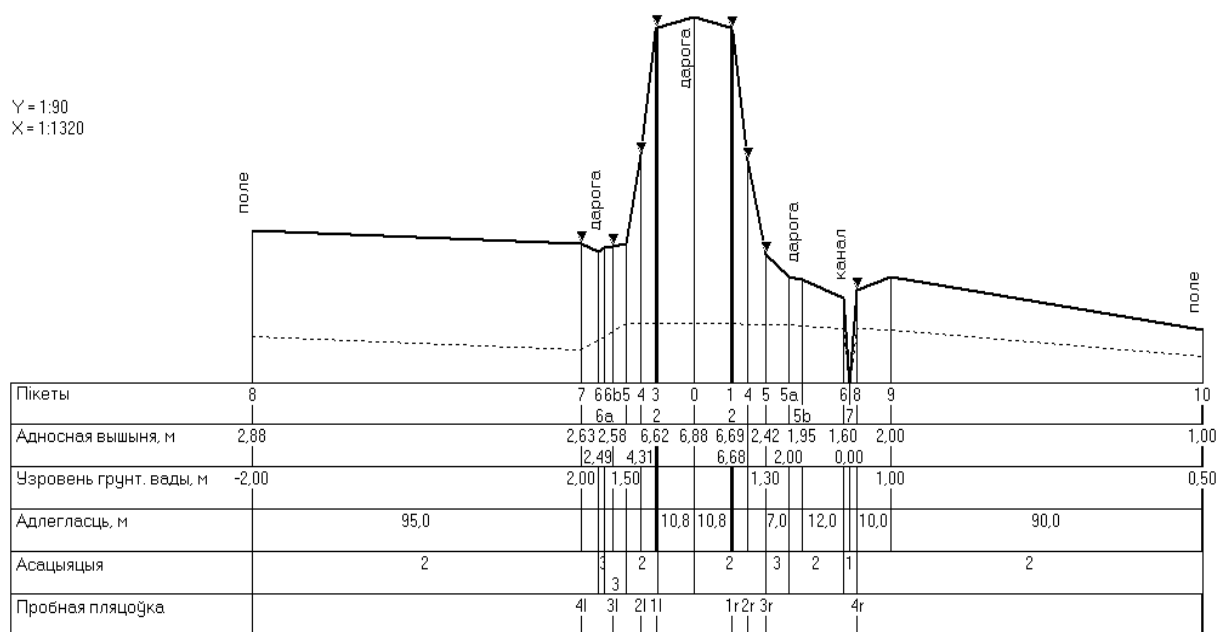
краю паласы адводу і далей абапал трасы. Прасочым гэта на прыкладах КУ, закладзеных на чыгуначных трасах у экспазіцыях «выемка», «нулявая адзнака» і «насып».

Становішча ў экспазіцыі «выемка» пададзена ЭФП-7 «Паляна» (5,0 км на паўднёвы захад ад в. Паляна Жыткавіцкага раёна Гомельскай вобласці). Выемка грунта зроблена тут толькі з аднаго (правага) боку чыгуначнай трасы Гомель–Брэст. Дадзенае становішча прымеркавана да лясной экасістэмы з раўнінным рэльефам. З левага боку чыгунка ў экспазіцыі «нулявая адзнака». Перавышэнне дарожнага палатна 0,5–1,0 м.

Змены абагуленых колькасных паказчыкаў па лініі ЭФП-7 «Паляна» дадзены ў табл. 2 і на мал. 5.

Як сведчаць даныя табл. 2 і мал. 5, з аддаленнем ад чыгункі зніжаецца колькасць антрапафітаў. На краі паласы адводу моцным бар’ерам на шляху іх распаўсюджвання выступае лес. Пэўную ролю ў гэтым працэсе іграе і павышэнне ў рэльефе. Так, у параўнанні з абочынай-2 (ПП-1п) на краі паласы адводу (вяршыня пагорка, ПП-3п) ступень сінантрапізацыі амаль утвая ніжэй, а праз 50 м у мяшаным лесе (эталон-2, ПП-4п) яна ўжо складае ўсяго 3,4 %.

Становішча ў экспазіцыі «нулявая адзнака» пададзена ЭФП-13 «Любішчыцы» (1,4 км на паўночны захад ад в. Любішчыцы Івацэвіцкага раёна Брэсцкай вобласці). Чыгуначная траса Мінск–Брэст пралягае ў аграэкасістэме. Абапал дарогі сфармаваны прысады з дуба чарэшчатага (*Quercus robur* L.) і хмызняка – караганы дрэвападобнай або жоўтай акацыі (*Caragana arborescens* Lam.). Адносная вышыня дарожнага насыпу 0,5–1,5 м.



Мал. 4. Экалага-фітацэнатычны профіль праз аўтамабільную дарогу Мінск–Орша ў экспазіцыі «насып» (0,4 км на ўсход ад в. Новае Жыццё Смалявіцкага раёна Мінскай вобласці), 2021 г. Працягласць 278,0 м. Супольніцтвы (асацыяцыі): 1 – *Scirpetum silvatici* Eggler 1933 em. Knapp 1946 (subas. *S. s. juncetosum effusi*); 2 – аграфітацэнэз з *Lolium perenne* L.; 3 – *Echinochloo-Setarietum* Krus. et Vlieg. (1939) 1940 (subas. *E.-S. typicum*)

Fig. 4. Ecological-phytocenotic profile across the highway Minsk–Orsha in the exposition “mound” (0.4 km east of the village Novaje Zhyccio, Smaliavichy district, Minsk region), 2021. Length 278.0 m. Communities (associations): 1 – *Scirpetum silvatici* Eggler 1933 em. Knapp 1946 (subass. *S. s. juncetosum effusi*); 2 – agrophytocenosis dominated with *Lolium perenne* L.; 3 – *Echinochloo-Setarietum* Krus. and Vlieg. (1939) 1940 (subass. *E.-S. typicum*)

Табліца 2. Сінантрапізацыя супольніцтваў на ПП ЭФП-7 «Паляна»

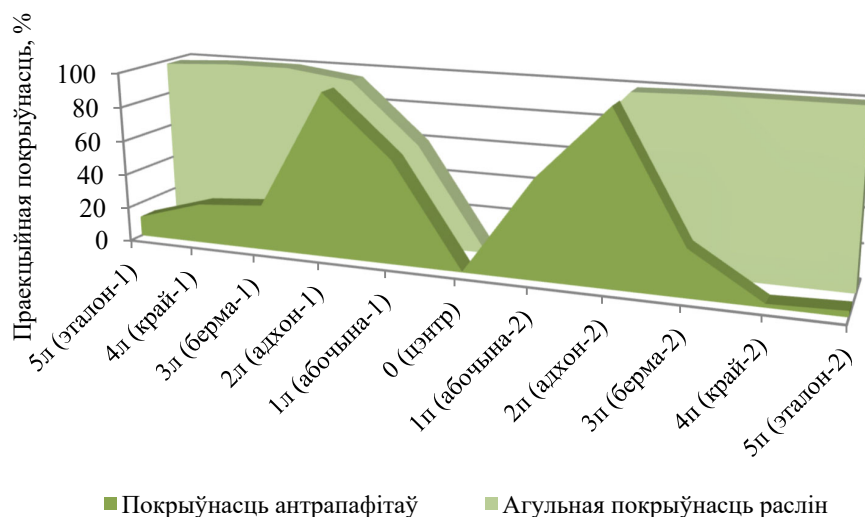
Table 2. Synanthropization of communities on the sample plot of EFP-7 Paliana

Паказчык	Пробная пляцоўка										
	5л (эталон-1)	4л (край-1)	3л (краёчка-1)	2л (берма-1)	1л (абочына-1)	0 (цэнтр)	1п (абочына-2)	2п (кювет-2)	3п (адхон-2)	4п (край-2)	5п (эталон-2)
Агульная колькасць відаў сасудзістых раслін	28	25	23	21	10	0	15	18	17	31	30
З іх антрапафітаў	11	20	20	21	10	0	14	16	15	17	7
Індэкс сінантрапізацыі	0,39	0,80	0,87	1,00	1,00		0,93	0,89	0,88	0,55	0,23
Індэкс апафітызацыі	0,91	0,90	0,85	0,81	0,70		0,71	1,00	1,00	0,94	1,00
Індэкс адвентызацыі	0,09	0,10	0,15	0,19	0,30		0,29	0,00	0,00	0,06	0,00
Ступень сінантрапізацыі, %	12,7	84,0	86,3	100,0	100,0		98,5	90,0	83,7	31,6	3,4

Змены абагуленых колькасных паказнікаў па лініі ЭФП-13 «Любішчыцы» дадзены ў табл. 3 і на мал. 5.

Даныя табл. 3 і мал. 6 паказваюць нязначны ваганні ступені сінантрапізацыі на ЭФП-13 «Любішчыцы», што тлумачыцца выраўненасцю рэльефу, генезісам расліннага покрыва і нязменнасцю гаспадарчага выкарыстання прылеглых да чыгункі ўгоддзяў.

Становішча ў экспазіцыі «насып» пададзена ЭФП-10 «Гінцавічы» (2,0 км на поўнач ад в. Гінцавічы Баранавіцкага раёна Брэсцкай вобласці). Чыгуначная траса Мінск–Брэст праходзіць у забалочанай даліне р. Мышанка (правы прыток р. Шчара). Насып даволі высокі – 6,0 м. Вугал нахілу каля 50°. Абапал паласы адводу сфармаваліся пераважна чорнаалешнікі, у меншай ступені – монадамінантныя трысняговыя супольніцтвы.



Мал. 5. Праекцыйная покрывнасць антрапафітаў на фоне агульнай покрывнасці сасудзістых раслін на ЭФП-7 «Паляна»
 Fig. 5. Projection coverage of anthropophytes on the background of the total coverage of vascular plants on EFP-7 Paliana

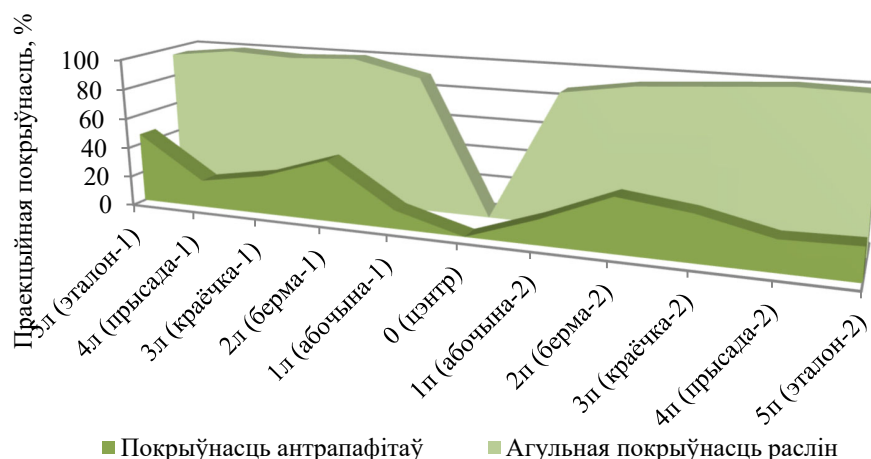
Табліца 3. Сінантрапізацыя супольніцтваў на ПП ЭФП-13 «Любішчыцы»
 Table 3. Synanthropization of communities on the sample plot of EFP-13 Liubishchycy

Паказчык	Пробная пляцоўка										
	5л (эталон-1)	4л (прысада-1)	3л (краёчка-1)	2л (берма-1)	1л (абочына-1)	0 (цэнтр)	1п (абочына-2)	2п (берма-2)	3п (краёчка-2)	4п (прысада-2)	5п (эталон-2)
Агульная колькасць відаў сасудзістых раслін	17	31	20	11	16	0	15	12	24	30	13
З іх антрапафітаў	16	8	6	2	5	0	7	4	9	8	12
Індэкс сінантрапізацыі	0,94	0,29	0,30	0,16	0,31		0,47	0,33	0,38	0,27	0,92
Індэкс апафітызацыі	0,88	0,67	0,83	0,50	0,60		0,57	0,50	0,78	0,75	0,75
Індэкс адвентызацыі	0,12	0,33	0,17	0,50	0,40		0,43	0,50	0,22	0,25	0,25
Ступень сінантрапізацыі, %	46,7	18,3	26,0	40,8	12,3		16,4	35,8	30,5	20,3	21,6

Змены абагуленых колькасных паказчыкаў па лініі ЭФП-10 «Гінцавічы» дадзены ў табл. 4 і на мал. 7.

Паводле табл. 4 і мал. 7, назіраецца цалкавае панаванне антрапафітаў на насыпе і яго схілах і, пачынаючы з падножжа дарожнага насыпу ці бермы, рэзкае зніжэнне як ступені сінантрапізацыі, так і відавой разнастайнасці расліннасці ўвогуле, што абумоўлена экстрэмальнасцю (працягла моцнай абводненасцю) экатопу.

Заклучэнне. Праведзеныя даследаванні прыдарожнай расліннасці паказалі прыдатнасць метаду ЭФП, які дазваляе фіксаваць усю разнастайнасць расліннасці па лініі профілю, тым самым павышаючы рэпрэзэнтатывнасць геабатанічных апісанняў. Пробныя пляцоўкі (іх 10 – па 5 злева і справа ад дарожнага палатна, на прыкладзе экспазіцыі «выемка») закладаюцца ў адпаведнасці са структурнымі часткамі паласы адводу па сектарах, якія аддалены ад цэнтра дарогі сіметрычна на пэўнай адлегласці. Графічнае адлюстраванне ЭФП дазваляе правесці параўнальны аналіз даследаваных фітацэнозаў (маніторынг) між сабой на дадзеным і з аналагамі на іншых участках. На профілі, размешчаным ля такога аб'екта ўздзеяння, як дарогі, можна прасачыць характар уплыву, вызначыць і параўнаць ступень забруджвання пэўнымі агентамі (цяжкімі металамі, солевымі



Мал. 6. Праекцыйная покрывнасць антрапафітаў на фоне агульнай покрывнасці сасудзістых раслін на ЭФП-13 «Любішчыцы»

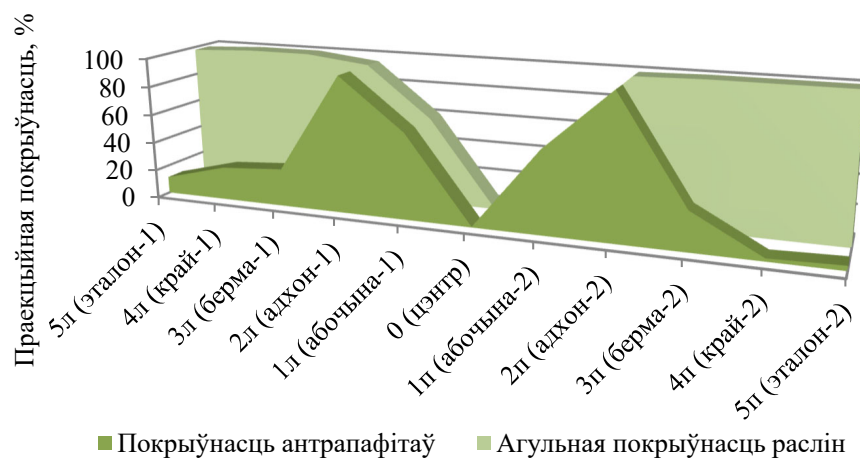
Fig. 6. Projection coverage of anthropophytes on the background of the total coverage of vascular plants on EFP-13 Liubishchycy

выкідамі, іншымі палютантамі) розных экасістэм, праз якія пралягае траса, – водных, лугавых, балотных, лясных, сельскагаспадарчых. Такім чынам, дадзены метадад спрыяе аб'ектыўнаму аналізу стану фітацэнозаў, іх кампанентаў, экатопаў у часе і прасторы.

Табліца 4. Сінантрапізацыя супольніцтваў на ПП ЭФП-10 «Гінцавічы»

Table 4. Synanthropization of communities on the sample plot of EFP-10 Gintsavichi

Паказчык	Пробная пляцоўка										
	5л (эталон-1)	4л (край-1)	3л (берма-1)	2л (адхон-1)	1л (абочына-1)	0 (цэнтр)	1п (абочына-2)	2п (адхон-2)	3п (берма-2)	4п (край-2)	5п (эталон-2)
Агульная колькасць відаў сасудзістых раслін	26	21	16	18	13	2	16	41	16	7	8
З іх антрапафітаў	6	6	7	18	13	2	16	40	9	3	3
Індэкс сінантрапізацыі	0,23	0,29	0,44	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	0,56	0,43	0,38
Індэкс апафітызацыі	0,67	1,00	1,00	0,78	0,69	1,00	0,69	0,78	0,67	0,67	1,00
Індэкс адвентызацыі	0,33	0,00	0,00	0,22	0,31	0,00	0,31	0,22	0,33	0,33	0,00
Ступень сінантрапізацыі, %	11,6	23,0	26,2	100,0	100,0	100,0	100,0	98,4	27,0	2,06	30,2



Мал. 7. Праекцыйная покрывнасць антрапафітаў на фоне агульнай покрывнасці сасудзістых раслін на ЭФП-10 «Гінцавічы»

Fig. 7. Projection coverage of anthropophytes on the background of the total coverage of vascular plants on EFP-10 Gintsavichi

Эколага-фітаэналагічныя даследаванні, праведзеныя ўздоўж аўтадарог і чыгунак, сведчаць, па-першае, аб рэгіянальных асаблівасцях флоры і расліннасці, па-другое – аб спецыфіцы экасістэмнай прыналежнасці відаў і фітаэназоў. Ступень сінантрапізацыі расліннасці ва ўсіх экспазіцыях – «выемка», «нулявая адзнака» і «насып» – заканамерна зніжаецца ад лімітава высокай ля дарожнага палатна да мінімальнай на аддаленні 50 м і больш ад паласы адводу. Пры гэтым самыя высокія паказчыкі і найбольш рэзкае падзенне сінантрапізацыі адзначаны ў экспазіцыі «насып» у закрытай поплавнай і балотнай экасістэмах, а таксама ў экспазіцыі «выемка» ў лясной экасістэме. Крыху ніжэйшыя гэтыя змены ў лясной экасістэме ў экспазіцыях «насып» і «нулявая адзнака». Лес выконвае бар’ерную функцыю. У адкрытых лугавых і аграэкасістэмах усюды па лініі профілю ўдзел антрапафітаў значны, але з невысокай амплітудай вагання іх колькасці. Большая колькасць сінантропных відаў на ўсходняй палове трас, магчыма, тлумачыцца перавагай заходняга пераносу паветраных мас, які садзейнічае распаўсюджанню насення раслін.

Спіс выкарыстаных крыніц

1. Сеть автомобильных дорог Беларуси: Инфографика БЕЛТА, 20.02.2021 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.belta.by/infographica/view/set-avtomobilnyh-dorog-belarusi-19897/>. – Дата доступа : 20.01.2022.
2. Куликова, Е. Я. Синтаксономическая структура и техногенное загрязнение травянистой растительности г. Минска: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е. Я. Куликова. – Минск, 2012. – 23 с.
3. Состояние зеленых насаждений в зоне воздействия Минской кольцевой автодороги и пути повышения их устойчивости / А. В. Пугачевский [и др.] // Ботаника (исследования) : сб. науч. тр. / Ин-т эксперим. ботаники НАН Беларуси. – Минск, 2006. – Вып. 33. – С. 220–235.
4. Состояние зеленых насаждений вдоль МКАД / А. В. Пугачевский [и др.] // Состояние окружающей среды и природопользование в городе Минске : сб. ст. / Изд. центр БГУ ; под ред. А. Н. Боровикова [и др.]. – Минск, 2007. – С. 94–99.
5. Судник, А. В. Состояние лесных и защитных древесных насаждений вдоль автомобильных дорог Беларуси / А. В. Судник, А. В. Пугачевский, И. П. Вознячук // Ботаника (исследования) : сб. науч. тр. / Ин-т эксперим. ботаники НАН Беларуси. – Минск, 2011. – Вып. 40. – С. 240–256.
6. Сцепановіч, Я. М. Сінтаксамічная структура і экалагічны стан прыдарожных фітаэназоў г. Мінска / Я. М. Сцепановіч, М. А. Ганцоўская // Антропогенная трансформация ландшафтов : сб. науч. ст. / Белорус. гос. пед. ун-т им. М. Танка ; редкол. : М. Г. Ясовеев [и др.]. – Минск, 2012. – С. 122–124.
7. Концепция формирования придорожных растительных сообществ высокой ботанической и эстетической ценности (придорожные цветы) / И. П. Вознячук [и др.] ; под ред. А. В. Пугачевского ; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В. Ф. Купревича, Центр. бот. сад, Нац. парк «Нарочанский». – Минск : Беларус. навука, 2021. – 146 с.
8. Сцепановіч, Я. М. Трансект-метады як аснова маніторынгу раслінных экасістэм (з нямецкага досведу) / Я. М. Сцепановіч // Міжнародны экалагічны досвед і яго выкарыстанне на Беларусі : зб. навук. арт. / пад агульн. рэд. У. К. Слабіна. – Віцебск, 2003. – С. 226–230.
9. Сцепановіч, І. М. Навукова-метадычныя асновы маніторынгу лугавой і лугава-балотнай расліннасці Беларусі / І. М. Сцепановіч, А. Ф. Сцепановіч. – Мінск : Беларус. навука, 2013. – 289 с.
10. Методика проведения мониторинга растительного мира в составе Национальной системы мониторинга окружающей среды Республики Беларусь / авт.-сост. : А. В. Пугачевский [и др.] ; под ред. А. В. Пугачевского. – Ин-т эксперим. бот. им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси. – Минск, 2011. – 165 с.
11. Программа и методика биогеоэкологических исследований / В. Н. Сукачев [и др.] ; отв. ред. Н. В. Дылис. – М. : Наука, 1974. – 403 с.
12. Метадычныя падыходы да стварэння сістэмы крытэраў інтэграванай ацэнкі стану расліннасці / А. В. Пугачэўскі [і інш.] // Маніторынг і ацэнка стану расліннага покрыва : матэрыялы Міжнар. навук.-практ. канф., Мінск, 28–31 кастр. 2003 г. / редкол. : В. И. Парфенов (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2003. – С. 87–88.
13. Степанович, И. Мониторинг луговой и лугово-болотной растительности Беларуси: Научно-методические основы, технология, сеть пунктов / И. Степанович, Е. Степанович. – Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2015. – 328 с.
14. Определитель высших растений Беларуси / Т. А. Сауткина [и др.] ; под ред. В. И. Парфенова. – Минск : Дизайн ПРО, 1999. – 472 с.
15. Флора Беларуси. Сосудистые растения : в 6 т. / Д. И. Третьяков [и др.] ; под общ. ред. В. И. Парфенова. – Минск : Беларус. навука, 2013. – Т. 2 : Liliopsida (*Acoraceae*, *Alismataceae*, *Araceae*, *Butomaceae*, *Commelinaceae*, *Hydrocharitaceae*, *Juncaginaceae*, *Lemnaceae*, *Najadaceae*, *Poaceae*, *Potamogetonaceae*, *Scheuchzeriaceae*, *Sparganiaceae*, *Typhaceae*, *Zannicheliaceae*). – 447 с.
16. Флора Беларуси. Сосудистые растения : в 6 т. / Д. В. Дубовик [и др.] ; под общ. ред. В. И. Парфенова. – Минск : Беларус. навука, 2017. – Т. 3 : Liliopsida (*Tofieldiaceae*, *Melanthiaceae*, *Colchicaceae*, *Liliaceae*, *Hyacinthaceae*, *Alliaceae*, *Ixioliriacae*, *Heimerocallidaceae*, *Hostaceae*, *Amarylidaceae*, *Agavaceae*, *Asphodeliaceae*, *Asparagaceae*,

Ophiopogonaceae, Convallariaceae, Trilliaceae, Dioscoreaceae, Pontederiaceae, Iridaceae, Cannaceae, Orchidaceae, Juncaceae, Cyperaceae). – 573 с.

17. Красная книга Республики Беларусь. Растения: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / Редкол.: И. М. Качановский (предс.), М. Е. Никифоров, В. И. Парфенов [и др.]. – 4-е изд. – Минск: Беларус. Энцыкл., 2015. – 448 с.

18. Rothmaler, W. Exkursionsflora von Deutschland. / W. Rothmaler; Hrsg. von E. J. Jüger und K. Werner. – Jena; Stuttgart: Gustav Fischer Verl., 1994. – Bd. 3: Gefäßpflanzen: Atlasband. – 754 S.

19. Флора Беларусі. Мохообразные: в 2 т. / Г. Ф. Рыковский, О. М. Масловский; под ред. В. И. Парфенова. – Минск: Тэхналогія, 2004. – Т. 1: Andreaeopsida – Bryopsida. – 437 с.

20. Флора Беларусі. Мохообразные = Flora of Belarus. Bryophyta: в 2 т. / Г. Ф. Рыковский, О. М. Масловский; под ред. В. И. Парфенова. – Минск: Беларус. навука, 2009. – Т. 2: Hepaticopsida – Sphagnopsida. – 213 с.

21. Горбач, Н. В. Лишайники Белоруссии: определитель / Н. В. Горбач. – Минск: Наука и техника, 1973. – 368 с.

22. Braun-Blanquet, J. Pflanzensociologie. Grundzüge der Vegetationskunde / J. Braun-Blanquet. – Wien–New York, 1964. – 865 S.

23. Vegetace České republiky 4. Lesí a křovinná vegetace = Vegetation of the Czech Republic 4. Forest and Scrub Vegetation / M. Chytrý (ed.) [et al.]. – Praha: Academia, 2013. – 551 p.

24. Matuszkiewicz, W. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski / W. Matuszkiewicz. – Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN. – 2001. – 537 s.

25. Schubert, R. Bestimmungsbuch der Pflanzengesellschaften Mittel- und Nordostdeutschlands / R. Schubert, W. Hilbig, S. Klotz. – Jena; Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1995. – 403 S.

26. Соломаха, В. А. Синтаксономія рослинності України / В. А. Соломаха. – Київ: Фітосоціоцентр, 1996. – 120 с.

27. Сцепановіч, Я. М. Фітаэнаразнастайнасць расліннасці Беларусі / Я. М. Сцепановіч // Ботаника: Исследования. – Минск, 2006. – Вып. 34. – С. 264–281.

28. Сцепановіч, І. М. Навуковыя асновы ацэнкі і аховы біяразнастайнасці прыроднай травяністай расліннасці Беларусі / І. М. Сцепановіч // Природ. ресурсы. – 2000. – № 3. – С. 16–27.

29. Сцепановіч, І. М. Прынцыпы, метады і крытэры сазалагічнай ацэнкі раслінных супольнасцяў / І. М. Сцепановіч // Природ. ресурсы. – 2016. – № 1. – С. 34–47.

30. Гнатюк, Е. П. Методы исследования ценофлор (на примере растительных сообществ вырубок Карелии) / Е. П. Гнатюк, А. М. Крышень. – Петрозаводск: Карельск. науч. центр РАН, 2005. – 68 с.

31. Сцепановіч І. М. Інвазійны патэнцыял сінантропнага кампаненту хваевых лясоў Беларусі // Тр. БГТУ. Сер. 1. Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов. – 2019. – № 2 (222). – С. 90–98.

32. Черепанов, С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств / С. К. Черепанов. – 2-е изд. – СПб.: Мир и семья, 1995. – 990 с.

33. Список мхов Восточной Европы и Северной Азии / М. С. Игнатов [и др.] // Arctoa. – 2006. – Vol. 15. – P. 1–130.

References

1. Road network of Belarus: Infographic BELTA, 20.02.2021 Available at: <https://www.belta.by/infographica/view/set-avtomobilnyh-dorog-belarusi-19897/> (accessed 20.01.2022) (in Russian).

2. Kulikova E. Ya. *Syntaxonomic structure and technogenic pollution of grassy vegetation in Minsk*. Abstract Ph. D. Thesis. Minsk, 2012. 23 p. (in Russian).

3. Pugachevskii A. V., Sudnik A. V., Voznyachuk I. P., Vershitskaya I. N., Efimova O. E., Likhovitskii A. B., Korotkevich N. A., Maksimova I. A. The state of green spaces in the impact zone of the Minsk Ring Road and ways to improve their sustainability. *Botanika (issledovaniya)* [Botany (research)]. Minsk, 2006, vol. 33, pp. 220–235 (in Russian).

4. Pugachevskii A. V., Sudnik A. V., Efimova O. E., Vershitskaya I. N. The state of green spaces along the Minsk ring road. *Sostoyanie okruzhayushchei sredy i prirodopol'zovanie v gorode Minske: sbornik statei* [The state of the environment and nature management in the city of Minsk: collection of articles]. Minsk, 2007, pp. 94–99 (in Russian).

5. Sudnik A. V., Pugachevskii A. V., Voznyachuk I. P. The state of forest and protective tree plantations along the highways of Belarus. *Botanika (issledovaniya)* [Botany (research)]. Minsk, 2011, vol. 40, pp. 240–256 (in Russian).

6. Stepanovich J. M., Hantsouskaya M. A. Syntaxonomic structure and environmental state of roadside phytocenoses of Minsk. *Antropogennaya transformatsiya landshaftov: sbornik nauchnykh statei* [Anthropogenic transformation of landscapes: collection of scientific articles]. Minsk, 2012, pp. 122–124 (in Belarusian).

7. Voznyachuk I. P., Vlasova A. B., Stepanovich I. M., Stankevich T. V., Reshetnikov V. N. *The concept of the formation of roadside plant communities of high botanical and aesthetic value (roadside flowers)*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2021. 146 p. (in Russian).

8. Stepanovich J. M. Transect method as a basis for monitoring plant ecosystems (from the German experience). *Mizhnarodny ekalagichny dosved i yago vykarystanne na Belarusi: zbornik navukovykh artykulau (Vitebsk, 18–19 listapada 2003 goda)* [International environmental experience and its use in Belarus: a collection of scientific articles of the international conference (Vitebsk, November 18–19, 2003)]. Vitebsk, 2003, pp. 226–230 (in Belarusian).

9. Stepanovich I. M., Stepanovich E. F. *Scientific and Methodological Basis of Monitoring of Meadow and Meadow-Mire Vegetation of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2013. 289 p. (in Belarusian).

10. Pugachevskii A. V., Stepanovich I. M., Voznyachuk I. P., Semerenko L. V., Maslovskii O. M., Mastibrotskaya I. P. [et al.]. *Methodology for monitoring the flora as part of the National Environmental Monitoring System of the Republic of Belarus*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2011. 165 p. (in Russian).

11. Sukachev V. N., Dylis N. V., Rauner Yu. L., Molchanov A. A., Karpov V. G., Tsel'niker Yu. L. [et al.]. *Program and methodology of biogeocenological research*. Moscow, Nauka Publ., 1974. 403 p. (in Russian).
12. Pugachevskii A. V., Malazhauskii A. A., Stepanovich Ya. M., Ulasau B. P., Gigevich G. S. Methodical approaches to creating a system of criteria for integrated assessment of vegetation. *Manitoryng i atsenka stanu raslinnaga pokryva: materyyaly Mizhnarodnai navukova-praktychnai kanferentsyi (Minsk, 28–31 kastrychnika 2003 goda)* [Monitoring and assessment of vegetation: materials of the International scientific and practical conference (Minsk, October 28–31, 2003)]. Minsk, 2003, pp. 87–89 (in Belarusian).
13. Stepanovich I., Stepanovich E. *Monitoring of meadow and meadow-bog vegetation in Belarus: scientific and methodological foundations, technology, network of points*. Saarbrücken, LAP LAMBERT Academic Publishing, 2015. 328 p. (in Russian).
14. Sautkina T. A., Tret'yakov D. I., Zubkevich G. I., Kozlovskaya N. V., Parfenov V. I., Blazhevich R. Yu. [et al.]. *Determinant of higher plants of Belarus*. Minsk, Dizain PRO Publ., 1999. 472 p. (in Russian).
15. Tret'yakov D. I., Dubovik D. V., Skuratovich A. N., Parfenov V. I., Yakovleva I. M., Lebed'ko V. N., Bednarskaya I. A., Lazarevich S. V., Zhitenev L. A. *Flora of Belarus. Vascular plants. Vol. 2. Liliopsida (Acoraceae, Alismataceae, Araceae, Butomaceae, Commelinaceae, Hydrocharitaceae, Juncaginaceae, Lemnaceae, Najadaceae, Poaceae, Potamogetonaceae, Scheuchzeriaceae, Sparganiaceae, Typhaceae, Zannicheliaceae)*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2013. 447 p. (in Russian).
16. Dubovik D. V., Skuratovich A. N., Parfenov V. I., Savchuk S. S., Lebed'ko V. N., Tret'yakov D. I., Dmitrieva S. A., Yakovleva I. M. *Flora of Belarus. Vascular plants. Vol. 3. Liliopsida (Tofieldiaceae, Melanthiaceae, Colchicaceae, Liliaceae, Hyacinthaceae, Alliaceae, Ixioliriacae, Hemerocallidaceae, Hostaceae, Amarylidaceae, Agavaceae, Asphodeliaceae, Asparagaceae, Ophiopogonaceae, Convallariaceae, Trilliaceae, Dioscoreaceae, Pontederiaceae, Iridaceae, Cannaceae, Orchidaceae, Juncaceae, Cyperaceae)*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2017. 573 p. (in Russian).
17. *Red Book of the Republic of Belarus. Plants: rare and endangered species of wild plants. 4-th ed.* Minsk, Belaruskaya entsyklopedyya Publ., 2015. 448 p. (in Russian).
18. Rothmaler W. *Exkursionsflora von Deutschland. Band 3. Gefäßpflanzen: Atlasband*. Jena; Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1994. 754 S.
19. Rykovskii G. F., Maslovskii O. M. *Flora of Belarus. Bryophytes. Vol. 1. Andreaeopsida – Bryopsida*. Minsk, Tekhnologiya Publ., 2004. 437 p. (in Russian).
20. Rykovskii G. F., Maslovskii O. M. *Flora of Belarus. Bryophytes. Vol. 2. Hepaticopsida – Sphagnopsida*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2009. 213 p. (in Russian).
21. Gorbach N. V. *Lichens of Belarus: key*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1973. 335 p. (in Russian).
22. Braun-Blanquet J. *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde*. Wien–New York, 1964. 865 S.
23. Chytrý M., Douda J., Roleček J., Sádlo J., Boublik K., Hédli R. [et al.]. *Vegetation of the Czech Republic 4. Forest and Scrub Vegetation*. Ptaha, Academia, 2013. 551 p.
24. Matuszkiewicz W. *Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski*. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2001, 537 s.
25. Schubert R., Hilbig W., Klotz S. *Bestimmungsbuch der Pflanzengesellschaften Mittel- und Nordostdeutschlands*. Jena; Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1995. 403 S.
26. Solomakh V. A. *Syntaxonomy of vegetation of Ukraine*. Kyiv, Fitosotsiotsentr Publ., 1996. 120 p. (in Ukrainian).
27. Stepanovich J. M. Phytocene diversity of vegetation of Belarus. *Botanika (issledovaniya)* [Botany (research)]. Minsk, 2006, vol. 34, pp. 264–281 (in Belarusian).
28. Stepanovich I. M. Scientific Bases of an Estimation and Protection of Biodiversity of natural Grassy Vegetation of Belarus. *Prirodnyye resursy* [Natural resources], 2000, no. 3, pp. 16–27 (in Belarusian).
29. Stepanovich I. M. Principles, Methods and Criteria for sociological Assessment of Plant Communities. *Prirodnyye resursy* [Natural resources], 2016, no. 1, pp. 34–47 (in Belarusian).
30. Gnatyuk E. P., Kryshen'A. M. *Methods for the study of coenoflora (on the example of plant communities of clear-cut areas in Karelia)*. Petrozavodsk, Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2005. 68 p. (in Russian).
31. Stepanovich I. M. Invasive potential of synthetic component of pine forests of Belarus. *Trudy BGTU. Seriya 1, Lesnoe khozyaistvo, prirodopol'zovanie i pererabotka vozobnovlyaemykh resursov* [Proceedings of BSTU. Series 1, Forestry, nature management and processing of renewable resources], 2019, no. 2 (222), pp. 90–98 (in Belarusian).
32. Cherepanov S. K. *Vascular plants of Russia and neighboring states. 2nd ed.* Saint Petersburg, Mir i sem'ya Publ., 1995. 990 p. (in Russian).
33. Ignatov M. S., Afonina O. M., Ignatova E. A., Abolinya A. A., Akatova T. V., Baisheva E. Z. [et al.]. Check-list of mosses of East Europe and North Asia. *Arctoa*, 2006, vol. 15, pp. 1–130 (in Russian).

Інфармацыя пра аўтараў

Сцяпановіч Іосіф Міхайлавіч – д-р біял. навук, гал. навук. супрацоўнік. Інстытут эксперыментальнай батанікі імя В. Ф. Купрэвіча НАН Беларусі (вул. Акадэмічная, 27, 220072, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: jazep.st@hotmail.com

Шавалда Яўген Сяргеевіч – мал. навук. супрацоўнік. Інстытут эксперыментальнай батанікі імя В. Ф. Купрэвіча НАН Беларусі (вул. Акадэмічная, 27, 220072, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: shavalda@bk.ru

Information about the authors

Iosiph M. Stepanovich – D. Sc. (Biol.), Chief Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jazep.st@hotmail.com

Yauheni S. Shavalda – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shavalda@bk.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 578.42:616-036.22]:628.3-047.36

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-386-397>

Поступила в редакцию 21.06.2022

Received 21.06.2022

Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, Ю. Б. Колтунова, И. В. Бельская, Ю. А. Шилова

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

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВИРУСНОЙ КОНТАМИНАЦИИ СТОЧНЫХ ВОД КАК ЭЛЕМЕНТ КОНТРОЛЯ ЗА ЦИРКУЛЯЦИЕЙ КИШЕЧНЫХ ВИРУСОВ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Аннотация. Эпидемиология сточных вод – новое направление исследований в системе надзора за циркуляцией кишечных вирусов. Целью настоящей работы был анализ результатов мониторинга сточных вод в Республике Беларусь в отношении кишечных вирусов в 2020–2021 гг. Детекция РНК ротавирусов А, норовирусов 1-й и 2-й геногрупп, энтеровирусов, ДНК аденовирусов F осуществлялась с помощью ОТ-ПЦР, определение количества нуклеиновых кислот – с применением количественной модификации метода, генотипирование возбудителей – путем секвенирования информативных для этого регионов генома вирусов.

В 2020–2021 гг. из исследованных 1038 проб сточных вод 487 (46,9 %) содержали нуклеиновую кислоту (НК) одного или нескольких вирусов. В 2021 г. имело место снижение активности циркуляции большинства кишечных вирусов по сравнению с 2020 г., обусловленное, вероятно, более строгим соблюдением санитарно-гигиенических правил во время пандемии COVID-19. Преобладание в сточных водах ДНК аденовирусов F могло быть обусловлено их широким бессимптомным носительством и большей устойчивостью ДНК возбудителя во внешней среде. Количественный анализ содержания вирусных НК в сточной воде показал, что большинство проб с высокими концентрациями НК кишечных вирусов были отобраны из точек, куда осуществлялся сброс сточных вод непосредственно из учреждений здравоохранения. По результатам молекулярного типирования в исследованных сточных водах присутствовали наиболее распространенные гено- или серотипы возбудителей – норовирус GI.4[P16], аденовирус 41-го типа, энтеровирусы Коксаки B3, B5, ECHO 30 и ECHO 13.

Полученные данные, основанные на количественном анализе содержания кишечных вирусов в сточных водах, представляют ценную информацию об их циркуляции в человеческой популяции, которая позволяет оценивать текущую эпидемиологическую ситуацию и прогнозировать ее развитие в ближайшей перспективе.

Ключевые слова: ротавирус А, норовирус, аденовирус F, энтеровирус, сточная вода, мониторинг, заболеваемость, эпидемиология

Для цитирования: Качественный и количественный анализ вирусной контаминации сточных вод как элемент контроля за циркуляцией кишечных вирусов в Республике Беларусь / Н. В. Поклонская [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 386–397. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-386-397>

Natallia V. Paklonskaya, Tamara V. Amvroseva, Yuliya B. Kaltunova, Ina V. Belskaya, Yuliya A. Shilova

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

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF WASTEWATER VIRAL CONTAMINATION AS A CONTROL ELEMENT FOR THE CIRCULATION OF ENTERIC VIRUSES IN THE REPUBLIC OF BELARUS

Abstract. Wastewater epidemiology is a new field of research that has great potential in the system of enteric virus surveillance. The purpose of the presented study was to analyze the results of wastewater monitoring of enteric viruses in 2020–2021 in the Republic of Belarus. Detection and quantification of nucleic acids of rotaviruses A, noroviruses 1 and 2, enteroviruses and adenoviruses F were carried out using a quantitative real time RT-PCR followed by nucleic acid sequence genotyping. In 2020–2021, 487 (46.9 %) of 1038 wastewater samples contained nucleic acid of one or more viruses. The results indicated that there was a decrease in the circulating activity of the most enteric viruses in 2021 compared to 2020, likely due to stricter hygiene practices during the COVID-19 pandemic. Predominance of adenoviruses F in wastewater could be associated with their wide asymptomatic spread, on the one hand, and with greater resistance of pathogen DNA in the external environment, on the other. The quantitative analysis showed that the highest viral nucleic acid concentrations were found in hospital wastewater samples. According to the results of molecular typing, wastewater contained norovirus GI.4 [P16], adenovirus type 41, Cocksackievirus B3, B5 and Echovirus 13, the most common genotypes of enteric viruses in human population.

Quantitative analysis and genotyping of nucleic acids of viruses from wastewater can be a source of valuable information for tracking their circulation in the human population to assess the current epidemiological situation and to predict its development in the short term.

Keywords: rotavirus A, norovirus, adenovirus F, enterovirus, wastewater, surveillance, morbidity, epidemiology

For citation: Paklonskaya N. V., Amvroseva T. V., Kaltunova Yu. B., Belskaya I. V., Shilova Yu. A. Qualitative and quantitative analysis of wastewater viral contamination as a control element for the circulation of enteric viruses in the Republic of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 386–397 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-386-397>

Введение. Эпидемиология, основанная на исследовании сточных вод (wastewater-based epidemiology), – относительно новое направление эпидемиологических исследований, базирующееся на химическом анализе или выявлении различных биомаркеров в сточных водах для получения качественных и количественных данных, касающихся различных аспектов жизнедеятельности и здоровья жителей определенных географических регионов. Впервые эпидемиология, основанная на исследовании сточных вод (ЭСВ), была использована в 2001 г. как инструмент для оценки активности употребления нелегальных и легальных наркотических средств жителями мегаполисов [1]. Впоследствии была показана эффективность применения ЭСВ для оценки воздействия на популяцию различных веществ-контаминантов окружающей среды [2] и для контроля за циркуляцией патогенных агентов [3, 4].

Мониторинг циркуляции возбудителей инфекционных болезней традиционно основан на системах дозорного надзора и анализе этиологической структуры регистрируемой заболеваемости. Несмотря на безусловную эффективность и значимость этих инструментов, существуют некоторые пробелы в получаемой информации. Эти пробелы обусловлены тем, что значительная часть инфекций протекает в легкой форме, субклинически, или бессимптомно, вследствие чего инфицированные не обращаются за медицинской помощью. При этом каждый из них выделяет ежедневно с фекалиями и/или мочой до 10^{11} вирусных частиц, которые попадают в сточную воду. Поэтому ЭСВ является важным дополнением к классическим методам эпидемиологического надзора. На сегодняшний день ЭСВ признана одним из наиболее эффективных подходов к контролю за циркуляцией вирусов, раннему выявлению новых и вновь возникающих инфекций на популяционном уровне. Исследования, основанные на ЭСВ, проводились для контроля за инфекциями, вызванными адено-, бока-, норо- и энтеровирусами, вирусами гепатита А и Е и рядом других [5]. В настоящее время такого рода исследования широко проводятся во многих странах в отношении SARS-CoV-2 [6].

Использование ЭСВ для слежения за кишечными вирусами – актуальное направление исследований в связи со следующими обстоятельствами: во-первых, эти возбудители широко распространены в популяции; во-вторых, кишечник – основное место их репликации, поэтому выделение вирионов в сточную воду происходит весьма активно; в-третьих, кишечные вирусы довольно часто вызывают субклинические и легкие формы болезни, вследствие чего заболевшие не обращаются за медицинской помощью, но являются источником инфекции для других людей. Поэтому ЭСВ кишечных инфекций базируется на возможности выявления возбудителей, которые уже достаточно широко распространились среди человеческой популяции, но еще официально не идентифицированы в качестве ведущих агентов заболеваемости. При этом нарастание концентрации кишечных вирусов в пробах сточных вод свидетельствует о росте интенсивности их циркуляции среди людей. Такого рода исследования ранее были проведены в Ирландии, и их результаты свидетельствовали о том, что концентрация норовирусов в сточных водах достоверно коррелировала с уровнем заболеваемости в популяции [7]. После установления этого факта исследования были расширены и продолжены: помимо определения количественных показателей вирусов в сточных водах проводилось их генотипирование и сравнение с вирусами, идентифицированными в биологическом материале пациентов. Результаты исследований японских ученых [8], которые в течение 3 лет проводили динамическое наблюдение за скрытой циркуляцией норовирусов в популяции путем определения их концентрации в пробах сточных вод и биологическом материале с последующим генотипированием, подтвердили ранее полученные данные о том, что концентрации вирусов в сточных водах коррелируют с уровнем заболеваемости норовирусной инфекцией. При этом установлено, что норовирусный генотип GII.P17/GII.17, вызвавший резкий подъем заболеваемости в Японии в 2014 г., скрыто циркулировал в популяции в течение предшествующих двух лет, о чем свидетельствовали результаты его мониторинга в сточных водах [8]. Аналогичные исследования

в отношении рота-, норо-, адено-, энтеро-, парэховирусов, вирусов гепатита А и Е были проведены во Франции. Динамическое наблюдение, основанное на исследовании сточных вод и биологического материала пациентов, проводилось в течение года и позволило установить несколько важных фактов. Во-первых, показано, что энтеровирус D68, который вызывал тяжелые респираторные инфекции у пациентов других стран, скрыто циркулировал и на территории Франции до регистрации клинических случаев связанного с ним заболевания; во-вторых, вирусы гепатитов А и Е характеризовались достаточно активной скрытой циркуляцией среди населения, несмотря на относительно низкое число вызываемых ими клинических случаев заболевания [9]. Таким образом, полученные в ходе исследований на основе использования ЭСВ результаты позволяют получить чрезвычайно важную информацию для адекватной оценки и прогнозирования эпидситуации по вирусным кишечным инфекциям.

В Республике Беларусь на протяжении последних двух лет проводятся исследования, направленные на создание системы мониторинга сточных вод в отношении кишечных вирусов. В связи с пандемией COVID-19 в перечень отслеживаемых возбудителей был дополнительно включен SARS-CoV-2.

Цель работы – анализ результатов мониторинга сточных вод в отношении кишечных вирусов в 2020–2021 гг.

Материалы и методы исследования. В 2020 г. исследовано 548 проб сточных вод (4 – из г. Брест и Брестской обл., 71 – из г. Витебск и Витебской обл., 61 – из г. Гомель и Гомельской обл., 78 – из г. Гродно и Гродненской обл., 130 – из г. Минска, 156 – из Минской обл., 47 – из г. Могилев и Могилевской обл.).

В 2021 г. проанализировано 490 проб (44 – из г. Брест и Брестской обл., 52 – из г. Витебск и Витебской обл., 67 – из г. Гомель и Гомельской обл., 29 – из г. Гродно и Гродненской обл., 153 – из г. Минска, 122 – из Минской обл., 51 – из г. Могилев и Могилевской обл.).

Для отбора и концентрирования проб использовали «Набор для сбора и концентрирования вирусов из питьевой воды в системе децентрализованного хозяйственно-питьевого водоснабжения, поверхностных и сточных вод» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), основанный на методе адсорбции-элюции вирусов, в соответствии с инструкцией производителя.

Исследования по выявлению генетического материала актуальных возбудителей кишечных вирусных инфекций (ротавируса А, норовирусов 1-й и 2-й геногрупп, аденовирусов F, энтеровирусов) осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени. Для выделения вирусных нуклеиновых кислот применяли коммерческие наборы «НК-экстра» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), для постановки ОТ-ПЦР в одной пробирке – «Набор для выявления ДНК (РНК) кишечных вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «ОКВИ-ПЦР» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь).

Молекулярное типирование проводили на основании анализа информативных для этой цели фрагментов генома кишечных вирусов, последовательности которых получали с помощью секвенирования по Сэнгеру [10]. Для молекулярного типирования норовирусов 2-й геногруппы секвенировали фрагменты генов РНК-полимеразы и основного капсидного белка VP1 [11–13]. Молекулярное типирование аденовирусов осуществляли путем секвенирования фрагмента гена гексона, содержащего гипервариабельный регион [14]. Для типирования энтеровирусов использовали фрагмент гена основного капсидного белка VP1, накопленный в ОТ-ПЦР с праймерами, описанными ранее [15, 16].

Продукты реакции термоциклического секвенирования, полученные с помощью набора GenomeLab DTCS – Quick Start Kit (Beckman Coulter, США), анализировали с помощью SEQ8000 (Beckman Coulter).

Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST [17]. Филогенетическую реконструкцию проводили методом максимального правдоподобия, статистическую достоверность топологии оценивали с помощью бутстреппинга (1000 псевдорепликатов). Компьютерный анализ последовательностей выполняли с помощью программы MEGA версии 7.0 [18]. Для генотипирования норовирусов использовали программу Norovirus Genotyping Tool Version 1.0 [19].

Концентрацию плазмидной ДНК измеряли флуориметрически с помощью прибора Qubit Fluorometer (Invitrogen, США), используя интеркалирующий краситель ZUBR Green I («Прайм-тех», Беларусь), специфичный к двухцепочечной ДНК. Конверсию масса-моли для используемых векторов осуществляли на основании рассчитанной концентрации и размеров кольцевой ДНК.

Достоверность обнаруживаемых различий оценивали на основании критерия χ^2 , доверительные интервалы долей рассчитывали по распределению Пуассона (через χ^2) [20].

Результаты исследования. В 2020–2021 гг. из исследованных 1038 проб сточных вод 487 (46,9 %) содержали нуклеиновую кислоту (НК) одного или нескольких вирусов (39,6 % проб содержали НК одного возбудителя, 7,3 % – нескольких). Всего было идентифицировано 487 изолятов разных кишечных вирусов и SARS-CoV-2. Спектр и доля различных вирусных агентов, выявленных в пробах сточных вод, представлены на рис. 1.

В 2020 г. из 548 исследованных проб сточных вод 319 (58,2 % [ДИ 95: 52,0 %; 64,96 %]) содержали НК детектируемых возбудителей – в 264 (48,1 %) образцах присутствовала НК одного вирусного агента, в 65 (11,8 %) – нескольких. В 2021 г. из 490 исследованных проб 168 содержали вирусную РНК (34,29 % [ДИ 95: 29,3 %; 39,88 %]) – 157 (32,0 %) образцов содержали одного возбудителя, 11 (2,2 %) проб – нескольких. Как видно из представленных данных, частота выявления НК вирусов в пробах сточных вод в 2021 г. была достоверно ниже, чем в 2020 г. ($p < 0,05$).

Сравнительная частота обнаружения НК различных вирусов в 2020 и 2021 гг. представлена на рис. 2. В 2020 г. ротавирусы А, аденовирусы F, энтеровирусы выявлялись в 1,4–2,6 раза чаще, чем в 2021 г., тогда как частота выявления норовирусов 2-й генотипа была одинакова. Обнаруживаемые различия были достоверны в отношении ротавируса А ($p < 0,001$), норовирусов 1-й генотипа ($p = 0,005$), аденовирусов F ($p = 0,004$) и энтеровирусов ($p < 0,001$).

В связи с тем что для большинства кишечных вирусов характерна сезонность вызываемой ими заболеваемости, а распространение SARS-CoV-2 во время пандемии имеет выраженный волновой характер, проведен сезонный анализ частоты выявления кишечных патогенов (рис. 3).

Согласно полученным результатам, ДНК аденовируса F выявлялась в пробах наиболее часто, вне зависимости от сезона. Исключением стали только II квартал 2020 г. и IV квартал 2021 г., когда доля проб, в которых присутствовала РНК ротавирусов А, была несколько выше, чем доля проб с аденовирусом F (24,3 и 21,1 % во II квартале 2020 г., 13,3 и 6,7 % в IV квартале 2021 г. соответственно). Пики детекции РНК ротавируса А в пробах сточной воды были зарегистрированы в I–II квартале 2020 г., I квартале 2021 г. и IV квартале 2021 г., что соответствует сезонным подъемам заболеваемости ротавирусной инфекцией в холодное время года. При этом частота его

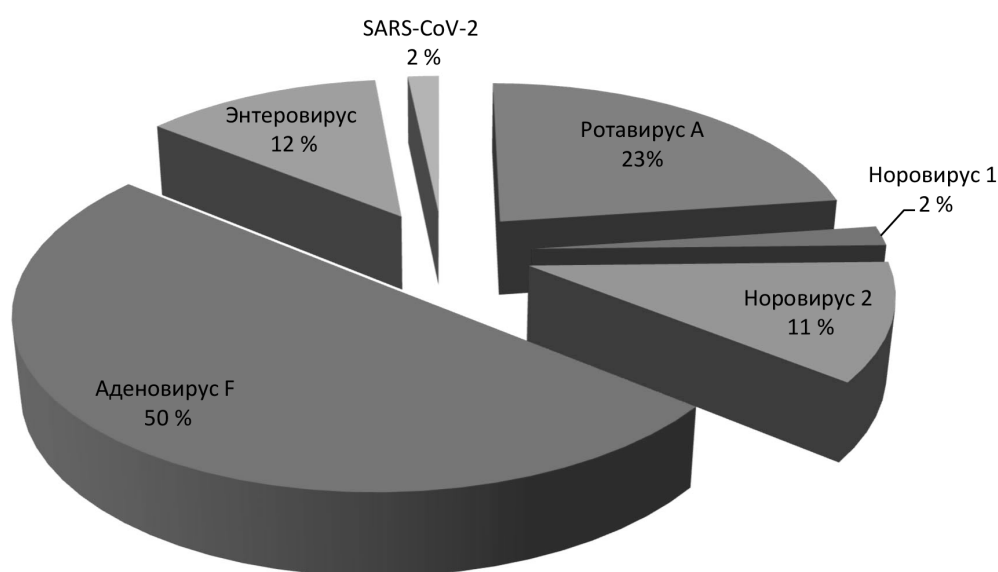


Рис. 1. Структура типового разнообразия идентифицированных в сточных водах вирусных агентов

Fig. 1. Structure of type diversity of viral agents identified in wastewater

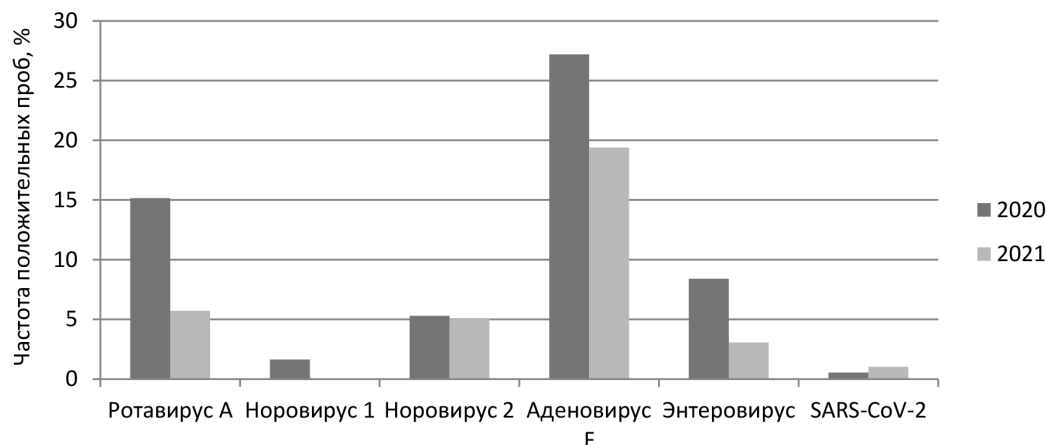


Рис. 2. Частота детекции НК кишечных вирусов и SARS-CoV-2 в пробах сточных вод в 2020 и 2021 гг.

Fig. 2. Detection frequency of NK enteric viruses and SARS-CoV-2 in wastewater samples in 2020 and 2021

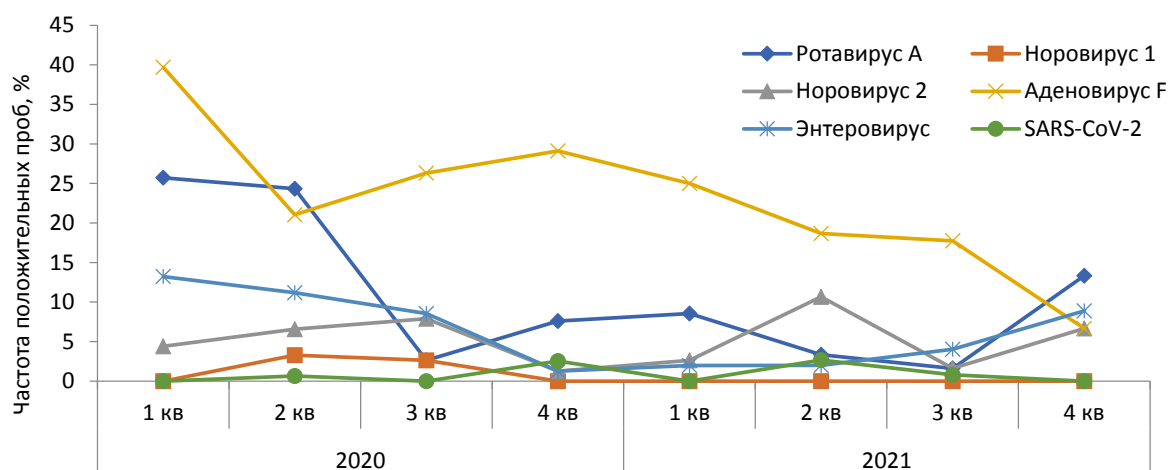


Рис. 3. Частота детекции НК кишечных вирусов и SARS-CoV-2 в пробах сточных вод по кварталам (2020–2021 гг.)

Fig. 3. Detection frequency of NK enteric viruses and SARS-CoV-2 in wastewater samples by quarters (2020–2021)

детекции в I–II квартале 2020 г. была достоверно выше, чем в течение всего последующего периода наблюдения (25,0 % [ДИ 95: 19,5 %; 31,5 %] – средняя частота выявления РНК ротавируса А в I–II квартале 2020 г., 5,1 % [ДИ 95: 3,6 %; 7,1 %] – средняя частота детекции РНК ротавируса А в III квартале 2020 г. – IV квартале 2021 г.). Максимальная доля проб, в которых выявлялась РНК энтеровируса, регистрировалась в I–III квартале 2020 г. Сравнение частоты детекции в I–III квартале 2020 г. и в последующий период также обнаружило достоверные различия: 10,9 % [ДИ 95: 8,0 %; 14,5 %] проб содержали РНК ЭВ в I–III квартале 2020 г. и 2,9 % [ДИ 95: 1,7 %; 4,7 %] – в последующий период наблюдения. Снижение частоты детекции РНК энтеровируса также могло быть обусловлено уменьшением интенсивности его циркуляции в связи с более жестким соблюдением санитарно-гигиенических правил населением страны. Детекция РНК норовируса 2-й геногруппы обнаружила два пика – в III квартале 2020 г. и во II квартале 2021 г., хотя выявленные различия по сравнению с другими периодами не были статистически достоверны. Частота детекции норовирусов 1-й геногруппы в целом была достаточно низкой, доля положительных проб, регистрируемых в разное время года, не имела достоверных отличий.

РНК SARS-CoV-2 в сточных водах была выявлена во II и IV кварталах 2020 г. и во II и III кварталах 2021 г. Пробы сточной воды, в которых обнаружено присутствие РНК SARS-CoV-2, были получены во II квартале 2020 г. из Могилевской обл. (г. Горки) – 1 изолят, в IV квартале 2020 г. из Гомельской обл. (г. Рогачев и г. Мозырь) – 2 изолята, в 2021 г. из г. Минска – в I квартале 1 изолят, во II квартале 3 изолята.

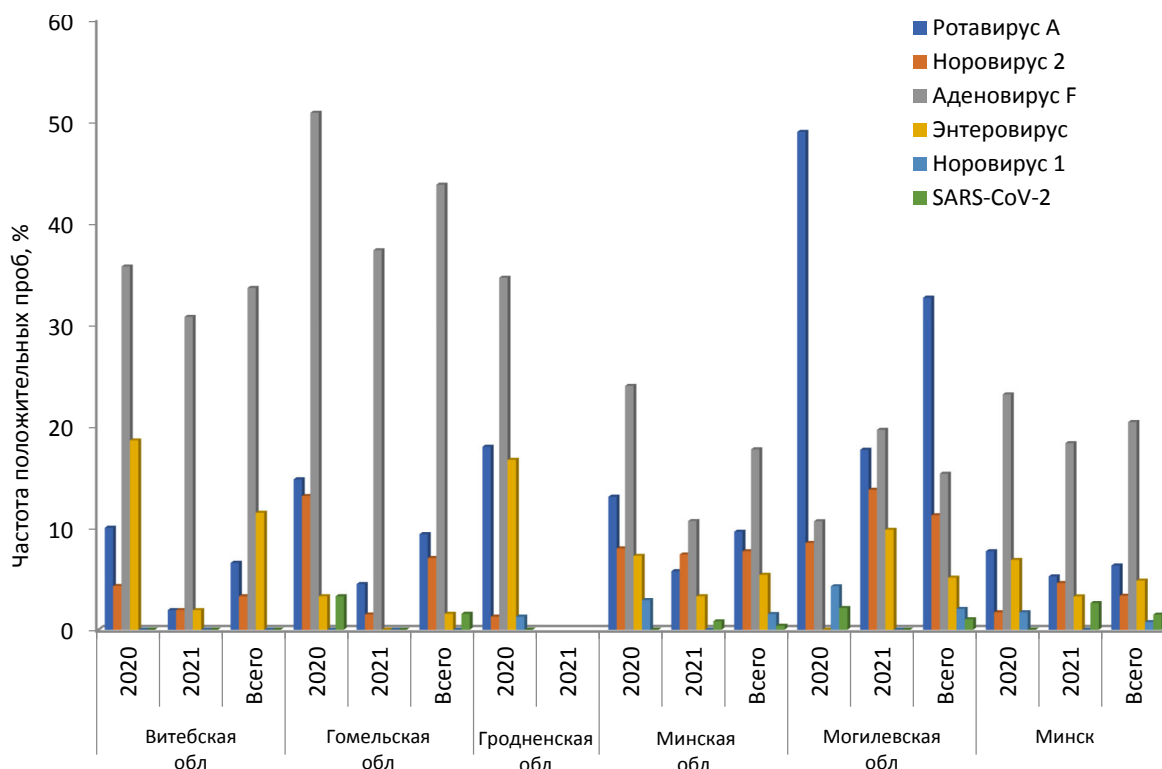


Рис. 4. Частота выявления НК различных кишечных вирусов и SARS-CoV-2 на территории различных областей Беларуси

Fig. 4. Detection frequency of various NK enteric viruses and SARS-CoV-2 in the territory of various regions of Belarus

Сравнение активности циркуляции кишечных вирусов в разных регионах страны проводили на основании анализа частоты их детекции в сточных водах разных областей Беларуси (рис. 4).

В анализ не включали результаты, полученные в Брестской обл. в 2020–2021 гг. и в Гродненской обл. в 2021 г., что обусловлено нерегулярным поступлением и малым количеством проб из этих областей. Как видно из рис. 4, в сточных водах всех регионов, за исключением Могилевской обл., чаще всего в течение всего периода наблюдения детектировались аденовирусы F (от 17 % [ДИ 95: 8,6 %; 25,3 %] в Минской обл. до 43,7 % [ДИ 95: 33,0 %; 56,8 %] в Гомельской обл.). Частота детекции ДНК аденовируса F была в 2 раза и более выше, чем РНК других кишечных вирусов ($p < 0,05$). При сравнении регионов между собой установлено, что ДНК аденовируса F достоверно чаще выявлялась в Витебской и Гомельской областях, чем в Минской, Могилевской областях и г. Минске. В Могилевской обл. в 2020 г. РНК ротавируса А детектировалась в 4 раза чаще, чем других кишечных вирусов (48,9 % [ДИ 95: 31,0 %; 73,4 %], $p < 0,05$), а в 2021 г. частота выявления РНК ротавируса А и ДНК аденовируса F была практически одинакова (17,6 % [ДИ 95: 8,0 %; 33,5 %] и 19,6 % [ДИ 95: 9,4 %; 36,0 %] соответственно). Частота детекции РНК норовирусов 2-й геногруппы на различных территориях не имела достоверных отличий и составляла от 3,3 % [ДИ 95: 0,9 %; 8,4 %] в Витебской обл. до 11,2 % [ДИ 95: 5,6; 20,0 %] в Могилевской обл. РНК энтеровирусов достоверно чаще обнаруживалась в сточных водах Витебской обл., чем в Гомельской обл. (11,5 % [ДИ 95: 6,3 %; 19,3 %] и 1,6 % [ДИ 95: 0,2 %; 5,6 %] соответственно). Частота выявления в сточных водах различных регионов РНК норовирусов 1-й геногруппы и SARS-CoV-2 была низкой и не имела достоверных различий.

Для определения концентрации кишечных вирусов в сточных водах использовали количественную ПЦР. С этой целью был сконструирован комплект калибраторов на основе плазмид, содержащих вставки-мишени для набора «ОКВИ-ПЦР», концентрации которых установлены спектрофотометрически. Из каждой плазмиды было приготовлено 4 разведения – 10^4 , 10^5 , 10^6 и 10^7 ГЭ/мл, которые использовались как калибраторы для определения концентраций РНК ротавируса А, норовирусов 1 и 2, ДНК аденовируса F и РНК энтеровируса.

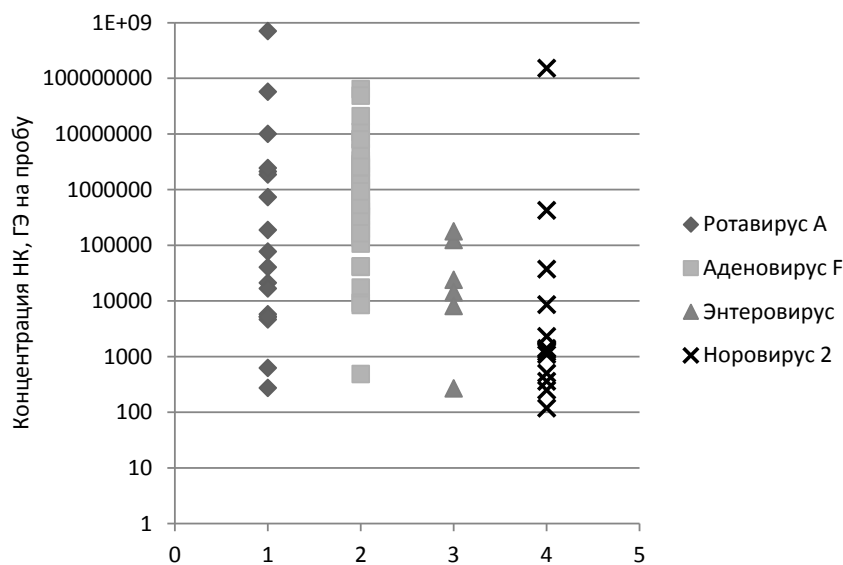


Рис. 5. Концентрация НК кишечных вирусов в пробах сточных вод

Fig. 5. Concentration of NK enteric viruses in sewage samples

Концентрации НК кишечных вирусов определяли в пробах, полученных в 2021 г. (рис. 5).

РНК ротавирусов А присутствовала в образцах в концентрациях $6,3 \cdot 10^2$ – $1,5 \cdot 10^{10}$ ГЭ на пробу, средняя концентрация – $0,8 \cdot 10^8$ ГЭ на пробу, медианная концентрация – $7,7 \cdot 10^4$ ГЭ на пробу; ДНК аденовирусов обнаруживалась в диапазоне $4,8 \cdot 10^2$ – $3,3 \cdot 10^9$ ГЭ на пробу, средняя концентрация – $7,3 \cdot 10^7$ ГЭ на пробу, медианная концентрация – $5,8 \cdot 10^5$ ГЭ на пробу; РНК норовирусов 2-й генотипы детектировали в концентрации $1,2 \cdot 10^2$ – $1,5 \cdot 10^8$ ГЭ на пробу, средняя концентрация – $1,1 \cdot 10^7$ ГЭ на пробу, медианная концентрация – $1,3 \cdot 10^3$ ГЭ на пробу; РНК энтеровирусов выявляли в диапазоне $2,7 \cdot 10^2$ – $1,8 \cdot 10^5$ ГЭ на пробу, средняя концентрация – $5,8 \cdot 10^4$ ГЭ на пробу, медианная концентрация – $1,9 \cdot 10^4$ ГЭ на пробу. При этом, как видно из представленных выше данных, в ряде проб были обнаружены чрезвычайно высокие концентрации НК кишечных вирусов (см. таблицу).

Характеристика проб сточных вод с высокой концентрацией НК кишечных вирусов

Characteristics of wastewater samples with high concentration of NK enteric viruses

№ образца	Тип кишечного вируса	Концентрация НК, ГЭ на пробу	Место отбора
26034	Ротавирус	10 095 968	Быховская ЦРБ, Могилевская обл.
26977		57 588 443	г. Чериков, Могилевская обл.
28263		707 236 958	Климовичская ЦРБ, Могилевская обл.
27612		14 757 256 632	Витебская ОКИБ
25873	Аденовирус	64 236 103	г. Березино, Минская обл.
25874		49 115 950	Клецкая ЦРБ, Минская обл.
28068		8 151 445	г. Минск, Лучины, 28
28075		3 371 810	ДИКБ г. Минска
26703	Норовирус	152 448 543	Белыничская ЦРБ, Могилевская обл.

Как видно из представленных данных, большинство (6 из 9) проб с высокой вирусной нагрузкой были отобраны в точках сброса сточных вод из лечебных учреждений. Вполне закономерно, что концентрация НК кишечных вирусов в этих пробах была существенно выше, чем в пробах, которые отбирались в точках сброса городских сточных вод.

В отношении кишечных вирусов, которые присутствовали в пробах сточных вод в относительно высоких концентрациях, проведено молекулярное типирование, в результате которого идентифицированы норовирус GII.4[P16], аденовирусы 41-го типа (5 изолятов), энтеровирусы Коксаки В3, В5, ЕСНО 30 и ЕСНО 13. Следует отметить, что все идентифицированные в сточных

водах типы кишечных вирусов относились к доминирующим в этот период времени гено-/серо-типам возбудителей.

Обсуждение. Полученные в ходе мониторинга сточных вод результаты свидетельствуют о том, что аденовирусы F наиболее активно циркулируют среди населения страны. Общая частота их детекции в 2020–2021 гг. составила 50,1 % [ДИ 95: 44,0 %; 56,8 %], что достоверно выше, чем частота ротавирусов A (22,8 % [ДИ 95: 18,8 %; 27,45 %]), норовирусов 2-й геногруппы (11,1 % [ДИ 95: 8,3 %; 14,5 %]), энтеровирусов (12,5 % [ДИ 95: 9,6 %; 16,0 %]), норовирусов 1-й геногруппы (1,6 % [ДИ 95: 0,7 %; 3,2 %]). При этом следует отметить, что в качестве этиологического агента различных форм острых кишечных инфекций в Республике Беларусь в 2020–2021 гг. аденовирусы F выступали существенно реже, чем ротавирусы A и норовирусы 2-й геногруппы (по неопубликованным данным, обнаружены всего у 2,2 %–3,3 % пациентов с острыми гастроэнтеритами в 2020–2021 гг.). На основании этих результатов можно предположить, что значительная часть инфекций, вызванных аденовирусами F, протекает бессимптомно или со слабо выраженными клиническими проявлениями, которые не требуют обращения за медицинской помощью. Вместе с тем биологические свойства аденовирусов F, геном которых представлен двухцепочечной молекулой ДНК, обеспечивают их большую стабильность в условиях окружающей среды, что также может влиять на значительно более высокую частоту их детекции в пробах сточных вод. Высокая частота присутствия аденовирусов, в том числе аденовирусов F, в сточной воде позволяет заключить, что они являются более предпочтительными вирусными индикаторами фекального загрязнения воды. Это подтверждается и ранее полученными нами результатами исследования питьевой воды, где аденовирусы F выявлялись существенно чаще, чем используемые в настоящее время в качестве индикаторных организмов энтеровирусы [21].

Анализ частоты детекции кишечных вирусов в сточных водах в течение 2020 и 2021 гг. показал, что в 2021 г. имело место снижение активности циркуляции большинства кишечных вирусов среди населения. Общая доля проб, содержащих НК какого-либо вируса, в 2021 г. была достоверно ниже, чем в 2020 г., что, по-видимому, было связано с более строгим соблюдением санитарно-гигиенических норм, обусловленных пандемией COVID-19. Частота детекции аденовирусов F, ротавирусов A, энтеровирусов в 2021 г. была достоверно ниже, чем в 2020 г., тогда как в отношении норовирусов 2-й геногруппы достоверных различий в частоте обнаружения в сточной воде в 2020 и 2021 гг. не выявлено.

Результаты анализа сезонной частоты выявления НК кишечных вирусов показали, что в отношении ротавирусов A максимальные их уровни регистрировались в холодное время года, что, вероятно, отражало сезонность вызванной ими заболеваемости среди населения. Частота детекции ДНК аденовирусов F постепенно снижалась в течение 2020–2021 гг., без заметных сезонных подъемов и спадов. Заболеваемость аденовирусным гастроэнтеритом не имеет сезонности, что, по-видимому, объясняет отсутствие соответствующих колебаний уровней его ДНК в сточной воде. Пики детекции РНК норовирусов 2-й геногруппы в сточных водах не совпадали с сезонными подъемами вызванной ими заболеваемости и были зарегистрированы в III квартале 2020 г. и во II квартале 2021 г.

Изучение географических особенностей выявления НК кишечных вирусов в сточных водах показало, что на территории всех областей, кроме Могилевской, чаще всего выявлялась ДНК аденовирусов F. При этом на территории Витебской, Гомельской и Гродненской областей она обнаруживалась в 1,5–2 раза чаще, чем в Минской, Могилевской областях и г. Минске. В Могилевской области в 2020 г. РНК ротавирусов A обнаруживалась достоверно чаще, чем ДНК аденовирусов F, а в 2021 г. частота детекции НК обоих возбудителей была одинакова. Что лежит в основе обнаруживаемых различий, на данный момент сказать сложно, но более вероятно, что региональные особенности организации процесса отбора проб оказывают большее влияние, чем реальные уровни заболеваемости каждой из инфекций.

На сегодняшний день существует довольно много работ, авторы которых изучали концентрации НК кишечных вирусов в сточных водах. Проведение таких исследований, как правило, основано на отборе пробы сточных вод определенного объема (обычно 1–10 л) с последующим концентрированием вирусов-контаминантов разными методами. Такой подход позволяет определять

концентрацию вирусных НК в 1 л сточных вод. Альтернативой этому методу является концентрирование вирусов из проб в потоке сточной воды с использованием пакетов с адсорбентом. Такая методика отбора проб применяется в России [22], она же лежит в основе коммерческих наборов, которые были использованы при проведении настоящих исследований. Суть этого метода заключается в том, что пакет с адсорбирующим материалом помещается на определенное время в ток сточных вод, после чего адсорбировавшиеся за это время вирусы элюируются в лаборатории. Использование такого подхода не позволяет достоверно определить исследованный объем сточных вод, из которых адсорбировались вирусы, поэтому расчет концентрации вирусной НК на единицу объема сточных вод невозможен. В представленной работе концентрация вирусов оценивалась нами в пересчете на пробу. Полученные нами результаты показали, что определенные нами с использованием пакетов с адсорбентом концентрации вирусов были сопоставимы с концентрациями, которые определялись другими исследователями при пересчете на 1 л сточных вод. Так, по нашим данным, концентрация РНК ротавирусов А составила $6,3 \cdot 10^2$ – $1,5 \cdot 10^{10}$ ГЭ на пробу, тогда как по результатам других авторов – $1 \cdot 10^1$ – $8,7 \cdot 10^8$ ГЭ/л [23, 24], ДНК аденовирусов F присутствовала в концентрации $4,8 \cdot 10^2$ – $3,3 \cdot 10^9$ ГЭ на пробу, по данным зарубежных исследователей – в диапазоне $5 \cdot 10^4$ – $3,3 \cdot 10^{10}$ ГЭ/л [25, 26], концентрация РНК норовирусов 2-й геногруппы составила $1,2 \cdot 10^2$ – $1,5 \cdot 10^8$ ГЭ на пробу, по данным литературных источников – $0,00$ – $2,6 \cdot 10^9$ ГЭ/л [26, 27], РНК энтеровирусов определялась нами в диапазоне $2,7 \cdot 10^2$ – $1,8 \cdot 10^5$ ГЭ на пробу, по данным других исследователей – $3,8 \cdot 10^8$ – $2,4 \cdot 10^9$ ГЭ/л [28]. Максимальные концентрации НК кишечных вирусов выявлялись, как правило, в пробах госпитальных сточных вод, что согласуется с результатами других исследователей.

Цель и задачи настоящего исследования первоначально были направлены только на мониторинг кишечных вирусов в сточных водах, однако пандемия COVID-19 привела к включению SARS-CoV-2 в перечень отслеживаемых вирусов. Все образцы сточных вод, поступившие в лабораторию, были исследованы на предмет присутствия в них РНК SARS-CoV-2. Полученные результаты позволили обнаружить РНК SARS-CoV-2 в 7 образцах сточных вод, что составило 0,6 % от всех исследованных проб и 2 % от всех идентифицированных вирусов. Поскольку нам удалось обнаружить лишь единичные положительные в отношении SARS-CoV-2 пробы, делать какой-либо вывод на их основании преждевременно. Малая частота выявления РНК SARS-CoV-2 была обусловлена, по-видимому, отсутствием оптимизированных методов пробоподготовки. Наборы, использованные для отбора проб, были разработаны и оптимизированы в отношении безоболочечных кишечных вирусов, эффективность их применения для адсорбции-элюции оболочечных вирусов, к которым принадлежит SARS-CoV-2, может быть гораздо ниже. Кроме того, оболочечные вирусы являются значительно более уязвимыми к воздействию неблагоприятных факторов, таких как детергенты и поверхностно-активные вещества, которые присутствуют в сточных водах в больших количествах. Исходя из этого очевидна необходимость оптимизации методов улавливания SARS-CoV-2 из сточных вод, их концентрирования и последующей детекции.

Закключение. Мониторинг сточных вод в отношении доминирующих групп кишечных вирусов (ротавирусов А, норовирусов 1-й и 2-й геногрупп, аденовирусов F, энтеровирусов), включающий количественное определение содержания их НК был проведен в Беларуси впервые. В ходе его проведения исследовано более 1000 проб из разных регионов Беларуси, полученных в течение 2020–2021 гг. Анализ полученных результатов свидетельствовал о том, что в 2021 г. имело место снижение активности циркуляции большинства кишечных вирусов по сравнению с 2020 г., которое, вероятно, было обусловлено более строгим соблюдением санитарно-гигиенических правил во время пандемии COVID-19. Преобладание в сточных водах ДНК аденовирусов F могло быть связано с их широким бессимптомным носительством, с одной стороны, и большей устойчивостью ДНК возбудителя во внешней среде – с другой. Зарегистрированное повышение частоты детекции РНК ротавирусов А в холодное время года было обусловлено скорее всего сезонными подъемами заболеваемости. Вместе с тем в отношении норовирусов 2-й геногруппы такой закономерности не выявлено. Обнаружены региональные особенности частоты выявления НК различных кишечных вирусов, однако их причины требуют дальнейшего выяснения. Количественный анализ содержания вирусных НК в сточных водах показал, что метод концентрирования вирусов с помощью

пакетов с адсорбентом может быть использован для мониторинга их концентраций. Большинство проб с высокими концентрациями НК кишечных вирусов были отобраны из точек, куда осуществлялся сброс сточных вод непосредственно из учреждений здравоохранения. По результатам молекулярного типирования в исследованных сточных водах присутствовали наиболее распространенные гено- или серотипы возбудителей – норовирус GII.4[P16], аденовирус 41-го типа, энтеровирусы Коксаки В3, В5 и ЕСНО 13.

Полученные данные, основанные на количественном анализе содержания кишечных вирусов в сточных водах, представляют ценную информацию об их циркуляции в человеческой популяции, которая позволяет оценивать текущую эпидситуацию и прогнозировать ее развитие в ближайшей перспективе.

Список использованных источников

1. Daughton, C. Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences / C. Daughton // *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues Edition: Symposium Series 791*. – Washington : Am. Chem. Soc., 2001. – Ch. 20. – P. 348–364.
2. Wastewater-based epidemiology as a novel biomonitoring tool to evaluate human exposure to pollutants / E. Gracia-Lor [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2018. – Vol. 52, N 18. – P. 10224–10226. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01403>
3. Sims, N. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level // N. Sims, B. Kasprzyk-Hordern // *Environ. Int.* – 2020. – Vol. 139. – Art. 105689. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
4. Xagorarakis, I. Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks / I. Xagorarakis, E. O'Brien // *Women in Water Quality: Investigations by Prominent Female Engineers* / ed. D. O'Bannon. – Cham, 2019. – P. 75–97.
5. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems / W. Ali [et al.] // *J. Hazard Mater.* – 2021. – Vol. 414. – Art. 125439. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>
6. Wastewater-based epidemiology as an early warning system for the spreading of SARS-CoV-2 and its mutations in the population / T. Mackulak [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* – 2021. – Vol. 18, N 11. – Art. 5629. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115629>
7. Norovirus genotypes present in oysters and in effluent from a wastewater treatment plant during the seasonal peak of infections in Ireland in 2010 / P. Rajko-Nenow [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2013. – Vol. 79, N 8. – P. 2578–2587. <https://doi.org/10.1128/aem.03557-12>
8. Environmental surveillance of norovirus genogroups I and II for sensitive detection of epidemic variants / S. Kazama [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2017. – Vol. 83, N 9. – P. e03406-16. <https://doi.org/10.1128/aem.03406-16>
9. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015 / M. Bisseux [et al.] // *Eurosurveillance.* – 2018. – Vol. 23, N 7. – pii 17-00237. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2018.23.7.17-00237>
10. Sanger, F. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1977. – Vol. 74, N 12. – P. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
11. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India / S. George [et al.] // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2012. – Vol. 30, N 1. – P. 24–29. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.93016>
12. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses / S. Kojima [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 2002. – Vol. 100, N 1–2. – P. 107–114. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(01\)00404-9](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(01)00404-9)
13. Development of enhanced primer sets for detection of norovirus / B. H. Kong [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/103052>
14. Lu, X. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene / X. Lu, D. D. Erdman // *Arch. Virol.* – 2006. – Vol. 151, N 8. – P. 1587–1602. <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0722-7>
15. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak / A. Mirand [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2006. – Vol. 78, N 12. – P. 1624–1634. <https://doi.org/10.1002/jmv.20747>
16. Nix, W. A. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens / W. A. Nix, M. S. Oberste, M. A. Pallansch // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, N 8. – P. 2698–2704. <https://doi.org/10.1128/jcm.00542-06>
17. Basic local alignment search tool / S. F. Altschul [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 1990. – Vol. 215, N 3. – P. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
18. 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>
19. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses / A. Kroneman [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2011. – Vol. 51, N 2. – P. 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.03.006>
20. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
21. Possible indicator role of adenoviruses for assessing viral contamination of water / T. V. Amvrosieva [et al.] // *Proc. of the 11th Eastern European young water professional conference, 01–05.10.2019, Praha / Univ. of Chem. and Technol. – Praha, 2019. – P. 76–81.*

22. МУК 4.2.2029-05. Санитарно-вирусологический контроль водных объектов : метод. указания. – Введ. : 2005-11-18. – М. : Роспотребнадзор, 2006. – 40 с.
23. One-year monthly survey of rotavirus, astrovirus and norovirus in three sewage treatment plants (STPs) in Beijing, China and associated health risk assessment / X. Q. He [et al.] // *Water Sci. Technol.* – 2011. – Vol. 64, N 6. – P. 1202–1210. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.080>
24. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants / T. Prado [et al.] // *Water Res.* – 2011. – Vol. 45, N 3. – P. 1287–1297. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.012>
25. Detection and quantitation of infectious human adenoviruses and JC polyomaviruses in water by immunofluorescence assay / B. Calgua [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 2011. – Vol. 171, N 1. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.09.013>
26. UV inactivation of human infectious viruses at two full-scale wastewater treatment plants in Canada / Y. Qiu [et al.] // *Water Res.* – 2018. – Vol. 147. – P. 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.057>
27. High occurrence of hepatitis E virus in samples from wastewater treatment plants in Switzerland and comparison with other enteric viruses / F. G. Masclaux [et al.] // *Water Res.* – 2013. – Vol. 47, N 14. – P. 5101–5109. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.050>
28. Qualitative and quantitative molecular detection of enteroviruses in water from bathing areas and from a sewage treatment plant / E. Schvoerer [et al.] // *Res. Microbiol.* – 2001. – Vol. 52, N 2. – P. 179–186. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(01\)01190-1](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(01)01190-1)

References

1. Daughton C. Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences. *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues Edition: Symposium Series 791*. Washington D. C., American Chemical Society, 2001, Ch. 20, pp. 348–364.
2. Gracia-Lor E., Rousis N., Hernández F., Zuccato E., Castiglioni S. Wastewater-based epidemiology as a novel biomonitoring tool to evaluate human exposure to pollutants. *Environmental Science and Technology*, 2018, vol. 52, no. 18, pp. 10224–10226. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01403>
3. Sims N., Kasprzyk-Hordern B. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environment International*, 2020, vol. 139, art. 105689. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
4. Xagorarakis I., O'Brien E. Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks. *Women in Water Quality: Investigations by Prominent Female Engineers*. Cham, 2019, pp. 75–97.
5. Ali W., Zhang H., Wang Zh., Chang Ch., Javed A., Ali K., Du W., Niazi N. K., Mao K., Yang Zh. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 414, art. 125439. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>
6. Mackulák T., Gál M., Špalková V., Fehér M., Briestenská K., Mikušová M., Tomčíková K., Tamáš M., Škulcová A. B. Wastewater-based epidemiology as an early warning system for the spreading of SARS-CoV-2 and its mutations in the population. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, vol. 18, no. 11, art. 5629. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115629>
7. Rajko-Nenow P., Waters A., Keaveney S., Flannery J., Tuite G., Coughlan S., O'Flaherty V., Doré W. Norovirus genotypes present in oysters and in effluent from a wastewater treatment plant during the seasonal peak of infections in Ireland in 2010. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, vol. 79, no. 8, pp. 2578–2587. <https://doi.org/10.1128/aem.03557-12>
8. Kazama S., Miura T., Masago Y., Konta Y., Tohma K., Manaka T., Liu X., Nakayama D., Tanno T., Saito M., Oshitani H., Omura T. Environmental surveillance of norovirus genogroups I and II for sensitive detection of epidemic variants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, vol. 83, no. 9, pp. e03406-16. <https://doi.org/10.1128/aem.03406-16>
9. Bisseux M., Colombet J., Mirand A., Roque-Afonso A.-M., Abravanel F., Izopet J., Archimbaud C., Peigue-Lafeuille H., Debroas D., Bailly J.-L., Henquell C. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015. *Eurosurveillance*, 2018, vol. 23, no. 7, pii 17-00237. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2018.23.7.17-00237>
10. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1977, vol. 74, no. 12, pp. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
11. George S., Menon V. K., Ramani S., Kang G. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2012, vol. 30, no. 1, pp. 24–29. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.93016>
12. Kojima S., Kageyama T., Fukushi Sh., Hoshino F. B., Shinohara M., Uchida K., Natori K., Takeda N., Katayama K. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *Journal of Virological Methods*, 2002, vol. 100, no. 1–2, pp. 107–114. [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(01\)00404-9](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(01)00404-9)
13. Kong B. H., Lee S.-G., Han S.-H., Jin J.-Y., Jheong W.-H., Paik S.-Y. Development of enhanced primer sets for detection of norovirus. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/103052>
14. Lu X., Erdman D. D. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene. *Archives of Virology*, 2006, vol. 151, no. 8, pp. 1587–1602. <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0722-7>
15. Mirand A., Archimbaud Ch., Henquell C., Michel Y., Chambon M., Peigue-Lafeuille H., Bailly J.-L. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak. *Journal of Medical Virology*, 2006, vol. 78, no. 12, pp. 1624–1634. <https://doi.org/10.1002/jmv.20747>

16. Nix W. A., Oberste M. A., Pallansch M. S. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, vol. 44, no. 8, pp. 2698–2704. <https://doi.org/10.1128/jcm.00542-06>
17. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
18. 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>
19. Kroneman A., Vennema H., Deforche K., Avoort H. V. D., Peñaranda S., Oberste M. S., Vinjé J., Koopmans M. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *Journal of Clinical Virology*, 2011, vol. 51, no. 2, pp. 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.03.006>
20. Glants S. *Medico-biological statistics*. Moscow, Praktika Publ., 1998. 459 p. (in Russian).
21. Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Belskaya I. V., Laziuk S. K., Kazinets O. N., Shilova Yu. A. Possible indicator role of adenoviruses for assessing viral contamination of water. *Proceedings of the 11th Eastern European young water professional conference, 01–05.10.2019, Praha*. Praha, 2019, pp. 76–81.
22. MUK 4.2.2029-05. *Sanitary and virological control of water bodies: method. instructions. Introduced: 2005-11-18*. Moscow, Rospotrebnadzor Publ., 2006. 40 p. (in Russian).
23. He X. Q., Cheng L., Zhang D. Y., Xie X. M., Wang D. H., Wang Z. One-year monthly survey of rotavirus, astrovirus and norovirus in three sewage treatment plants (STPs) in Beijing, China and associated health risk assessment. *Water Science and Technology*, 2011, vol. 64, no. 6, pp. 1202–1210. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.080>
24. Prado T., Silva D. M., Guilayn W. C., Rose T. L., Gaspar A. M. C., Miagostovich M. P. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. *Water Research*, 2011, vol. 45, no. 3, pp. 1287–1297. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.012>
25. Calgua B., Barardi C. R. M., Bofill-Mas S., Rodriguez-Manzano J., Girones R. Detection and quantitation of infectious human adenoviruses and JC polyomaviruses in water by immunofluorescence assay. *Journal of Virological Methods*, 2011, vol. 171, no. 1, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.09.013>
26. Qiu Y., Li Q., Lee B. E., Ruecker N. J., Neumann N. F., Ashbolt N. J., Pang X. UV inactivation of human infectious viruses at two full-scale wastewater treatment plants in Canada. *Water Research*, 2018, vol. 147, pp. 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.057>
27. Masclaux F. G., Hotz Ph., Friedli D., Savova-Bianchi D., Oppliger A. High occurrence of hepatitis E virus in samples from wastewater treatment plants in Switzerland and comparison with other enteric viruses. *Water Research*, 2013, vol. 47, no. 14, pp. 5101–5109. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.050>
28. Schwoerer E., Ventura M., Dubos O., Cazaux G., Serceau R., Gournier N., Dubois V., Caminade P., Fleury H. J. A., Lafon M.-E. Qualitative and quantitative molecular detection of enteroviruses in water from bathing areas and from a sewage treatment plant. *Research in Microbiology*, 2001, vol. 52, no. 2, pp. 179–186. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(01\)01190-1](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(01)01190-1)

Інфармацыя аб аўтарах

Поклонская Наталля Владимировна – канд. біол. навук, вед. науч. супраднік. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр эпідэміялогіі і мікробіялогіі (ул. Філімонава, 23, 220114, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. навук, прафесар, заведуючы лабараторыяй. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр эпідэміялогіі і мікробіялогіі (ул. Філімонава, 23, 220114, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>

Колтунова Юлія Борисовна – мл. науч. супраднік. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр эпідэміялогіі і мікробіялогіі (ул. Філімонава, 23, 220114, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>

Бельская Інна Валер'евна – науч. супраднік. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр эпідэміялогіі і мікробіялогіі (ул. Філімонава, 23, 220114, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>

Шилова Юлія Александровна – мл. науч. супраднік. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр эпідэміялогіі і мікробіялогіі (ул. Філімонава, 23, 220114, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-4521-6599>

Information about authors

Natallia 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. <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>

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. <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>

Yuliya B. Kaltunova – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>

Ina V. Belskaya – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>

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. <https://orcid.org/0000-0002-4521-6599>

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 582.711.71:577.151.4

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-398-405>

Поступила в редакцию 23.05.2022

Received 23.05.2022

Я. Л. Страх, О. С. Игнатовец

Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ *RUBUS CHAMAEMORUS* L.

Аннотация. В настоящее время сохранение биоразнообразия является одним из ключевых направлений устойчивого развития мировой экономики. Совокупность абиотических и биотических факторов постоянно оказывает влияние на растительное сообщество, что зачастую совместно с антропогенным воздействием неблагоприятно сказывается на способности растений к адаптации без ущерба для их физиологических показателей и сужает пределы их толерантности и устойчивости. Одним из вариантов определения восприимчивости или устойчивости популяций к климатическим условиям и антропогенным стресс-факторам является изучение комплекса ферментов, ответственных за формирование антиоксидантной защиты клетки. Морошка приземистая относится к реликтовым растениям, находящимся в Республике Беларусь под угрозой исчезновения.

Проведенные исследования продемонстрировали, что наиболее угнетенной из изучаемых популяций *Rubus chamaemorus* L. является популяция заказника «Жада», однако проводимые мероприятия по восстановлению гидро-режима указанной территории могут положительно сказаться на ее дальнейшем состоянии. Данные исследования впервые проводились для южной границы ареала обитания.

Растения популяции заказника «Лонно» оцениваются как наиболее перспективные для использования в селекции и распространении морошки, что в свою очередь позволит сохранить этот реликтовый вид на территории Беларуси.

Ключевые слова: морошка приземистая (*Rubus chamaemorus* L.), популяция, гендерная дифференциация, ферменты, редокс-статус, антиоксидантная система, пероксидаза, каталаза, полифенолоксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза

Для цитирования: Страх, Я. Л. Анализ активности ключевых ферментов антиоксидантной системы *Rubus chamaemorus* L. / Я. Л. Страх, О. С. Игнатовец // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 398–405. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-398-405>

Yana L. Strakh, Olga S. Ignatovets

Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

ANALYSIS OF THE ENZYME ACTIVITY OF THE *RUBUS CHAMAEMORUS* L. ANTIOXIDANT SYSTEM

Abstract. Currently, biodiversity conservation is one of the key areas for sustainable development of the world economy. A combination of abiotic and biotic factors constantly affects the plant community. Often, together with anthropogenic stress factors, they adversely affect the ability of plants to adapt without compromising physiological parameters and to narrow the limits of tolerance and resistance. One of the options for determining the susceptibility or resistance of populations to climatic conditions and anthropogenic stress factors is to study the complex of enzymes responsible for the formation of the antioxidant defense of the cell. Cloudberry squat refers to relict plants that are endangered in the Republic of Belarus.

The studies have shown that the most oppressed of the studied populations of *Rubus chamaemorus* L. is “Zhada”; however, ongoing measures to restore the hydrological regime of this territory can have a positive impact on its future condition. These studies were carried out for the first time for the southern border of the habitat.

“Lonno” population plants are assessed as the most promising ones for use in breeding and distribution of cloudberry that, in turn, will allow preserving this relic species in Belarus.

Keywords: cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.), population, gender differentiation, enzymes, redox status, antioxidant system, peroxidase, catalase, polyphenol oxidase, superoxide dismutase, glutathione reductase

For citation: Strakh Ya. L., Ignatovets O. S. Analysis of the enzyme activity of the *Rubus chamaemorus* L. antioxidant system. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 398–405 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-398-405>

Введение. В течение всего жизненного периода популяция и отдельные растения постоянно находятся в взаимодействии с окружающей средой, которая представляет собой совокупность биотических и абиотических факторов. Последние оказывают существенное воздействие на многие физиологические функции растения, выступают в качестве регуляторов их роста, развития и продуктивности [1]. Влияние неблагоприятных факторов приводит к формированию у растений комплекса защитных реакций, что позволяет сохранять жизнеспособность и приспосабливаться к изменяющимся условиям. Интенсификация и расширяющееся многообразие антропогенных воздействий уменьшают устойчивость к естественным факторам среды и сужают пределы толерантности растений [2].

Существует несколько механизмов защиты, каждый из которых выполняет определенные функции и обладает различными способами активации. Например, под воздействием неблагоприятных условий в клетках развивается окислительный стресс, вызванный чрезмерной генерацией активных форм кислорода (АФК), которые обладают высокой реакционной способностью и нарушают течение многих процессов в клетке, а также ее структуры (например, мембраны), вызывая перекисное окисление липидов [3].

Поддержание физиологического редокс-статуса внутри клеток играет существенную роль во многих процессах, таких как синтез ДНК, экспрессия генов, ферментативная активность и т. д. Избыток АФК, образующихся под действием различных стрессоров, может вызывать в растительных клетках нарушение редокс-гомеостаза [4]. Поэтому исследование устойчивости растений к факторам окружающей среды различной интенсивности воздействия является исключительно важным и актуальным.

Одним из вариантов определения устойчивости или восприимчивости популяций к климатическим условиям и антропогенным стресс-факторам является изучение комплекса ферментов, ответственных за формирование антиоксидантной защиты клетки. Проведение подобных исследований может способствовать разработке более эффективных мероприятий по сохранению и поддержанию растений, находящихся на грани исчезновения.

Ферменты – специфические белковые соединения, катализирующие все реакции обмена в клетках. Они находятся в цитоплазме, органеллах и клеточной стенке, участвуют во всех биохимических реакциях на всех этапах развития растений. От ферментов зависят скорость и направление биохимических процессов. Они обуславливают большинство физиологических признаков растений. Количество фермента в клетке определяется относительной скоростью их синтеза и распада, природой, уровнем концентраций активаторов и ингибиторов.

Наиболее изученными ферментами, поддерживающими редокс-стабильность и участвующими в формировании устойчивости растений, являются пероксидаза (ПО), полифенолоксидаза (ПФО), супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатионредуктаза (ГР), аскорбатпероксидаза.

ПО (КФ 1.11.1.X, где X определяется природой биологического восстановителя) – ферменты группы оксидоредуктаз, являющиеся гемосодержащими гликопротеидами [5]. Они катализируют в клетках реакции окисления различных веществ с помощью перекиси водорода.

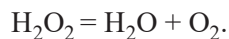
ГР (КФ 1.8.1.7) – флавиносодержащий фермент [6], катализирующий НАДФН-зависимое восстановление дисульфида глутатиона (GSSG) до восстановленного глутатиона (GSH) в соответствии с реакцией



СОД (КФ 1.15.1.11) – фермент, катализирующий реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов с образованием пероксида водорода и триплетного кислорода [7]:



КАТ (КФ 1.11.1.6) – хромопротеин с молекулярной массой около 240 кДа. Он состоит из 4 субъединиц, имеющих по одной группе гема, локализуется в основном в пероксисомах, частично – в микросомах, менее всего – в цитозоле [8]. Реакция, катализируемая КАТ:



ПФО (КФ 1.10.3.1) – группа медь-содержащих ферментов, широко распространенных среди многих организмов. ПФО вовлечены в образование пигментов, улавливание АФК и защитные механизмы растений от патогенов и насекомых [9]. ПФО участвуют в создании механических полифенольных барьеров, задерживающих проникновение патогенов. ПФО может присутствовать во многих органах и тканях, включая корни, листья, проводящие ткани и др.

Морошка приземистая (*Rubus chamaemorus* L.) – многолетнее травянистое растение являющееся субарктическо-таежным видом. На южной границе ареала обитания находится в основном в угнетенном состоянии и нуждается в комплексе природоохранных мер с целью сохранения популяции. На территории Республики Беларусь вид *Rubus chamaemorus* L. занесен в Красную книгу и относится ко 2-й категории охраны [10]. Следует отметить тот факт, что в настоящее время происходит смещение границы ареала обитания. По ранним литературным данным, около 100 лет назад морошку можно было встретить в Браславском районе, в Налибокской пуще, Могилевской области (ранее Могилевская губерния) и Беловежской пуще.

Целью данного исследования являлось изучение ферментов антиоксидантного комплекса в популяциях морошки приземистой, произрастающих на территории заказников «Лонно», «Ельня», «Болото Мох», «Жада», и выявление наиболее адаптированных и стрессоустойчивых популяций.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследований использовали свежесобранные и замороженные листовые пластинки морошки приземистой. Время сбора образцов – 2020 г. Сбор листовых пластинок проводили в фазу цветения как в наиболее уязвимую для морошки приземистой. Была произведена сортировка образцов по гендерному признаку. В табл. 1 представлены места сбора морошки приземистой в Республике Беларусь.

Т а б л и ц а 1. Заказники Республики Беларусь, где собраны образцы морошки приземистой (*Rubus chamaemorus* L.)

Table 1. Reserves of the Republic of Belarus, where samples of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) are collected

Заказник	Место произрастания	Координаты (WGS84)
«Лонно»	оз. Лонно, д. Лонница, Полоцкий р-н, Витебская обл.	55°38'01.4" N, 027°9'23.6" E
«Ельня»	Миорский р-н, Витебская обл.	57°31'24.6" N, 027°9'23.6" E
«Болото Мох»	Миорский р-н, Витебская обл.	55°37'59.4" N, 027°27'19.5" E
«Жада»	Шарковщинский и Миорский р-ны, Витебская обл.	55°25'44.1" N, 027°58'49.0" E

Характеристика условий произрастания популяций морошки приземистой представлены в табл. 2.

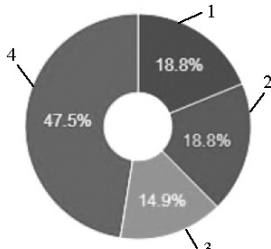
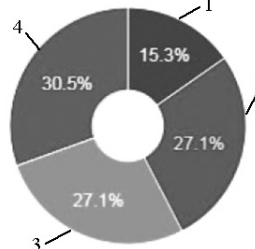
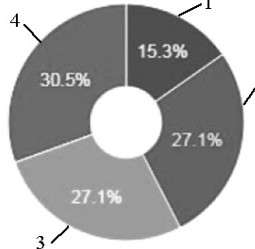
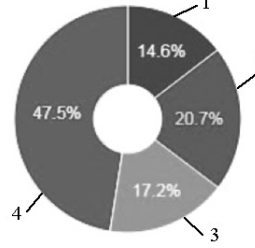
На территории болота «Жада» наблюдается серьезное нарушение гидрорежима вследствие осушения озера в начале XX в. и осушения болота вплоть до 1990-х с помощью каналов из оз. Стречно, по которым десятилетиями уходила вода. В результате этих вмешательств изменился естественный гидрологический режим и нарушились важнейшие экологические функции территории. Болото перестало накапливать влагу и снабжать ею ручьи и малые реки, поглощать парниковые газы, торф стал высыхать.

Гидрологический режим болота «Ельня» также изменялся на протяжении последних лет. Постоянное использование вездехода вследствие развития экотуризма на данной территории привело к образованию сети глубоких колеи, по которым вода уходит с болота как по осушительным каналам.

Популяция заказника «Болото Мох» находится в зоне послепожарной трансформации.

Активность ПФО определяли по методу, предложенному в работе [11], активность ПФО – по методу, описанному в работе [12]. Для определения активности каталазы использовали спектрофотометрический метод, предложенный Эби [13]. Метод основан на определении скорости разложения перекиси водорода каталазой исследуемого образца с образованием воды и кислорода.

Т а б л и ц а 2. Характеристика условий произрастания популяций морошки приземистой
 Table 2. Characteristics of the growing conditions of cloudberry populations

Заказник	Освещенность, лк	Густота древесного яруса	Спектр погодных условий
«Лонно»	22 900	Густой высокий лес	
«Болото Мох»	47 800	Редкостоящие невысокие деревья со среднерослыми деревьями	
«Ельня»	74 500	Открытая территория с редкостоящими невысокими деревьями	
«Жада»	31 000	Среднерослые деревья	

П р и м е ч а н и е. 1 – осадки, 2 – облачно, 3 – солнечно, 4 – пасмурно.

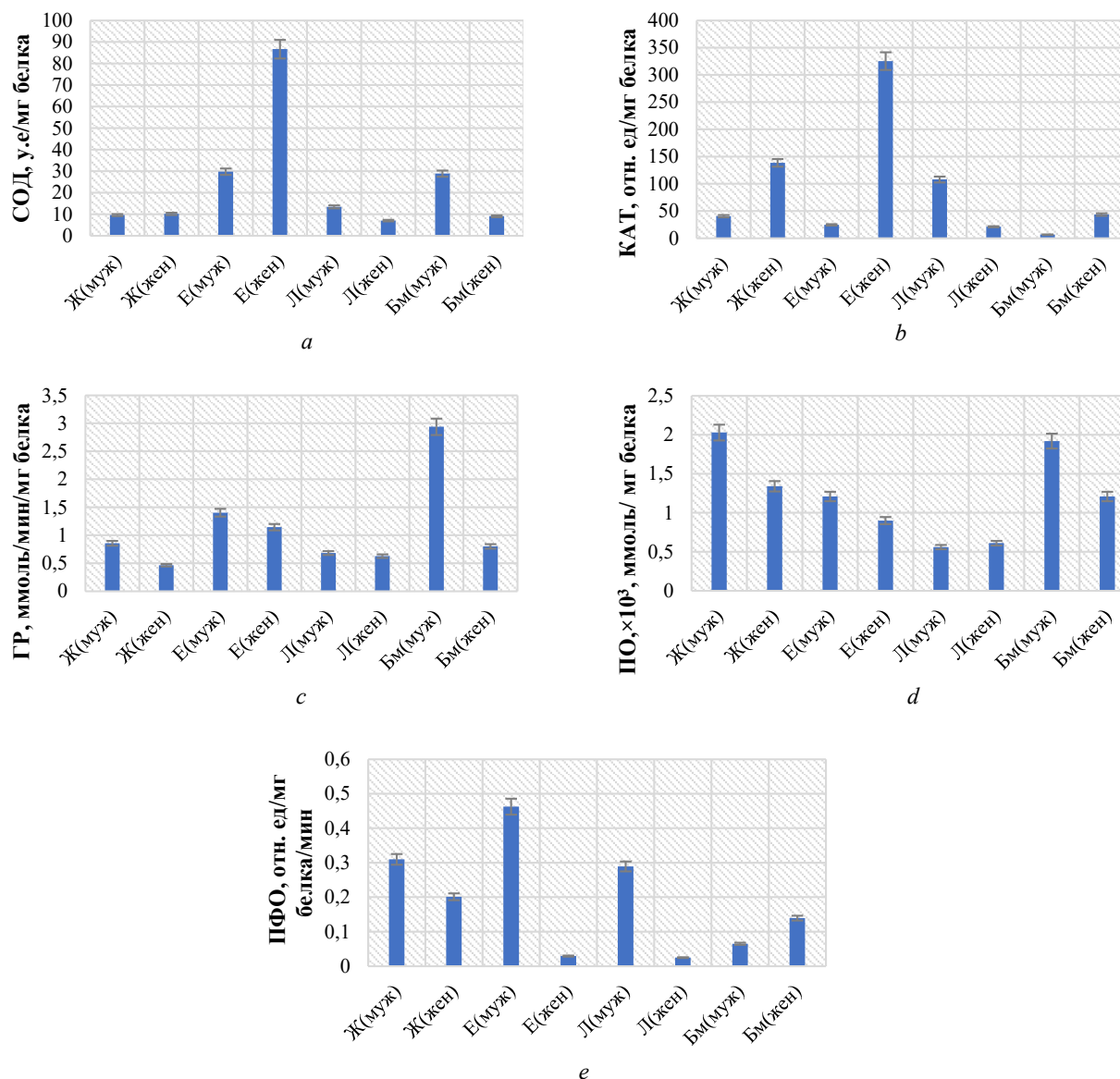
Общую активность СОД определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия согласно [14].

Активность ГР определяли согласно методу, описанному Верлан [15]. ГР катализирует восстановление окисленного глутатиона, используя в качестве восстановительного эквивалента НАДФН. Метод основан на изменении абсорбции раствора при образовании окисленной формы НАДФ⁺.

Все вышеперечисленные методики были адаптированы под исследуемый растительный материал. Во всех экспериментах выполняли по три параллельных опыта. Результаты представлены в виде среднего значения выборки и полуширины доверительного интервала. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Office Excel 2016.

Результаты и их обсуждение. Результаты определения активности ключевых ферментов антиокислительной системы *Rubus chamaemorus* L. представлены на рисунке.

Так как СОД является первичной линией защиты растения от окислительного стресса, можно сделать вывод, что активность фермента, демонстрируемая популяцией заказника «Ельня» (см. рисунок, а), является ответом на стресс, не носящий хронического характера. Также наблю-



Гистограммы основных ферментов антиокислительной системы *Rubus chamaemorus* L.: активность супероксиддисмутазы (a), каталазы (b), глутатионредуктазы (c), пероксидазы (d), полифенолоксидазы (e)

Histograms of the main enzymes of the antioxidant system *Rubus chamaemorus* L.: activity of superoxide dismutase (a), catalase (b), glutathione reductase (c), peroxidase (d), polyphenol oxidase (e)

дается взаимосвязь между уровнем активности СОД и КАТ, так как вследствие действия первого образуется пероксид водорода, для утилизации которого используется КАТ. Разложение происходит согласно реакции, определяемой по формуле $\text{H}_2\text{O}_2 = \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Активность КАТ может являться критерием оценки адаптационного потенциала у морошки приземистой. Активность КАТ выше у популяций, произрастающих на территориях с нарушением гидрологического режима – в заказниках «Ельня» и «Жада» (см. рисунок, b). Фермент синтезируется в ответ на стрессовые воздействия, которые повышают концентрацию перекиси водорода. Для поддержания гомеостаза наблюдается закономерное увеличение активности фермента. Длительное нарушение гидрологического режима вызывает соответствующий ответ, однако снижается вероятность быстрого и эффективного ответа на другие факторы. Такое состояние популяций снижает также устойчивость к биотическим факторам стресса, в частности к патогенам и антропогенной нагрузке. Известно, что КАТ активно катализируют разложение H_2O_2 только

при его относительно высоких концентрациях в клетке [16]. Следовательно, наибольшее содержание пероксида водорода наблюдается в мужском клоне популяции заказника «Ельня». В заказнике «Лонно» средняя активность КАТ по популяции составляет 60 отн. ед/мг белка (это значение можно интерпретировать как оптимальное в рамках изучаемых популяций). По данному показателю популяция этого заказника является более устойчивой к стрессорному воздействию в исследуемый период, а также в онтогенезе. Изучение активности ферментов и гендерного различия в популяции представляется перспективным, поскольку соотношение мужских и женских особей в заказнике «Ельня» здесь наиболее оптимально в сравнении с их соотношением в популяциях заказников «Жада», «Ельня», «Болото Мох». Данный факт является неотъемлемым критерием выбора популяции для отбора растений для нужд селекции.

Активность ГР выше у популяции заказника «Болото Мох» (см. рисунок, *c*), что может быть обусловлено тем, что популяция располагается в зоне трансформации после пожара. Так как пожары являются одной из причин и фактором утраты биоразнообразия экосистем, данная популяция нуждается в защите от пирогенных воздействий, поскольку повторное негативное воздействие подвергнет повторному риску экосистему. ГР предотвращает окисление ферментов и мембраны, выполняя тем самым важную роль в защите растения.

ПО обладают достаточно высокой в сравнении с другими ферментами антиокислительной системы термостойкостью, а также являются чувствительными индикаторами стрессовых воздействий абиотических факторов на растения. Чаще данный фермент рассматривают как ответ на температурные стрессы и стрессы, вызванные УФ-облучением. Наиболее высокие активности ПО отмечены в популяциях заказников «Жада» и «Болото Мох» (см. рисунок, *d*). Данные значения активности популяции заказника «Болото Мох» можно сопоставить с достаточно высоким уровнем освещенности и количеством солнечных дней (см. табл. 1), что повышает УФ-нагрузку на популяцию. Снижение устойчивости к действию УФ-облучения можно объяснить антропогенным воздействием, так как популяция находится в зоне послепожарной трансформации и это понижает пределы толерантности растения. ПО являются индуцибельным белком, в зависимости от вида стрессового воздействия изменяется ее изоферментный спектр. Таким образом, для более полной оценки состояния популяций морошки приземистой целесообразно провести изучение изоферментного набора ПО.

Равномерно высокие показатели активности ПФО в женских и мужских клонах популяции заказника «Жада» (см. рисунок, *e*) можно объяснить также нарушением гидрологического режима заказника, так как известна взаимосвязь активности ПФО и активности водного режима [17]. Для видов, предпочитающих заболоченную местность, данная взаимосвязь наблюдается более отчетливо.

Заключение. Активность ферментов антиоксидантной системы растительных клеток является биохимическим маркером устойчивости или восприимчивости конкретных популяций морошки приземистой к абиотическим и антропогенным факторам. Таким образом, проводя ежегодные исследования, можно на основе данных об изменении содержания указанных ферментов оценить эффективность тех мероприятий, которые предпринимаются в настоящий момент для сохранения и поддержания вида морошки приземистой. На примере популяции заказника «Жада» можно будет проследить за постепенным восстановлением гидрорежима и корректировать запланированные мероприятия.

Данные исследования, впервые проведенные для южной границы ареала обитания, демонстрируют состояние популяций в коротком периоде, однако для видов, находящихся под угрозой исчезновения, перспективными представляются дальнейшие исследования с целью установления более достоверных зависимостей популяций и оценки их состояния.

Растения популяции заказника «Лонно» оцениваются как наиболее перспективные для использования в селекции и распространения морошки, что в свою очередь позволит сохранить этот реликтовый вид на территории Беларуси.

Благодарности. Исследования проведены при поддержке БРФФИ.

Acknowledgements. The research was carried out with the support of the BRFFR.

Список использованных источников

1. Поликсенова, В. Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам: на примере томата / В. Д. Поликсенова // Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2009. – № 1 (66). – С. 48–60.
2. Metabolic Pathway of Natural Antioxidants, Antioxidant Enzymes and ROS Providence / B. Huchzermeyer [et al.]. – Antioxidants. – 2022. – Vol. 11, N 4. – Art. 761. <https://doi.org/10.3390/antiox11040761>
3. Колупаев, Ю. Е. Активные формы кислорода и стрессовый сигналинг у растений / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец // Ukr. Biochem. J. – 2014. – Т. 86, № 4. – С. 18–35.
4. Колупаев, Ю. Е. Антиоксидантная система растений: клеточная компартментация, защитные и сигнальные функции, механизмы регуляции / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец, Л. Ф. Кабашникова // Прикл. биохим. и микробиол. – 2019. – Т. 55, № 5. – С. 419–440.
5. Газарян, И. Г. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений / И. Г. Газарян, Д. М. Хушпульян, В. И. Тишков // Успехи биол. химии. – 2006. – Т. 46. – С. 303–323.
6. Влияние пренатального стресса на активность глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов в субклеточных фракциях печени крыс / А. В. Вьюшина [и др.] // Биомед. химия. – 2021. – Т. 67, № 4. – С. 347–351.
7. Киргизова, И. В. Особенности накопления антиоксидантных ферментов у растений картофеля в условиях биотического и абиотического стрессов / И. В. Киргизова, А. М. Гаджимурадова, Р. Т. Омаров // Изв. вузов. Прикл. химия и биотехнология. – 2018. – Т. 8, № 4. – С. 42–54.
8. Das, K. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants / K. Das, A. Roychoudhury // Redox Homeostasis Managers in Plants under Environmental Stresses. – 2016. – Vol. 2, N 53. – P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
9. Polyphenol oxidase from Dominga table grape / E. Núñez-Delicado [et al.] // J. Agricult. Food Chem. – 2005. – Vol. 53, N 15. – P. 6087–6093. <https://doi.org/10.1021/jf050346z>
10. Красная книга Республики Беларусь: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / гл. ред. : Л. И. Хоружик [и др.]. – Минск : БелЭн, 2005. – 456 с.
11. Изучение активности пероксидаз в листьях разных популяций морозники приземистой / Я. Л. Страх [и др.] // Технология органических веществ: материалы докл. 84-й науч.-техн. конф., посвящ. 90-летию юбилею БГТУ и Дню белорус. науки (с междунар. участием), Минск, 03–14 февр. 2020 г. / Белорус. гос. технол. ун-т ; гл. ред. И. В. Войтов. – Минск, 2020. – С. 284–286.
12. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л. : Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. – 429 с.
13. Aebi, H. Catalase *in vitro* / H. Aebi // Methods Enzymol. – 1984. – Vol. 105. – P. 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
14. Полесская, О. Г. Изменение активности антиоксидантных ферментов в листьях и корнях пшеницы в зависимости от формы и дозы азота в среде / О. Г. Полесская, Е. И. Каширина, Н. Д. Алехина // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, N 5. – С. 686–691.
15. Верлан, Н. В. Клинико-фармакологический анализ состояния системы глутатиона при церебральной ишемии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.25 / Н. В. Верлан ; Моск. мед. акад. им. И. М. Сеченова. – М., 2008. – 37 с.
16. Gill, S. S. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants / S. S. Gill, N. Tuteja // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – Vol. 48, N 12. – P. 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
17. Al-Khayri J. M. Nanobiotechnology: Mitigation of Abiotic Stress in Plants / J. M. Al-Khayri, M. I. Ansari, A. Kumar. – Cham : Springer, 2021. – 590 p.

References

1. Poliksenova V. D. Induced resistance of plants to pathogens and abiotic stress factors: on the example of tomato. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of BSU. Series 2, Chemistry. Biology. Geography], 2009, no. 1 (66), pp. 48–60 (in Russian).
2. Huchzermeyer B., Menghani E., Khardia P., Shilu A. Metabolic Pathway of Natural Antioxidants, Antioxidant Enzymes and ROS Providence. *Antioxidants*, 2022, vol. 11, no. 4, art. 761. <https://doi.org/10.3390/antiox11040761>
3. Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V. Reactive oxygen species and stress signaling in plants. *Ukrainian Biochemical Journal*, 2014, vol. 86, no. 4, pp. 18–35 (in Russian).
4. Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V., Kabashnikova L. F. Plant Antioxidant System: Cellular Compartmentation, Protective and Signaling Functions, Regulatory Mechanisms (Review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied biochemistry and microbiology], 2019, vol. 55, no. 5, pp. 419–440 (in Russian).
5. Gazaryan I. G., Khushpul'yan D. M., Tishkov V. I. Features of the structure and mechanism of action of plant peroxidases. *Uspekhi biologicheskoi khimii* [Advances in biological chemistry], 2006, vol. 46, pp. 303–323 (in Russian).
6. V'yushina A. V., Pritvorova A. V., Semenova O. G., Ordyan N. E. Effect of prenatal stress on the activity of glutathione-dependent antioxidant enzymes in subcellular fractions of rat liver. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry], 2021, vol. 67, no. 4, pp. 347–351 (in Russian).
7. Kirgizova I. V., Gadzhimuradova A. M., Omarov R. T. Accumulation of antioxidant enzymes in potato plants under the conditions of biotic and abiotic stress. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya* [Proceedings of universities. Applied chemistry and biotechnology], 2018, vol. 8, no. 4, pp. 42–54 (in Russian).

8. Das K., Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Redox Homeostasis Managers in Plants under Environmental Stresses*, 2016, vol. 2, no. 53, pp. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
9. Núñez-Delicado E., Serrano-Megías M., Pérez-López A. J., López-Nicolás J. M. Polyphenol oxidase from Dominga table grape. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, no. 15, pp. 6087–6093. <https://doi.org/10.1021/jf050346z>
10. *Red Book of the Republic of Belarus: Rare and endangered species of wild plants*. Minsk, Belaruskaya entsyklopedyya Publ., 2005. 456 p. (in Russian).
11. Strakh Ya. L., Ignatovets O. S., Kruchonok A. V., Krasnevskaya N. Study of the activity of peroxidases in the leaves of different populations of cloudberry. *Tekhnologiya organicheskikh veshchestv: materialy dokladov 84-i nauchno-tekhnikeskoi konferentsii, posvyashchennoi 90-letnemu yubileyu BGU i Dnyu belorusskoi nauki (s mezhdunarodnym uchastiem) (Minsk, 03–14 fevralya 2020 goda)* [Technology of organic substances: materials of reports of the 84th scientific and technical conference dedicated to the 90th anniversary of BSTU and the Day of Belarusian Science (with international participation) (Minsk, February 03–14, 2020)]. Minsk, 2020, pp. 284–286 (in Russian).
12. Ermakov A. I., Arasimovich V. V., Yarosh N. P., Peruanskii Yu. V., Lukovnikova G. A., Ikonnikova M. I. *Methods of biochemical research of plants*. Leningrad, Agropromizdat. Leningradskoe otdelenie Publ., 1987. 429 p. (in Russian).
13. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 1984, vol. 105, pp. 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
14. Polesskaya O. G., Kashirina E. I., Alekhina N. D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots depending on the form and dose of nitrogen in the medium. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 2004, vol. 51, no. 5, pp. 686–691 (in Russian).
15. Verlan N. V. *Clinical and pharmacological analysis of the state of the glutathione system in cerebral ischemia*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2008. 37 p. (in Russian).
16. Gill S. S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, vol. 48, no. 12, pp. 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
17. Al-Khayri J. M., Ansari M. I., Kumar A. (eds.). *Nanobiotechnology: Mitigation of Abiotic Stress in Plants*. Cham, Springer, 2021. 590 p.

Информация об авторах

Страх Яна Леонидовна – аспирант. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: y.strakh@gmail.com

Игнатовец Ольга Степановна – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Ignatovets@gmail.com

Information about the authors

Yana L. Strakh – Postgraduate student. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: y.strakh@gmail.com

Olga S. Ignatovets – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Ignatovets@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 582.639.11:[58:001.89:005.71:001.32(476-25)]

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-406-412>

Поступила в редакцию 24.03.2022

Received 24.03.2022

Т. И. Никонович

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ИСТОРИЧЕСКИЕ СОРТА В КОЛЛЕКЦИИ РОЗ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Аннотация. В статье приведены сведения о 29 исторических сортах роз из 5 садовых групп, культивируемых в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси 50–70 лет. Приведено описание растений, установлены морфометрические показатели, а также особенности и длительность цветения растений в условиях Сада. Оценена зимостойкость и устойчивость сортов к болезням в местных условиях. Отмечено, что исторические сорта – ценные раритеты, которые следует сохранять в коллекциях, так как они не только отражают историю селекции роз, но и перспективны для использования в современных городских цветниках и ландшафтных композициях.

Ключевые слова: розы, интродукция, исторические сорта, окраска и аромат цветков, зимостойкость, длительность цветения, декоративность, устойчивость к болезням

Для цитирования: Никонович, Т. И. Исторические сорта в коллекции роз Центрального ботанического сада НАН Беларуси / Т. И. Никонович // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 406–412. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-406-412>

Tatsiana I. Nikanovich

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

HISTORICAL VARIETIES IN THE ROSE COLLECTION OF THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

Abstract. The article contains the information about 29 historical varieties of roses cultivated in the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus for more than 50–70 years. They belong to 5 garden groups, including the oldest roses – repairable ones. The plants were described and the morphometric indicators and features of flowering plants in the garden were established. Winter hardiness of varieties in local conditions was estimated. It is noted that such varieties should be preserved in collections, because they not only reflect the history of rose breeding, but also are a valuable gene pool for breeding work.

Keywords: roses, introduction, historical varieties, color and aroma of flowers, winter hardiness, duration of flowering, decorative effect, resistance to diseases

For citation: Nikanovich T. I. Historical varieties in the rose collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 406–412 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-406-412>

Введение. Розы – одна из самых востребованных цветочных культур. В Беларуси их впервые начали выращивать в XVII в. в садах при монастырях, затем в ботанических садах и парках магнатов. Первоначально культивировали видовые розы – шиповники, на смену которым пришли первые сорта. К настоящему времени в мире зарегистрировано более 35 тыс. сортов роз, и с каждым годом их ассортимент пополняется.

В Центральном ботаническом саду (ЦБС) НАН Беларуси розы были интродуцированы уже в 1933–1934 гг. Самыми первыми начали выращивать видовые розы. Известно, что рабатка из розы морщинистой (*Rosa rugosa* Thunb.) была создана в центральной части Сада. В 1940 г. коллекция роз состояла из 80 видов и сортов. К сожалению, в годы Великой Отечественной войны растения были уничтожены [1]. Активная, целенаправленная работа по формированию коллекции роз возобновилась в середине 1950-х годов. Ее инициировал директор Сада академик Н. В. Смольский. Уже в 1960 г. коллекционный фонд роз включал 570 сортов, а к 1967 г. – 663. Куратором

коллекции в этот период времени была Л. П. Гусарова. Она не только интродуцировала новые сорта, но и занималась селекцией роз. В результате многолетнего изучения ею было выделено 144 сорта, наиболее перспективные для массового выращивания в городах и поселках Беларуси [2, 3]. В настоящее время коллекция роз включает 270 сортов, относящихся к 17 садовым группам.

Несмотря на многообразие современных новинок селекции, в последние годы возрастает популярность сортов, созданных в XIX – начале XX в. Они ценятся зимостойкостью, отличаются ароматными цветками и длительным цветением, устойчивостью цветков к неблагоприятным погодным условиям. Сохранение генофонда таких сортов представляется особо актуальным в наше время, так как большинство из них выведены из коммерческого оборота и сохранились в многих коллекциях.

Цель данной работы – выявление в коллекции роз Центрального ботанического сада сортов, культивируемых более 50–70 лет, и оценка перспективы их использования в современном озеленении и просветительской деятельности Сада.

Материалы и методы исследования. Для выявления исторически значимых в создании коллекции Сада сортов были проанализированы списки состава коллекции роз за 70-летний период – с 1956 г. В результате в современной коллекции выявлено 29 сортов, культивируемых в ЦБС НАН Беларуси 50–70 лет, за что они получили статус «исторических сортов». Они и стали объектами исследования.

Исследования проводились в 2019–2021 гг. на коллекционном участке роз ЦБС НАН Беларуси.

Сезонный ритм роста и развития растений изучали по методике И. Н. Бейдеман [4], морфометрические описания (высота куста, окраска листьев и цветков, размер и форма цветков, количество цветков в соцветии) проводили в соответствии с «Атласом по описательной морфологии высших растений». Также отмечали наличие аромата [5, 6]. Зимостойкость растений оценивали визуально по 7-балльной шкале: 1 балл – повреждений нет (растение не обмерзает); 2 балла – обмерзает не более 50 % длины однолетних побегов; 3 балла – обмерзает от 50 до 100 % длины однолетних побегов; 4 балла – обмерзают не только однолетние, но и более старые побеги; 5 баллов – обмерзает надземная часть до снегового покрова; 6 баллов – обмерзает вся надземная часть; 7 баллов – растение вымерзает полностью [7].

Ниже приводим описание и морфометрические данные исторических сортов нашей коллекции, полученные в результате проведенных исследований.

Результаты и их обсуждение. Ремонтантные розы (*Hybrid Perpetual*). Это одна из самых старых групп садовых роз. Первые сорта были выведены во Франции в 1824 г. и более полувека доминировали в европейских садах [8]. Они получены методом отдаленной гибридизации. Исходными формами служили холодостойкие виды роз галльской, дамасской и портлендской с чайными и бенгальскими. Цветки ремонтантных роз в основном розового или красного цвета, округло-чашевидной формы, густомахровые. Цветы очень ароматные. От чайных роз они унаследовали способность к повторному цветению. Обладают устойчивостью к низким температурам, однако требуют укрытия на зиму. По нашим наблюдениям, без укрытия надземная часть побегов может вымерзать полностью, но благодаря мощной корневой системе, адаптированной к низким температурам, растение, как правило, полностью восстанавливается. Благодаря высокому содержанию эфирных масел в цветках ремонтантные розы используют не только в садоводстве, но и в парфюмерной промышленности.

В нашей коллекции с 1956–1958 гг. сохраняются три сорта, выведенные почти 150 лет назад французскими селекционерами.

Elisabeth Vigneron, Vigneron, 1865 (La Reine × Duchesse of Sutherland). Цветки розовые, в центре более темные, 8–12 см в диаметре, махровые (до 120 лепестков), очень душистые, стойкие. Листья матовые, ярко-зеленые. Кусты 80–95 см, прямостоячие. Цветение у этого сорта наступает уже в первой декаде июня и продолжается 25–27 дней. Период покоя длится 17–20 дней. Второе цветение заканчивается в начале октября.

Souvenir de Ducher, Verdier, 1874. Цветки пурпурно-красные, с более темным бархатистым центром, выгорают, бокаловидные, 6–8 см в диаметре, махровые (до 70 лепестков), очень душистые. Листья светло-зеленые. Кусты 80–90 см высотой, прямостоячие. Цветение начинается с середины

июня и продолжается до 27 дней. Затем наступает короткий период покоя на 12–15 дней и начинается вторая волна цветения, не такая обильная. Цветение длится в среднем до начала октября.

Georg Arends, W. Hinner, 1910 (Frau Karl Druschki × La France). Цветки светло-розовые, обратная сторона лепестков беловато-розовая, крупные (10–12 см в диаметре), махровые, стойкие, чашевидной формы, очень душистые, в соцветии по 4–6 цветков. Листья темно-зеленые, полублестящие. Кусты до 1,5 м высотой. Цветение обильное, начинается в середине июня и продолжается 25–27 дней. Период покоя длится 16–20 дней. Вторая волна цветения заканчивается в конце сентября.

Чайно-гибридные розы (Hybrid Tea) – наиболее распространенная в настоящее время группа, полученная в результате скрещивания ремонтантных роз с чайными. Цветки классической бокаловидной формы, разнообразных окрасок, махровые, с чайным ароматом или слабо душистые. Цветение начинается, как правило, с середины июня и продолжается с небольшими перерывами до самых заморозков, т. е. около 100–110 дней. В нашей климатической зоне нуждаются в укрытии на зиму.

Joanna Hill, J. H. Hill, 1928 (Mme Butterfly × Miss Amelia Gude). Цветки кремово-желтые, крупные (10–11 см в диаметре), махровые (до 40–50 лепестков), душистые. Листья кожистые. Кусты сильнорослые, высотой 90–120 см. Цветение обильное.

Gloria Dei, Meilland, 1945. Цветки желтые, с красной каймой по краям лепестков, при распускании приобретают розоватый оттенок, крупные (до 14 см в диаметре), махровые (до 40–45 лепестков), стойкие, со слабым ароматом. Листья крупные, блестящие. Кусты до 1 м высотой, с прямыми прочными побегами.

Rose Gaujard, Gaujard, 1957 (Peace × Opera). Цветки вишнево-красные, с нижней стороны палево-розовые и серебристо-белые, крупные (10–12 см в диаметре), махровые (до 48–50 лепестков), слабо душистые. Листья кожистые, блестящие. Кусты до 80 см высотой. Цветение обильное.

Dame de Coeur, Lens, 1958 (Peace × Independence). Цветки вишнево-красные, крупные (11–12 см в диаметре), махровые (до 60 лепестков), стойкие, слабо душистые. Листья темно-зеленые, блестящие. Кусты высотой 80–100 см, густые, прямые. Цветение обильное.

Carina, A. Meilland, 1963 (White Knight × (Happiness × Independence)). Цветки атласно-розовые, 12 см в диаметре, махровые (до 35–40 лепестков), слабо душистые. Листья темно-зеленые, кожистые. Кусты до 90 см высотой, пряморослые, компактные. Цветение обильное.

Mister Lincoln, Swim-Week, 1964 (Chrysler Imperial × Charles Mallerin). Цветки темно-красные, бархатистые, крупные (10–12 см в диаметре), махровые (до 30–40 лепестков), душистые. Листья темно-зеленые, кожистые. Кусты высотой 70–80 см, с мощными прямыми побегами. Цветение умеренное, непрерывное.

Роза флорибунда (Floribunda) – группа сортов, выведенных в результате скрещивания чайно-гибридных роз с полиантовыми. Привлекает многообразием ярких цветков. Цветки разной цветовой гаммы, чашевидной или плоской формы, различной махровости, собраны в соцветия, ароматные или без аромата. Цветение обильное и продолжительное – 100–110 дней. Нуждаются в укрытии на зиму.

Alain, F. Meilland, 1948 (Guinee × Skyrocket × Orange Triumph). Цветки карминово-красные, яркие, 6–7 см в диаметре, махровые (23–29 лепестков), слабо душистые, в соцветиях по 5–10 цветков. Листья светлые, слегка глянцевые. Кусты высотой 70–80 см, прямые, густые. Цветение обильное.

Kordes Sondermeldung, Kordes, 1950 F²-Sämling von (Baby Chateau × Crimson Glory). Цветки оранжево-красные, 8–9 см в диаметре, чашевидной формы, махровые (до 25–30 лепестков), без аромата, в соцветии по 3–7 цветков, на прочных коротких побегах. Листья светлые, слегка глянцевые. Кусты высотой 60–70 см. Цветение обильное.

Красный Мак, З. К. Клименко, 1955 (Kordes Sondermeldung × Kirsten Poulsen). Цветки бархатистые, темно-красные, шаровидной формы, 6–7 см в диаметре, махровые (до 45 лепестков), в соцветии 1–3 цветка. Листья темно-зеленые, глянцевые. Кусты высотой до 1 м, побеги мощные. Цветение умеренное.

Lichterloh, Math. Tantau, 1955 (Red Favorite × New Dawn). Цветки красные, бархатистые, 7–8 см в диаметре, полумахровые (до 25 лепестков), слабо душистые, в соцветии по 9–15 цветков. Листья темно-зеленые, мелкие, кожистые, блестящие. Кусты высотой 60 см. Цветение обильное.

Highlight, Robinson, 1957 (Sämling × Kordes Sondermeldung). Цветки ярко-оранжево-красные, 5–6 см в диаметре, махровые (до 31 лепестка), душистые, по 1–8 цветков в соцветии. Листья овальные, кожистые, блестящие. Кусты 80–90 см высотой. Цветение обильное.

Centenaire de Lourdes, Delbard, 1958 (Frau Karl Druschki × ?). Цветки нежно-розовые, 8–9 см в диаметре, полумахровые (до 15–20 лепестков), душистые, по 5–10 цветков в соцветии. Листья округлые, темно-зеленые, кожистые, блестящие. Кусты сильные, раскидистые, высотой до 1 м. Цветение обильное.

Iceberg, R. Kordes, 1958 (Robin Hood × Virgo). Цветки белоснежные, 7–8 см в диаметре, махровые (до 25–30 лепестков), душистые, в соцветии по 3–8 цветков. Листья светло-зеленые, блестящие. Кусты высотой 65–80 см, густые, раскидистые. Цветение обильное.

Allotria, Math. Tantau, 1958 (Fanal × сеянец Cinnabar). Цветки оранжево-красные, с черноватым оттенком по краям лепестков, 6 см в диаметре, махровые (до 38 лепестков), в соцветии по 3–5 цветков, аромат слабый. Листья темно-зеленые, кожистые, молодые окрашены антоцианом. Кусты среднерослые. Цветение умеренное.

Gustav Frahm, Kordes, 1959 (Fanal × Ama). Цветки густо-карминово-красные, 7–8 см в диаметре, махровые (до 35 лепестков), душистые, в кистевидных соцветиях 3–16 цветков. Листья светлые, кожистые. Кусты до 1 м высотой, прямые, с прочными побегами. Цветение обильное.

Nordia, Poulsen, 1967 (Pinocchio × Pinocchio) × Elsinore. Цветки красные с алым оттенком, стойкие, чашевидные, 6–7 см в диаметре, махровые (до 35–40 лепестков), слабо душистые, одиночные и в небольших соцветиях. Листья темно-зеленые, кожистые, блестящие. Кусты высотой 50–65 см. Цветение умеренное.

Laminuette, Lammberts, 1969 (Gloria Dei × Rumba). Цветки бело-кремовые с красной каймой по краям лепестков, чашевидные, стойкие, 7–8 см в диаметре, махровые (до 40–50 лепестков), по 1–5 цветков в соцветии, со слабым тонким ароматом. Листья светло-зеленые, кожистые, блестящие. Кусты компактные, высотой 60–70 см. Цветение умеренное.

Памяти Хатыни, Л. П. Гусарова, 1970 (Baccara × Crimson Glory), селекция ЦБС. Цветки темно-красные, бархатистые, при отцветании выгорают, края лепестков опаленные. Махровые (до 20–25 лепестков), 6–8 см в диаметре, 1–10 цветков в соцветии, со слабым ароматом. Листья темно-зеленые, кожистые, блестящие, молодые окрашены антоцианом. Кусты 70–80 см высотой, прямые. Цветение обильное.

Полиантовые розы (Polyantha). Сорта этой оригинальной по обилию и стойкости цветения группы были получены во Франции в 1970-х годах от скрещивания многоцветковой и китайской роз. Окраска цветков у большинства сортов этой группы розовая, белая или красная. В основном цветки махровые, не ароматные, собраны в соцветия. Благодаря тому что цветки образуются как на побегах текущего года, так и на прошлогодних цветение этих роз очень обильное и продолжительное. На побегах этих сортов очень мало шипов, что выгодно отличает их от других.

Сорта этой группы отличаются высокой зимостойкостью, устойчивостью к неблагоприятным погодным условиям и болезням. Преимущества полиантовых роз – это высокая побегообразовательная способность, устойчивость к избытку влаги. Эти сорта практически не нуждаются в обрезке, что снижает затраты на их выращивание.

Denise Cassegrain, Grandes Roseaies, 1922. Цветки белые с кремовым оттенком, мелкие (2,5–3 см), слегка душистые, махровые (до 50 лепестков), собраны в соцветия по 10–25 цветков. Листья мелкие, темные, плотные. Кусты высотой 35–50 см. Цветение обильное.

Marysa, Brada, 1936. Цветки кремово-белые с розоватым оттенком, выгорают до белого, открытые, 3–4 см в диаметре, махровые (до 18–22 лепестков), ароматные, собраны в кистевидные соцветия по 15–20 цветков. Листья темные, глянцевые. Кусты высотой 1,2–1,5 м, раскидистые. Цветение обильное.

Border King, De Ruiter, 1952. Цветки от ярко-красных до оранжево-красных, с беловатыми пятнами в центре. Диаметр цветка 4–5 см, открытые, махровые (до 30 лепестков), собраны в крупные зонтиковидные соцветия по 5–25 цветков. Листья темно-зеленые, блестящие.

Плетистые мелкоцветковые розы (Rambler) – гибриды розы Вихуриана (*R. wichuriana*) и розы Мультифлора. Цветки обычно розовые, красные, лиловые, мелкие, различной махровости, слабо

душистые или без аромата, собраны в крупные метельчатые соцветия. Гибкие стелющиеся побеги развиваются из придаточных почек в основании стеблей. Цветение на побегах прошлого года до 33–37 дней, очень обильное, но однократное. Требуют укрытия на зиму для сохранения плетей текущего года.

Dorothy Perkins, Jackson-Perkins, 1901 (*R. wichuraiana* × Mme Gabriel Luizet). Цветки ярко-розовые, блюдцевидные, 3 см в диаметре, махровые (до 85–90 лепестков), слабо душистые. В соцветии по 30–40 цветков. Листья темно-зеленые, блестящие. Кусты до 4,5 м высотой, с тонкими гибкими побегами. Цветение обильное.

Excelsa, Walsh, 1909. Цветки красные, стойкие, 3–3,5 см в диаметре, махровые (до 70–75 лепестков), слабо душистые, в плотных соцветиях до 35 цветков. Листья светлые, блестящие. Кусты сильнорослые, до 4 м высотой, с тонкими стелющимися побегами. Цветение обильное.

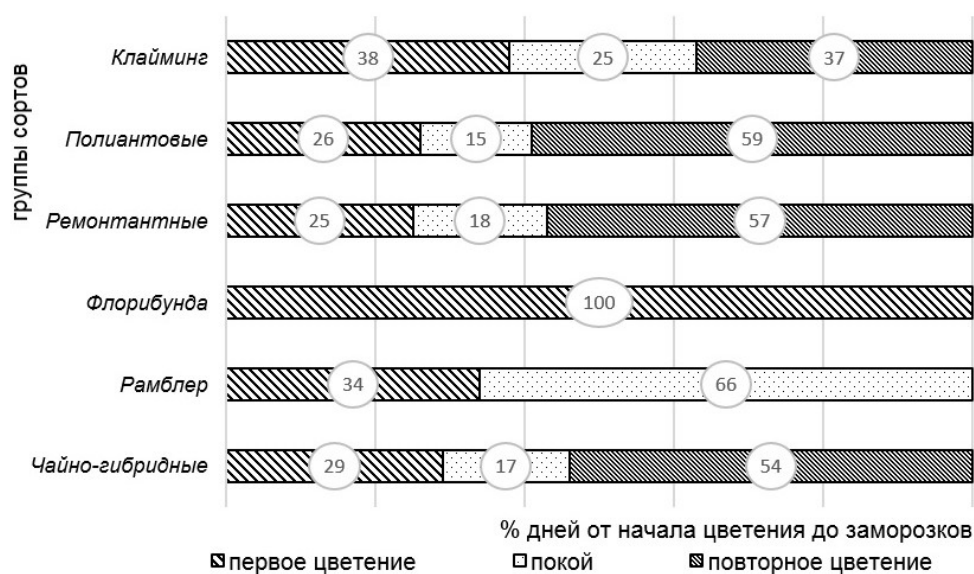
Плетистые крупноцветковые розы (*Large flowered Climber*) – мелкоцветковые плетистые с чайно-гибридными, ремонтантными, флорибунда и др. Цветки крупные, различной махровости, часто ароматные, собраны в рыхлые соцветия. Побеги сильные, прямостоячие. Цветение обильное, на ветках от 2 до 5 порядков базальных побегов. Каждый побег цветет в течение 3–4 лет. Требуют укрытия на зиму.

Glenn Dale, Van Fleet, 1927 (*R. wichuraiana* × Isabella Sprunt). Цветки от светло-лимонно-желтых до белых, чашевидной формы, 7–8 см в диаметре, махровые (до 35–40 лепестков), слабо душистые, в соцветии 1–3 цветка. Листья темные, кожистые, глянцевые. Кусты раскидистые, до 2,5 м высотой. Цветение обильное.

New Dawn, Somerset Nursery, 1930 (Sport von Dr. W. van Fleet). Цветки нежно-розовые, 6–7 см в диаметре, махровые (до 25–30 лепестков), душистые, соцветия по 5–17 цветков. Листья темные, блестящие. Кусты 1,5–2 м в высоту, с прочными побегами. Цветение обильное.

Flammentanz, Kordes, 1955 (*R. eglanteria* × *R. Kordesii*). Цветки красные, яркие, стойкие, 8 см в диаметре, махровые (до 30 лепестков), слабо душистые, в соцветиях по 3–16 цветков. Листья темно-зеленые, крупные, кожистые. Кусты высотой до 3 м. Цветение обильное.

В результате фенологических наблюдений установлено, что цветение исследованных сортов роз начинается в середине июня – начале июля. За исключением сортов группы *Rambler*, все сорта характеризуются повторным цветением, украшая сад более 3 мес. – с середины июня до октября. Наиболее продолжительное цветение (до заморозков) отмечено у сортов роз чайно-гибридных и флорибунда.



Длительность цветения и покоя роз в период с июня по октябрь

Duration of flowering and dormancy of roses from June to October

**Оценка декоративности роз и их устойчивости к болезням (5-балльная шкала),
и зимостойкости (7-балльная шкала)**

**Evaluation of the decorativeness of roses and their resistance to diseases (5-point scale),
and winter hardiness (7-point scale)**

Сорт	Декоративность		Зимостойкость	Устойчивость к болезням
	Цветки и соцветия	Листья		
Elisabeth Vigneron	5	5	2	4
Souvenir de Ducher	5	4	2	3
Georg Arends	5	4	3	3
Joanna Hill	5	5	1	5
Gloria Dei	5	5	2	5
Rose Gaujard	5	5	2	5
Dame de Coeur	5	5	2	5
Carina	5	4	2	5
Mister Lincoln	5	5	2	5
Alain	5	4	1	4
Kordes Sondermeldung	4	4	2	5
Красный Мак	4	5	2	5
Lichterloh	5	5	3	4
Highlight	5	5	2	5
Centenaire de Lourdes	5	5	2	5
Iceberg	5	5	2	5
Allotria	4	5	2	5
Gustav Frahm	5	5	2	5
Nordia	4	5	2	5
Laminuette	4	4	3	4
Памяти Хатыни	5	5	2	5
Denise Cassegrain	5	4	1	5
Marysa	4	4	1	4
Border King	5	4	2	5
Dorothy Perkins	4	4	1	5
Excelsa	4	5	1	5
Glenn Dale	4	5	2	5
New Dawn	5	4	2	4
Flammentanz	5	5	2	5

Согласно таблице, все исследованные сорта высокодекоративны (4–5 баллов). Несмотря на свой «почтенный» возраст, по многим показателям они не уступают современным сортам. Так, сорт *Gustav Frahm* наделен крупными соцветиями (3–16 цветков), а сорт *Красный Мак* отличается наличием темно-зеленой, крупной, глянцевой листвы.

Перспективность роз для выращивания в Беларуси определяется с учетом их зимостойкости. Анализ литературы показал, что родительские сорта исследованных роз отличаются высокой зимостойкостью. Поэтому полученные с их участием сорта также достаточно зимостойки в нашем климате [6]. Данные таблицы показывают, что все исследованные сорта, за исключением трех, зимостойки.

Одним из факторов, определяющих успех культивирования роз, является их устойчивость к поражению болезнями. Среди исследованных сортов наименее устойчивы к болезням ремонтантные розы. Они ежегодно в той или иной степени поражаются ржавчиной (*Souvenir de Ducher*) или мучнистой росой (*Georg Arends*). При соблюдении агротехники выращивания остальные сорта достаточно устойчивы к болезням.

Заклучение. Таким образом, исторические сорта роз, сохраняемые в коллекции роз ЦБС НАН Беларуси более 50–70 лет, не только высокодекоративны, но и устойчивы в местных условиях. Большая часть их рекомендуется нами для выращивания в городских цветниках. Современный ландшафтный дизайн требует обновления ассортимента растений, особенно в городах. Исторические сорта роз станут новым элементом городских цветников, внесут в эстетику современных ландшафтных композиций колорит прошлых веков как за счет разнообразия форм, так и благодаря чудесному аромату.

Отметим, что исследованные сорта в наше время практически выведены из коммерческого оборота и сохранились в немногих коллекциях. Они представляют особую ценность как исторические раритеты, отражающие этапы селекции роз, а также являются ценным генофондом для селекционных работ.

Список использованных источников

1. Титок, В. В. Центральный ботанический сад НАН Беларуси: сохранение, изучение и использование биоразнообразия мировой флоры / В. В. Титок, И. К. Володько, Н. М. Лунина ; под ред. В. В. Титка, В. Н. Решетникова. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 345 с.
2. Гусарова, Л. П. Розы в Минске / Л. П. Гусарова. – Минск : Урожай, 1967. – 12 с.
3. Красивоцветущие кустарники для садов и парков / А. А. Чаховский [и др.]. – Минск : Ураджай, 1988. – 144 с.
4. Бейдеман, И. Н. Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ / И. Н. Бейдеман. – Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1974. – 155 с.
5. Федоров, А. А. Атлас по описательной морфологии высших растений / А. А. Федоров, М. Э. Кирпичников, З. Т. Артюшенко ; под общ. ред. чл.-кор. АН СССР П. А. Баранова. – М.–Л. : Изд-во АН СССР, 1962. – Т. 2 : Стебель и корень. – 352 с.
6. Былов, В. Н. Розы. Итоги интродукции / В. Н. Былов, Н. Л. Михайлов, Е. И. Сурина. – М. : Наука, 1988. – 431 с.
7. Лапин, П. И. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений / П. И. Лапин, С. В. Сиднева // Опыт интродукции древесных растений : сб. науч. тр. / под ред. П. И. Лапина. – М., 1973. – С. 7–67.
8. Старые садовые розы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.veter-stranstvii.ru/vso-o-rozax/147-stat-o-roza/737-starinnie-rozi.html>. – Дата доступа: 22.01.2022 .

References

1. Titok V. V., Volod'ko I. K., Lunina N. M. *Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus: conservation, study and use of the biodiversity of the world flora*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 345 p. (in Russian).
2. Gusarova L. P. *Roses in Minsk*. Minsk, Urozhai Publ., 1967. 12 p. (in Russian).
3. Chakhovskii A. A., Burova E. A., Orlenok E. I., Gusarova L. P. *Beautiful flowering shrubs for gardens and parks*. Minsk, Urozhai Publ., 1988. 144 p. (in Russian).
4. Beideman I. N. *Methods for studying the phenology of plants and plant communities*. Novosibirsk, Nauka (Sibirskoe otделение) Publ., 1974. 155 p. (in Russian).
5. Fedorov A. A., Kirpichnikov M. E., Artyushenko Z. T. *Atlas of descriptive morphology of higher plants. Vol. 2. Stem and root* Moscow–Leningrad, Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 1962. 352 p. (in Russian).
6. Bylov V. N., Mikhailov N. L., Surina E. I. *Roses. Results of the introduction*. Moscow, Nauka Publ., 1988. 431 p. (in Russian).
7. Lapin P. I., Sidneva S. V. Evaluation of the prospects for the introduction of woody plants according to visual observations. *The experience of the introduction of woody plants: a collection of scientific papers*. Moscow, 1973, pp. 7–67 (in Russian).
8. *Old garden roses*. Available at: <http://www.veter-stranstvii.ru/vso-o-rozax/147-stat-o-roza/737-starinnie-rozi.html> (accessed 22.01.2022) (in Russian).

Информация об авторе

Никонович Татьяна Ивановна – агроном. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rosanika79@mail.ru

Information about the author

Tatsiana I. Nikanovich – agronomist. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rosanika79@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 632.754.1:633.853.494

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-413-418>

Поступила в редакцию 02.08.2022

Received 02.08.2022

Лянь Уян

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

ВИДОВОЙ СОСТАВ КЛОПОВ (HETEROPTERA) НА ПОЛЯХ РАПСА В МИНСКОМ РАЙОНЕ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Изучен видовой состав клопов на полях озимого и ярового рапса в Минском районе Беларуси. Проведено сравнение видового состава клопов в разные сезоны на полях озимого рапса, определены доминирующие виды и семейства клопов на полях озимого и ярового рапса.

Установлено, что на полях озимого рапса количество видов и особей клопов летом больше, чем весной. На полях озимого рапса выявлен 41 вид, относящийся к 11 семействам. Среди зоофагов отмечены представители 9 видов, их обилие составляет 23,42 %. Количество собранных личинок – 20,25 % от общего числа особей, из них 14,24 % личинок относятся к сем. Miridae. Личинки появляются на полях с наступлением лета. Доминирующим видом является *Lygus rugulipennis* – 30,7 %. На полях выявлены представители 16 видов из 7 семейств клопов, доминирует сем. Miridae – 78,23 %. Среди зоофагов отмечены представители 5 видов, их обилие составляет 8,84 %. Количество собранных за этот период личинок превысило количество взрослых особей в 1,4 раза. Сем. Cymidae было обнаружено только на поле № 3 озимого рапса, сем. Rhopalidae – на поле ярового рапса в 2016 г.

Ключевые слова: клопы, озимый рапс, яровой рапс, семейство, видовой состав клопов на полях рапса в разные сезоны

Для цитирования: Лянь, Уян. Видовой состав клопов (Heteroptera) на полях рапса в Минском районе Беларуси / Лянь Уян // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 413–418. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-413-418>

Lian Wuyang

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

SPECIES COMPOSITION OF BEDBUGS (HETEROPTERA) IN THE RAPESEED FIELDS IN THE MINSK REGION OF BELARUS

Abstract. The article discusses the species composition of Heteroptera in the fields of winter and spring rapeseed in the Minsk region of Belarus. A comparison of the species composition of Heteroptera in different seasons in the fields of winter rape was carried out, the dominant species and families of Heteroptera in the fields of winter and spring rape were identified.

On the fields of winter rapeseed in summer, the number of species and individuals of Heteroptera is greater than in spring. 41 species were found in the fields of winter rapeseed, they belong to 11 families. Representatives of 9 species were noted among carnivores; their abundance is 23.42 %. The number of collected larvae was 20.25 % of the total number of individuals, of which 14.24 % of larvae belong to the family Miridae. The larvae appear in the fields with the onset of summer. The dominant species is *Lygus rugulipennis* – 30.7 %. Representatives of 16 species from 7 families of Heteroptera were found in the fields, with the dominant family Miridae – 78.23 %. Representatives of 5 species were noted among carnivores; their abundance is 8.84 %. The number of larvae collected during this period exceeded adults by 1.4 times. The Cymidae family was found only in field No. 3 of winter rape, Rhopalidae was found in the field of spring rape in 2016.

Keywords: bugs, winter rape, spring rape, family, species composition of Heteroptera in different seasons in the fields of rape

For citation: Lian Wuyang. Species composition of bedbugs (Heteroptera) in the rapeseed fields in the Minsk region of Belarus. *Vesti Natsyional'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 413-18 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-413-418>

Введение. Биоразнообразие насекомых и их уникальные биологические особенности делают их ценными объектами для оценки, мониторинга и управления биоразнообразием в природных экосистемах. Клопы представляют собой самую большую и разнообразную группу насекомых с усложненными метаморфозами [1] и относятся к одному из трех подотрядов насекомых отряда Полужесткокрылые. Почти 60 % видов клопов питаются растениями, и некоторые из них

неизбежно становятся вредителями сельскохозяйственных культур. Остальные 40 % видов являются хищниками, питающимися вредителями и другими насекомыми [2, 3].

В зависимости от среды обитания их делят на три категории: наземные, полуводные и водные. Большинство наземных видов (*Coreidae*, *Tingidae* и *Miridae*) живут на растениях. Некоторые виды, например сем. *Lygaeidae*, обитают в листовых влагищах злаков, многие виды живут на поверхности, например виды сем. *Rhyarochromidae*. Есть много видов, которые ползают по поверхности и питаются опавшими семенами. Клопы сем. *Cydnidae* прячутся под комьями и высасывают сок из корней растений. Ущерб, наносимый клопами-фитофагами сельскохозяйственным культурам, аналогичен вредоносному воздействию равнокрылых, которые в основном добывают питательные вещества, высасывая соки из растений (особенно из цветов, плодов и семян), что вызывает атрофию тканей, некроз и т. д. Неотъемлемыми компонентами среды обитания сельхозугодий являются не только клопы-фитофаги, но и хищные клопы. Например, имаго особи сем. *Anthocoridae* живут на растениях и охотятся на тлей, трипсов, клещей, клопов-паразитов, мелких личинок чешуекрылых и др. [2].

Изучение популяционной структуры сообщества клопов на посевах рапса проводится в целях обеспечения и осуществления экологического контроля вредителей. Такие исследования имеют важное научное и теоретическое значение для выращивания ценных сельскохозяйственных культур.

Цель данной работы – изучение видового разнообразия и динамики сезонной активности клопов на посевах рапса в Минском районе Беларуси.

Материалы и методы исследования. Динамику активности клопов изучали в агроценозах озимого и ярового рапса. Исследование проводили в период с 2016 по 2018 г. на опытных полях РУП «Институт защиты растений» (Минский район, г. п. Прилуки). Клопы были собраны на пяти полях озимого рапса (поля № 3, № 9 и «Колхозное» в 2016 г., по одному полю в 2017 и 2018 гг.) и на трех полях ярового рапса (с 2016 по 2018 г.). В 2016 г. для сбора были отобраны три поля озимого рапса с различным физико-химическим составом почв: содержание фосфора на поле № 3 составило 340–350 мг/кг, калия – 310–320 мг/кг (рН 6,4), на поле № 9 – 334 и 322 мг/кг (рН 5,1), на поле «Колхозное» – 120–140 и 140–150 мг/кг (рН 6,50) соответственно. Ловушками служили банки с диаметром отверстия 70 мм, на 1/3 заполненные 4 %-ным формалином. Клопов собирали с помощью почвенных ловушек Барбера.

Результаты и их обсуждение. На поле № 3 выявлено 13 видов из 9 семейств. В весенний период выявлены представители 7 родов клопов: *Cymus*, *Neides*, *Orius*, *Holcostethus*, *Peritrechus*, *Stenodema* (по 11,11 %) и *Lygus* (33,33 %), в летний период обнаружены *Anthocoris*, *Chlamydatus* (по 5,88 %), *Lygus*, *Nabis* и *Saldula* (по 11,76 %), *Scolopostethus* (17,65 %) и *Nysius* (29,41 %).

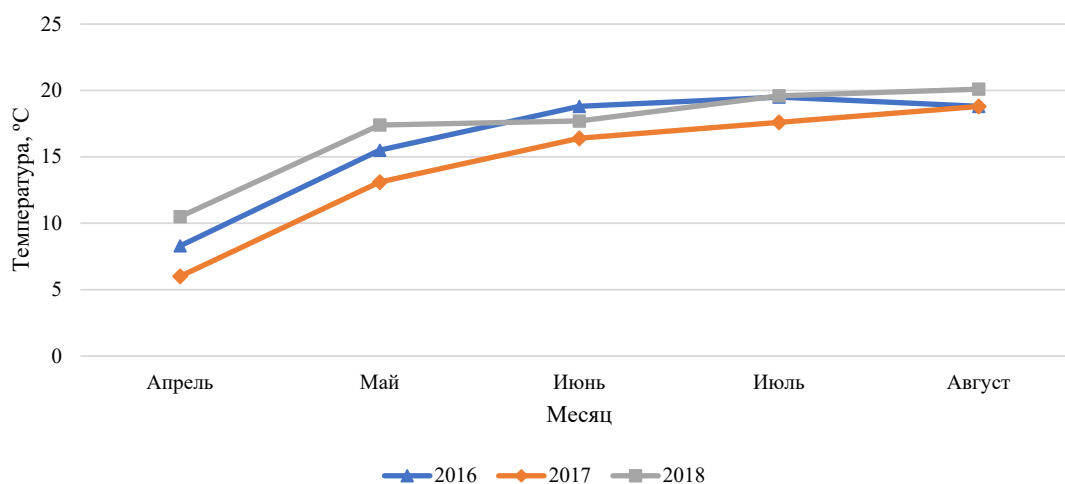


Рис. 1. Среднемесячная температура с апреля по август (2016–2018 г.)

Fig. 1. Average monthly temperature from April to August (2016–2018)



Рис. 2. Места сбора материала на рапсовых полях в г. п. Прилуки. Поля озимого рапса: 1 – № 9; 2 – «Колхозное»; 3 – № 3; 4 – 2017 г.; 5 – 2018 г. Поля ярового рапса: 6 – 2016 г.; 7 – 2017 г.; 8 – 2018 г.

Fig. 2. Collection sites in rapeseed fields in Pryluky. Fields of winter rapeseed: 1 – No. 9; 2 – Kolkhozhnoye; 3 – No. 3; 4 – 2017; 5 – 2018. Fields of spring rapeseed: 6 – 2016; 7 – 2017; 8 – 2018

На поле № 9 выявлено 15 видов из 8 семейств. В весенний период обнаружены представители 9 родов клопов: *Anthocoris*, *Eurydema*, *Liocoris*, *Nabis*, *Neolygus*, *Orius*, *Scolopostethus* (по 2,78 %), *Piesma* (5,55 %) и *Lygus* (72,22 %). По сравнению с полем № 3 на поле № 9 весной были обнаружены личинки в единственном экземпляре. В летний период выявлены *Liocoris*, *Nabis*, *Orius* и *Trapezonotus* (по 1,61 %), *Saldula* (4,84 %), *Scolopostethus* (6,45 %), *Lygus* (9,68 %) и *Nysius* (14,52 %). Летом количество личинок из 4 семейств составляло 58,06 % общего числа особей, из них: *Pentatomoidea* sp. – 1,61 %, *Nabidae* sp. – 11,29, *Lygaeidae* sp. – 16,13, *Miridae* sp. – 29,03 %.

На поле «Колхозное» выявлено 10 видов из 10 семейств. В весенний период обнаружены представители 7 родов клопов: *Chlamydatus*, *Piesma*, *Piezodorus*, *Saldula* и *Troilus* (по 6,25 %), *Drymus* (12,5 %) и *Lygus* (56,25 %). В летний период обнаружены *Aelia*, *Chlamydatus*, *Derephysia*, *Nysius* и *Piesma* (по 11,11 %), личинки *Miridae* sp. (33,33 %) и *Nabidae* sp. (11,11 % от общего числа особей, собранных летом). На двух других полях вид *Lygus rugulipennis* был доминирующим независимо от сезона сбора (весны или лета), но летом на поле № 9 он не встречался.

По результатам проведенных в 2016 г. в агроценозах озимого рапса исследований выявлены представители 23 родов клопов. В весенний период обнаружены представители 9 семейств клопов: Anthocoridae, Berytidae, Cymidae, Miridae, Nabidae, Pentatomidae, Piesmatidae, Rhyparochromidae и Saldidae, в летний период – представители 9 семейств клопов: Anthocoridae, Lygaeidae, Miridae, Nabidae, Pentatomidae, Piesmatidae, Rhyparochromidae, Saldidae, Tingidae. Анализ сообщества клопов показал, что по сравнению с весенним в летний период исчезли представители двух семейств – Berytidae и Cymidae и выявлен представитель одного семейства – Tingidae. Из этих 11 семейств (26 видов) 3 являются хищными – Anthocoridae, Nabidae и Saldidae, а число фитофагов в 5,5 раза превышает число зоофагов. Сем. Miridae представлено 6 видами, которые составляли 51 % (из них личинки – 15,44 %). Далее следует сем. Lygaeidae, на долю которого приходится 16,78 %. Доминантами являются *Lygus rugulipennis* – 28,19 %, *Nysius ericae* – 10,07 %.

В 2017 г. на поле озимого рапса в весенний период обнаружены представители 4 родов клопов: *Berytinus*, *Kleidocerys*, *Liocoris* (по 14,29 %), *Lygus* (57,14 %). Видовое богатство клопов в летний период представлено *Dolycoris*, *Kleidocerys* и *Scolopostethus* (по 3,33 %), *Nysius* и *Saldula* (по 6,67 %), *Megalonotus* (13,33 %), *Drymus* (16,67 %), *Lygus* (40 %). Личинки *Miridae* sp. составили 6,67 % от общего числа особей, собранных летом.

По сравнению с 2016 г. в 2017 г. на поле озимого рапса обнаружены представители новых четырех родов клопов: *Berytinus*, *Dolycoris*, *Kleidocerys*, *Megalonotus*. Доля Lygaeidae в 2017 г. уменьшилась на 6 %. Но появилось новое доминирующее семейство – Rhyparochromidae (27,03 %).

В 2017 г. на поле озимого рапса зарегистрировано 14 видов, принадлежащих к 6 семействам. Среди выявленных видов доминирующее положение занимают *Drymus ryei* (10,81 %) и *Lygus rugulipennis* (40,54 %). В весенний период обнаружены представители 3 семейств клопов: Berytidae, Lygaeidae, Miridae, в летний период – представители 5 семейств клопов: Lygaeidae, Miridae, Pentatomidae, Rhyparochromidae и Saldidae. Следует отметить, что в апреле–мае встречаются папочковиды коленчатоусые (Berytidae) – *Berytinus hirticornis* (2,7 %), в июне–августе – настоящие щитники (*Dolycoris baccarum* – 2,7 %), в мае–июне – земляные клопы *Kleidocerys resedae* (5,41 %) и клопы сем. Rhyparochromidae (10,81 %) – *Megalonotus antennatus*, *Megalonotus chiragra*, *Megalonotus emarginatus*.

В 2018 г. на полях озимого рапса в весенний период обнаружены представители 10 родов клопов: *Anthocoris*, *Berytinus*, *Eurydema*, *Piesma*, *Pinalitus*, *Rhabdomiris* и *Raglius* (по 1,56 %), *Nabis* (4,69 %), *Saldula* (25 %), *Lygus* (59,37 %). Видовое богатство клопов в летний период представлено *Berytinus*, *Derephysia*, *Nysius*, *Monosynamma*, *Plesiodema* и *Rhabdomiris* (по 1,51 %), *Chlamydatus* (7,58 %), *Lygus* (9,09 %) и *Saldula* (43,94 %). Личинки *Miridae* sp. составили 30,3 % от общего числа особей, собранных летом.

Видовой состав и структура клопов (Heteroptera) в агроценозах озимого рапса

Species composition and structure of Heteroptera in agrocnoses of winter rapeseed

Семейство	Вид	Агроценозы озимого рапса				
		2016 г.			2017 г.	2018 г.
		№ 3	№ 9	«Колхозное»		
Anthocoridae	<i>Anthocoris nemorum</i> Linnaeus, 1761	+	+			+
	<i>Orius majusculus</i> Reuter, 1879	+	+			
	<i>Orius vicinus</i> Ribaut, 1923		+			
Berytidae	<i>Berytinus hirticornis</i> Brulle, 1836				+	+
	<i>Neides tipularius</i> Linnaeus, 1758	+				
Cymidae	<i>Cymus melanocephalus</i> Fieber, 1861	+				
Lygaeidae	<i>Nysius ericae</i> Schilling, 1829	+	+	+	+	+
	<i>Kleidocerys resedae</i> Panzer, 1797				+	
Miridae	<i>Chlamydatus pullus</i> Reuter, 1870	+		+		+
	<i>Liocoris tripustulatus</i> Fabricius, 1781		+		+	
	<i>Lygus pratensis</i> Linnaeus, 1758		+		+	+
	<i>Lygus rugulipennis</i> Poppius, 1911	+	+	+	+	+
	<i>Monosynamma sabulicola</i> Wagner, 1947					+
	<i>Neolygus populi</i> Leston, 1957		+			
	<i>Pinalitus cervinus</i> Herrich-Schäffer, 1841					+
	<i>Plesiodema pinetella</i> Zetterstedt, 1828					+
	<i>Rhabdomiris striatellus</i> Fabricius, 1794					+
	<i>Stenodema calcarata</i> Fallen, 1807	+				
Nabidae	<i>Nabis fesus</i> Linnaeus, 1758	+	+			+
	<i>Nabis limbatus</i> Dahlbom, 1851		+			
Pentatomidae	<i>Aelia acuminata</i> Linnaeus, 1758			+		
	<i>Eurydema oleracea</i> Linnaeus, 1758		+			+
	<i>Dolycoris baccarum</i> Linnaeus, 1758				+	
	<i>Holcostethus strictus</i> Fabricius, 1803	+				
	<i>Piezodorus lituratus</i> Fabricius, 1794			+		
	<i>Troilus luridus</i> Fabricius, 1775			+		

Окончание таблицы

Семейство	Вид	Агроценозы озимого рапса				
		2016 г.			2017 г.	2018 г.
		№ 3	№ 9	«Колхозное»		
Piesmatidae	<i>Piesma maculatum</i> Laporte, 1833		+	+		+
Rhyarochromidae	<i>Drymus ryei</i> Douglas & Scott, 1865				+	
	<i>Drymus sylvaticus</i> Fabricius, 1775			+	+	
	<i>Megalonotus antennatus</i> Schilling, 1829				+	
	<i>Megalonotus chiragra</i> Fabricius, 1794				+	
	<i>Megalonotus emarginatus</i> Rey & C., 1888				+	
	<i>Peritrechus nubilus</i> Fallen, 1807	+				
	<i>Raglius vulgaris</i> Schilling, 1829					+
	<i>Scolopostethus affinis</i> Schilling, 1829	+	+		+	
	<i>Trapezonotus ullrichi</i> Fieber, 1837		+			
Saldidae	<i>Saldula orthochila</i> Fieber, 1859					+
	<i>Sadula pallipes</i> Fabricius, 1794					+
	<i>Saldula palustris</i> Douglas, 1874	+	+	+		+
	<i>Saldula saltatoria</i> Linnaeus, 1758				+	+
Tingidae	<i>Derephysia foliacea</i> Fallen, 1807			+		+

Примечание. «+» – наличие.

В 2018 г. на опытном поле выявлены представители 19 видов, относящиеся к 10 семействам. На полях озимого рапса обнаружены представители новых 5 родов клопов: *Monosynamma*, *Pinalitus*, *Plesiodema*, *Rhabdomiris*, *Raglius*. Доля личинок *Miridae* sp. увеличилась на 10 % по сравнению с предыдущим годом (5,41 %).

Среди видов доминируют *Saldula palustris* (11,54 %) и *S. saltatoria* (16,92 %). *L. rugulipennis* по-прежнему является доминирующим видом в этом году, и его доминирующая доля снизилась на 10 % по сравнению с предыдущим годом (40,54 %). Анализ сообщества клопов показал, что по сравнению с весенним в летний период исчезли представители 5 семейств – Anthocoridae, Nabidae, Pentatomidae, Piesmatidae, Rhyarochromidae и выявлены 2 новых семейства – Lygaeidae, Tingidae.

Таким образом, количество видов и особей клопов на полях озимого рапса летом больше, чем весной. На полях озимого рапса выявлен 41 вид, который относится к 11 семействам. Среди зоофагов отмечены представители 9 видов, их обилие – 23,42 %. Количество собранных личинок составляет 20,25 % от общего числа особей, из них 14,24 % личинок относятся к сем. *Miridae*.

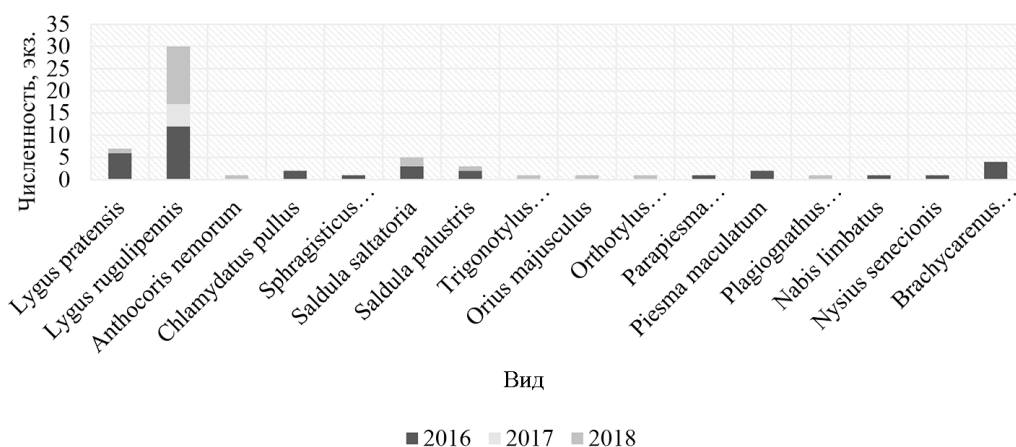


Рис. 3. Видовой состав клопов на посевах ярового рапса

Fig. 3. Species composition of bedbugs on spring rapeseed crops

Личинки появляются на полях с наступлением лета. Доминирующим видом является *Lygus rugulipennis* (30,7 %).

В 2016 г. на поле ярового рапса обнаружены представители 11 видов клопов, которые принадлежат к 7 семействам: Nabidae и Rhyparochromidae (по 1,10 %), Piesmatidae (3,30 %), Lygaeidae и Rhopalidae (по 4,40 %), Saldidae (5,49 %), доминирует семейство Miridae (80,22 %). Количество собранных за этот период личинок превысило количество взрослых особей в 1,6 раза.

Видовое богатство клопов в 2018 г. на поле ярового рапса представлено 9 видами, относящимися к 4 семействам: Anthocoridae и Pentatomoidea (по 4,76 %), Saldidae (7,14 %) и доминирующему семейству Miridae (83,33 %). Количество личинок, собранных за этот период (июнь–июль), было сопоставимо с количеством имаго.

По сравнению с 2016 и 2018 гг. в 2017 г. на поле ярового рапса был собран только один вид – *Lygus rugulipennis*.

В результате изучения популяции клопов в агроценозе ярового рапса обнаружены представители 14 родов клопов. Видовое богатство клопов на опытных полях представлено *Anthocoris*, *Nabis*, *Nysius*, *Orius*, *Orthotylus*, *Parapiesma*, *Plagiognathus*, *Sphragisticus*, *Trigonotylus* (по 0,68 %), *Piesma* и *Chlamydatus* (1,36 %), *Brachycarenum* (2,72 %), *Saldula* (5,44 %), *Lygus* (25,17 %). Всего за 3 года было собрано 4 семейства личинок, что составило 57,82 % от общего числа особей, из них: Miridae – 53,06 %, Lygaeidae – 2,04, Nabidae и Pentatomoidea – по 1,36 %. На полях выявлены представители 16 видов из 7 семейств клопов: Rhyparochromidae (0,68 %), Anthocoridae и Pentatomoidea (по 1,36 %), Nabidae и Piesmatidae (по 2,04 %), Lygaeidae и Rhopalidae (2,72 %), Saldidae (5,44 %), доминировало семейство Miridae (78,23 %). Среди зоофагов отмечены представители 5 видов, их обилие составляло 8,84 %. Количество собранных за этот период личинок превысило количество взрослых особей в 1,4 раза. Среди взрослых особей доминирующим видом был *Lygus rugulipennis* – 20,41 % от общего числа особей.

Заключение. На рапсовых полях выявлено 48 видов из 12 семейств. Среди зоофагов отмечены представители 9 видов, их обилие составило 18,79 %. Весной на полях озимого рапса личинки почти не встречаются. На полях ярового рапса количество особей личинок превышает количество имаго. Число особей и видов зоофагов значительно меньше, чем число фитофагов. Основными факторами, обуславливающими различие видового состава на полях, являются разный химический состав почвы и климат, а также соотношение имаго/личинок клопов. На полях озимого или ярового рапса среди собранных клопов сем. Miridae имеет наибольшую численность и самое высокое видовое богатство. Сем. Cymidae обнаружено только на поле № 3 озимого рапса, сем. Rhopalidae – на поле ярового рапса в 2016 г. Все 3 года на полях озимого и ярового рапса доминировал *Lygus rugulipennis*.

Список использованных источников

1. Insect Biodiversity: Science and Society / eds. : R. G. Foottit, P. H. Adler. – 2nd ed. – Vol. 1. – [S. l.] : Wiley-Blackwell, 2017. – 912 p.
2. Heteroptera of Economic Importance / eds. : C. W. Schaefer, A. R. Panizzi. – Boca Raton : CRC Press, 2000. – 828 p.
3. Старостин, А. А. Хищные клопы (Heteroptera) промышленных яблоневых садов Центральной Черноземной зоны : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.09 / А. А. Старостин. – СПб., 2003. – 260 с.

References

1. Foottit R. G., Adler P. H. (eds.). *Insect Biodiversity: Science and Society. Vol. 1. 2nd ed.* Wiley-Blackwell, 2017. 912 p.
2. Schaefer C. W., Panizzi A. R. (eds.). *Heteroptera of Economic Importance.* Boca Raton, CRC Press, 2000. 828 p.
3. Starostin A. A. *Predatory bugs (Heteroptera) of industrial apple orchards of the Central Chernozem zone.* Ph. D. Thesis. St. Petersburg, 2003. 260 p. (in Russian).

Информация об авторе

Лянь Уян – аспирант. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: 1053776457@qq.com

Information about the author

Lian Wuyang – Postgraduate student. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 1053776457@qq.com

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

АГЛЯДЫ REVIEWS

УДК 577.3; 620.3:615.473.92

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-419-425>

Поступила в редакцию 02.03.2022

Received 02.03.2022

А. И. Становая¹, В. М. Абашкин¹, А. В. Вчерашняя¹, М. М. Терехова¹, В. А. Жогла¹,
И. В. Галец-Буй¹, С. С. Живицкая², Д. Г. Щербин¹

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

²Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

ТОКСИЧНОСТЬ ПОЛИАМИДОАМИННЫХ ДЕНДРИМЕРОВ *IN VIVO*

Аннотация. Одной из важных задач современной медицины является создание эффективных средств доставки лекарственных препаратов различной природы. При разработке таких систем в первую очередь возникает проблема токсичности для организма человека используемых соединений и структур.

В данном обзоре проанализирована литература, в которой охарактеризована токсичность полиамидоаминовых (ПАММ) дендримеров *in vivo*. Результаты исследований показывают, что токсичность ПАММ дендримеров зависит от их физических параметров (размера, генерации, поверхностного заряда), используемой дозы и способа введения. Показано, что катионные ПАММ дендримеры малых и средних генераций нетоксичны *in vivo* при внутривенном и внутрибрюшинном введении мышам в дозах до 10 мг/кг. В свою очередь анионные, нейтральные и модифицированные ПАММ дендримеры не проявляют токсичности независимо от способа введения. Таким образом, варьируя способы введения, величину дозы, осуществляя модификации поверхности дендримеров, можно достичь снижения токсичности и с успехом применять их в качестве носителей лекарственных препаратов.

Ключевые слова: наноматериалы, ПАММ дендримеры, поверхностный заряд, токсичность *in vivo*, мыши, крысы

Для цитирования: Токсичность полиамидоаминовых дендримеров *in vivo* / А. И. Становая [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 419–425. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-419-425>

Alesia I. Stanavaya¹, Viktor M. Abashkin¹, Aliaksandra V. Vcherashniaya¹, Maria M. Terehova¹,
Victoriya A. Zhogla¹, Inessa V. Halets-Bui¹, Slaviana S. Zhyvitskaya², Dzmitry G. Shcharbin¹

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

²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

TOXICITY OF POLYAMIDOAMINE DENDRIMERS *IN VIVO*

Abstract. The development of effective drug delivery systems is a crucial task for modern medicine. The main problem is the occurrence of non-specific toxicity leading to undesirable side effects *in vivo*.

This article aims at reviewing recent research on the toxicity of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers *in vivo*. The research results show that the toxicity of PAMAM dendrimers and modified nanoparticles depends both on the characteristics of the particles themselves (size, generation and surface charge) and on the administration parameters. It has been shown that cationic PAMAM dendrimers of small and medium generations are non-toxic *in vivo* when administered intravenously and intraperitoneally to mice at doses up to 10 mg/kg. In turn, anionic, neutral, and modified PAMAM dendrimers do not exhibit toxicity, regardless of the route of administration. Thus, by varying methods of administration, the dose, and modifying the surface of dendrimers, the decrease in toxicity can be achieved, promising a path towards their successful application as drug carriers.

Keywords: nanomaterials, PAMAM dendrimers, surface charge, *in vivo* toxicity, mice, rats

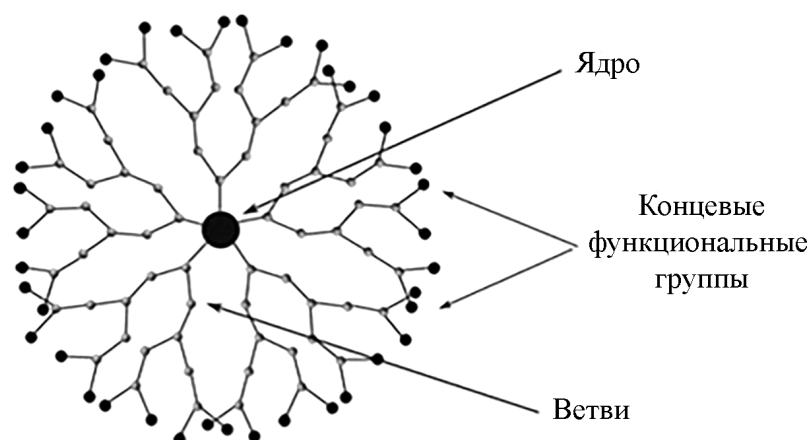
For citation: Stanavaya A. I., Abashkin V. M., Vcherashniaya A. V., Terehova M. M., Zhogla V. A., Halets-Bui I. V., Zhyvitskaya S. S., Shcharbin D. G. Toxicity of polyamidoamine dendrimers *in vivo*. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 419–425 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-419-425>

Введение. Дендримеры представляют собой наноразмерные синтетические полимеры с гиперразветвленной структурой (см. рисунок). Все дендримеры имеют схожее строение: состоят из центрального ядра и двух или более ветвей, длина которых зависит от генерации дендримера. Количество поверхностных участков на каждой ветви удваивается с каждой генерацией. В отличие от традиционных полимеров синтез дендримеров обеспечивает возможность получения монодисперсных, структурно-контролируемых макромолекулярных архитектур, подобных наблюдаемым в биологических системах, что и позволило выделить дендримеры в принципиально новый класс нанотехнологических полимеров [1].

Полиамидоаминные (ПАМАМ) дендримеры были синтезированы в середине 1980-х годов и стали первыми представителями полимеров данного класса. Благодаря простоте синтеза, характерным свойствам и коммерческой доступности ПАМАМ дендримеры нашли свое применение в биологии и медицине в качестве невирусных векторов для генетической терапии, средств доставки некоторых гидрофобных лекарственных препаратов, противовоспалительных, противовирусных агентов, антиоксидантов [1].

В настоящее время широко распространена модификация поверхности дендримеров катионными, анионными или нейтральными группами для специфического связывания тех или иных веществ, поэтому принято различать катионные, анионные и нейтральные дендримеры. Наличие той или иной группы может существенно менять их взаимодействие с биологическими структурами и определять их токсичность для организма. В связи с этим активно проводятся исследования катионных, анионных и нейтральных дендримеров *in vivo* с целью оценки их биораспределения в органах и тканях и токсичности (летальности и/или развития побочных эффектов у животных) [1–4].

Катионные ПАМАМ дендримеры. Впервые оценка биологических эффектов ПАМАМ дендримеров *in vivo* была проведена Roberts с соавт. в 1996 г. [2] В работе исследованы токсичность, иммуногенность и биораспределение катионных ПАМАМ дендримеров трех генераций, меченных изотопом ^{14}C (Г3 – 24 концевые аминные группы, Г5 – 96, Г7 – 384), на мышах. Показано, что при внутрибрюшинном введении мышам ПАМАМ дендримеры исследуемых генераций в низких концентрациях накапливаются в легких и сердце, в умеренных – в печени, селезенке и почках, в высоких – в поджелудочной железе. Наибольшее накопление Г3 наблюдалось в почках: ~16 % введенной дозы на 1 г (ID/г) через 48 ч. Г5 и Г7 преимущественно локализовались в поджелудочной железе (максимальные концентрации ~32 % ID/г через 24 ч и ~20 % ID/г через 2 ч). При этом для Г7 наблюдались чрезвычайно высокие уровни экскреции с мочой со значениями 46 % ID/г через 2 ч и 74 % ID/г через 4 ч. Исследуемые катионные дендримеры активно выводились из системы кровообращения. Анализ не выявил наличия ПАМАМ дендримеров (Г3, Г5, Г7) в крови уже через 2 ч после введения. В экспериментах Roberts с соавт. [2] не отмечено



Схематическая структура дендримера

Schematic structure of a dendrimer

токсичности в течение 2 ч после введения мышам катионных ПАМАМ дендримеров Г3, Г5 и Г7. Однако одно животное в группе Г7, получавшее самую высокую дозу, погибло через 24 ч после инъекции, что могло быть связано с осложнениями, вызванными ПАМАМ дендримерами Г7, но не было явным образом подтверждено. Также не выявлено иммуногенности катионных ПАМАМ дендримеров согласно анализу иммунопреципитации и анализу двойной диффузии по Оухтерлони (при $5 \cdot 10^{-5}$ ммоль/кг). В 7- и 30-дневной группах у всех животных (кроме одной мыши, которая погибла после введения ПАМАМ Г7) отмечался нормальный характер роста, без существенных различий в массе тела между мышами обработанной и контрольной групп. Ни у одного из животных не обнаружено макро- или микроскопических нарушений. Результаты 6-месячного эксперимента, в котором осуществлялся контроль массы тела подопытных животных, согласовались с показателями краткосрочных экспериментов. Одна смерть (по причинам, не связанным с экспериментом) произошла в группе, животным которой вводили ПАМАМ Г7. У остальных мышей не отмечено изменений в массе тела по сравнению с контрольной группой. Однако во всех образцах печени имела место вакуолизация цитоплазмы [2]. Malik с соавт. [4] также обнаружили, что катионные дендримеры более высоких генераций непригодны для парентерального введения крысам, особенно в больших концентрациях. Okuda с соавт. [5] изучили у мышей токсичность катионных ПАМАМ дендримеров Г6 при внутривенном введении (1, 5 и 10 мг/кг) на основе активности сыворотки глутаминовой пировиноградной трансаминазы в качестве индикатора повреждения печени. Никаких значительных изменений не наблюдалось даже при максимальной концентрации дендримеров. Таким образом, показано, что введение ПАМАМ дендримеров Г6 внутривенно не вызывает острого повреждения печени мышей, в том числе при сравнительно высоких концентрациях (ПАМАМ дендримеры Г7 токсичны при 44 мг/кг) [5]. Karolczak с соавт. [6] обнаружили, что все крысы, которые получали внутрибрюшинные инъекции катионных ПАМАМ дендримеров Г4, выживали в течение 60 дней как в экспериментальной, так и в контрольной группе. Показано, что введение катионных ПАМАМ дендримеров Г4 контрольным недиабетическим крысам не вызывало изменения их массы тела. Лечение диабетических животных ПАМАМ дендримерами Г4 значительно снижало концентрацию глюкозы в крови и подавляло характерные признаки поздних диабетических осложнений по сравнению с контрольными диабетическими животными. Инъекция ПАМАМ дендримеров Г4 значительно увеличивала массу тела крыс с диабетом (в среднем на 17 %). ПАМАМ дендримеры Г4 значительно уменьшали вызванную диабетом проницаемость гематоэнцефалического барьера, что согласуется со снижением уровня глюкозы в крови и улучшением биохимических признаков тяжелой гипергликемии [6]. Таким образом, ПАМАМ дендримеры Г4 приводят к нормализации биохимических параметров и состояния гематоэнцефалического барьера у крыс с диабетом, однако при этом в некоторых экспериментах показана их токсичность для диабетических животных. Напротив, на выживаемость здоровых крыс введение дендримеров никак не влияло. Противовоспалительная активность ПАМАМ дендримеров Г4 у диабетических крыс хорошо коррелирует с их способностью восстанавливать биохимические параметры [6]. Chauhan с соавт. [7] исследовали на крысах противовоспалительную активность немодифицированных катионных ПАМАМ дендримеров Г4 и ряда поверхностно-модифицированных ПАМАМ дендримеров с индометацином и без него. Обнаружено, что катионные ПАМАМ дендримеры Г4 проявляют значительную противовоспалительную активность в отсутствие индометацина при тестировании на модели, индуцированной каррагенином, при этом активность повышалась с увеличением его концентрации.

Токсичность анионных и нейтральных ПАМАМ дендримеров. Согласно исследованиям, анионные и нейтральные ПАМАМ дендримеры не обладают токсичностью. Malik с соавт. [4] показали, что карбоксилированные дендримеры ПАМАМ Г2.5, Г3.5, Г5.5 не проявляют токсичности при внутрибрюшинном и внутривенном введении крысам. Thiagarajan с соавт. [8] обнаружили, что ПАМАМ дендримеры Г6.5 не токсичны при пероральном введении мышам. Их вес через 10 дней не отличался сколько-нибудь значительно от веса животных контрольной группы. Такие показатели крови, как азот мочевины крови, креатинин, аспартатаминотрансфераза, аланин-

аминотрансфераза, общий билирубин, общий белок, альбумин, также не изменились [8]. Kanpan с соавт. [9] изучили доставку противовоспалительного агента N-ацетил-L-цистеина (НАС) с использованием дендримеров ПАМАМ-ОН в качестве носителей (комплексы дендримеров и НАС, D-НАС) у кроликов. Не обнаружено достоверных различий прироста веса с 1-го по 5-й день между контрольными группами животных и кроликами, получавшими НАС или D-НАС. При этом животные, получавшие инъекции буфера и дендримеров, набирали меньший вес, чем кролики, которым вводили НАС или D-НАС. Меньшая прибавка в весе у животных, получавших буфер и только дендримеры, может быть связана с повышением скорости катаболизма вследствие продолжающегося воспаления. Выживаемость до 5-го дня была одинаковой во всех группах [9].

Токсичность комплексов катионных ПАМАМ дендримеров с нуклеиновыми кислотами (дендриплексов). Нейтрализация положительного заряда катионных ПАМАМ дендримеров в их комплексах с нуклеиновыми кислотами значительно снижает их токсичность. Kukowska-Latallo с соавт. [10], использовавшие катионный дендример ПАМАМ Г9 в комплексе с плазмидной ДНК для регуляции экспрессии хлорамфеникол-1-ацетилтрансферазы (pCF1CAT) у мышей, не обнаружили никаких изменений, кровоизлияний или связанных с лечением повреждений легких (доза 32–36 мг/кг). В частности, не развивалось воспаление или пневмония, не наблюдалось активации нейтрофилов [10]. Navarro с соавт. [11], используя люциферазную плазмиду, связывающуюся с катионными ПАМАМ дендримерами Г4 и Г5, для доставки генов у мышей, обнаружили, что только с полиплексами ПАМАМ Г4 при соотношении зарядов 6:1 (Г4:плазида) активность аспартаттрансаминазы значительно увеличивается по сравнению с таковой у животных, которым вводился чистый буфер, при этом наблюдался некроз печени [11]. Следует отметить, что полиплексы LPEI и BPEI индуцировали токсичность для печени при значительно более низких дозах поликатионов ($N/P = 6$, что соответствует дозе поликатиона 2 мг/кг и дозе пДНК 2,5 мг/кг), тогда как при добавлении ПАМАМ дендримеров их токсичность для печени наблюдалась при дозе чистого ПАМАМ, равной 10 мг/кг. При образовании комплексов с плазмидами существенной токсичности для печени или изменений в гистологии не наблюдалось. Повидимому, оба полиплекса ПАМАМ (Г4 и Г5) хорошо переносятся мышами до соотношения зарядов 4:1, что соответствует дозам 6,7 и 6,8 мг/кг для ПАМАМ дендримеров Г4 и Г5 соответственно, тогда как доза 10 мг/кг ПАМАМ дендримеров Г4 приводила к повышению уровня ферментов печени и к некрозу. Для всех протестированных образцов тканей самая высокая экспрессия люциферазы была обнаружена в опухолевой ткани, за которой следовали ткани легких; у остальных органов уровни экспрессии люциферазы лишь незначительно превышали контрольные значения [11]. Maquyama-Tabata с соавт. [12] не обнаружили признаков воспаления ни в одной из опухолей при использовании плазмидных векторов на основе вируса Эпштейна–Барра в сочетании с дендримерами SuperfectTM при генной терапии рака у мышей. Han с соавт. [13] разработали пептидный HAIYPRH (T7)-конъюгированный полиэтиленгликоль-модифицированный ПАМАМ дендример для совместной доставки доксорубина и терапевтического гена, кодирующего апоптоз-инициирующий лиганд, связанный с фактором некроза опухоли человека. Отмечено отсутствие токсичности всех систем для мышей. Обнаружены доказательства токсичности только у животных, получавших доксорубин (5 мг/кг) [13, 14].

Закключение. Таким образом, токсичность дендримеров в экспериментах *in vivo* во многом зависит от их генерации, дозы, способа введения, а также от наличия модификаций [15]. Практически все дендримеры малых и средних генераций нетоксичны *in vivo*, хотя и демонстрируют некоторую цитотоксичность *in vitro* [16]. Наиболее часто токсичность *in vivo* наблюдается для высоких генераций немодифицированных катионных дендримеров при инъекциях в высоких дозах (>10 мг/кг) [17]. Различные модификации дендримеров приводят к снижению их токсичности [18]. Некоторые из нежелательных эффектов после введения дендримеров уменьшились при длительном дозировании, что указывает на развитие адаптивных или противодействующих механизмов [19]. Более того, в период восстановления нарушенные показатели возвращались к нормальному уровню после прекращения введения агентов животным. Вышеупомянутые

особенности модифицированных ПАМAM дендримеров могут свидетельствовать о перспективности их применения для самых разнообразных задач биомедицины, таких как доставка лекарственных препаратов, противоопухолевая терапия, компьютерная томография и магнитно-резонансная визуализация [20].

Благодарности. Данная работа поддержана Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь (ГКНТ РБ) и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (БРФФИ), гранты Б20СЛКГ-002, Б21КОРГ-001, Б21АРМГ-002, Б22УЗБ-003, Б21ТЮБ-001, Б21РМ-045, Б21М-001.

Acknowledgements. 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 B20SLKG-002, B21KORG-001, B22UZB-003, B21ARMG-002, B21TUB-001, B21RM-045, B21M-001.

Список использованных источников

1. A new class of polymers: Starburst-dendritic macromolecules / D. A. Tomalia [et al.] // Polym. J. – 1985. – Vol. 17, N 1. – P. 117–132. <https://doi.org/10.1295/polymj.17.117>
2. Roberts, J. C. Preliminary biological evaluation of polyamidoamine (PAMAM) StarburstTM dendrimers / J. C. Roberts, M. K. Bhalgat, R. T. Zera // J. Biomed. Mater. Res. – 1996. – Vol. 30, N 1. – P. 53–65. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199601\)30:1<53::AID-JBM8>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199601)30:1<53::AID-JBM8>3.0.CO;2-Q)
3. Hepatocyte targeting of ¹¹¹In-labeled oligo-DNA with avidin or avidin-dendrimer complex / M. Mamede [et al.] // J. Control. Release. – 2004. – Vol. 95, N 1. – P. 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.11.015>
4. Dendrimers: Relationship between structure and biocompatibility *in vitro*, and preliminary studies on the biodistribution of ¹²⁵I-labelled polyamidoamine dendrimers *in vivo* / N. Malik [et al.] // J. Control. Release. – 2000. – Vol. 65, N 1–2. – P. 133–148. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00246-1](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00246-1)
5. Biodistribution characteristics of amino acid dendrimers and their PEGylated derivatives after intravenous administration / T. Okuda [et al.] // J. Control. Release. – 2006. – Vol. 114, N 1. – P. 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.05.009>
6. Poly(amido)amine dendrimers generation 4.0 (PAMAM G4) reduce blood hyperglycaemia and restore impaired blood-brain barrier permeability in streptozotocin diabetes in rats / K. Karolczak [et al.] // Int. J. Pharm. – 2012. – Vol. 436, N 1–2. – P. 508–518. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.033>
7. Unexpected *in vivo* anti-inflammatory activity observed for simple, surface functionalized poly(amidoamine) dendrimers / A. S. Chauhan [et al.] // Biomacromolecules. – 2009. – Vol. 10, N 5. – P. 1195–1202. <https://doi.org/10.1021/bm9000298>
8. Evidence of oral translocation of anionic G6.5 dendrimers in mice / G. Thiagarajan [et al.] // Mol. Pharm. – 2013. – Vol. 10, N 3. – P. 988–998. <https://doi.org/10.1021/mp300436c>
9. Dendrimer-based postnatal therapy for neuroinflammation and cerebral palsy in a rabbit model / S. Kannan [et al.] // Sci. Transl. Med. – 2012. – Vol. 4, N 130. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003162>
10. Intravascular and endobronchial DNA delivery to murine lung tissue using a novel, nonviral vector / J. F. Kukowska-Latallo [et al.] // Hum. Gene Ther. – 2000. – Vol. 11, N 10. – P. 1385–1395. <https://doi.org/10.1089/10430340050057468>
11. Low generation PAMAM dendrimer and CpG free plasmids allow targeted and extended transgene expression in tumors after systemic delivery / G. Navarro [et al.] // J. Control. Release. – 2010. – Vol. 146, N 1. – P. 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.04.030>
12. Effective suicide gene therapy *in vivo* by EBV-based plasmid vector coupled with polyamidoamine dendrimer / H. Maruyama-Tabata [et al.] // Gene Ther. – 2000. – Vol. 7, N 1. – P. 53–60. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301044>
13. Plasmid pORF-hTRAIL and doxorubicin co-delivery targeting to tumor using peptide-conjugated polyamidoamine dendrimer / L. Han [et al.] // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. 1242–1252. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.070>
14. Tat-BMPs-PAMAM conjugates enhance therapeutic effect of small interference RNA on U251 glioma cells *in vitro* and *in vivo* / L. Han [et al.] // Hum. Gene Ther. – 2010. – Vol. 21, N 4. – P. 417–426. <https://doi.org/10.1089/hum.2009.087>
15. Exploration of biomedical dendrimer space based on in-vivo physicochemical parameters: Key factor analysis (Part 2) / S. Mignani [et al.] // Drug Discov. Today. – 2019. – Vol. 24, N 5. – P. 1184–1192. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.001>
16. 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>
17. Duncan, R. Dendrimer biocompatibility and toxicity / R. Duncan, L. Izzo // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2005. – Vol. 57, N 15. – P. 2215–2237. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.09.019>
18. Toxicity and surface modification of dendrimers: a critical review / R. Kharwade [et al.] // Curr. Drug Deliv. – 2022. – Vol. 19, N 4. – P. 451–465. <https://doi.org/10.2174/1567201818666211021160441>
19. *In vivo* toxicity of poly(propyleneimine) dendrimers / B. Ziemba [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2011. – Vol. 99, N 2. – P. 261–268. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33196>
20. *In vivo* therapeutic applications of phosphorus dendrimers: State of the art / S. Mignani [et al.] // Drug Discov. Today. – 2021. – Vol. 26. – P. 677–689. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.11.034>

References

1. Tomalia D. A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P. A new class of polymers: Starburst-dendritic macromolecules. *Polymer Journal*, 1985, vol. 17, no. 1, pp. 117–132. <https://doi.org/10.1295/polymj.17.117>
2. Roberts J. C., Bhalgat M. K., Zera R. T. Preliminary biological evaluation of polyamidoamine (PAMAM) StarburstTM dendrimers. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1996, vol. 30, no. 1, pp. 53–65. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199601\)30:1<53::AID-JBM8>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199601)30:1<53::AID-JBM8>3.0.CO;2-Q)
3. Mamede M., Saga T., Ishimori T., Higashi T., Sato N., Kobayashi H., Brechbiel M. W., Konishi J. Hepatocyte targeting of ¹¹¹In-labeled oligo-DNA with avidin or avidin-dendrimer complex. *Journal of Controlled Release*, 2004, vol. 95, no. 1, pp. 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.11.015>
4. Malik N., Wiwattanapatapee R., Klopsch R., Lorenz K., Frey H., Weener J. W., Meijer E. W., Paulus W., Duncan R. Dendrimers: Relationship between structure and biocompatibility *in vitro*, and preliminary studies on the biodistribution of ¹²⁵I-labelled polyamidoamine dendrimers *in vivo*. *Journal of Controlled Release*, 2000, vol. 65, no. 1–2, pp. 133–148. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00246-1](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00246-1)
5. Okuda T., Kawakami S., Maeie T., Niidome T., Yamashita F., Hashida M. Biodistribution characteristics of amino acid dendrimers and their PEGylated derivatives after intravenous administration. *Journal of Controlled Release*, 2006, vol. 114, no. 1, pp. 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.05.009>
6. Karolczak K., Rozalska S., Wiecek M., Labieniec-Watala M., Watala C. Poly(amido)amine dendrimers generation 4.0 (PAMAM G4) reduce blood hyperglycaemia and restore impaired blood-brain barrier permeability in streptozotocin diabetes in rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 2012, vol. 436, no. 1–2, pp. 508–518. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.033>
7. Chauhan A. S., Diwan P. V., Jain N. K., Tomalia D. A. Unexpected *in vivo* anti-inflammatory activity observed for simple, surface functionalized poly(amidoamine) dendrimers. *Biomacromolecules*, 2009, vol. 10, no. 5, pp. 1195–1202. [doi:10.1021/bm9000298](https://doi.org/10.1021/bm9000298)
8. Thiagarajan G., Sadekar S., Greish K., Ray A., Ghandehari H. Evidence of oral translocation of anionic G6.5 dendrimers in mice. *Molecular Pharmaceutics*, 2013, vol. 10, no. 3, pp. 988–998. [doi:10.1021/mp300436c](https://doi.org/10.1021/mp300436c)
9. Kannan S., Dai H., Navath R. S., Balakrishnan B., Jyoti A., Janisse J., Romero R., Kannan R. M. Dendrimer-based postnatal therapy for neuroinflammation and cerebral palsy in a rabbit model. *Science Translational Medicine*, 2012, vol. 4, no. 130. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003162>
10. Kukowska-Latallo J. F., Raczka E., Quintana A., Chen C., Rymaszewski M., Baker J. R. Intravascular and endobronchial DNA delivery to murine lung tissue using a novel, nonviral vector. *Human Gene Therapy*, 2000, vol. 11, no. 10, pp. 1385–1395. <https://doi.org/10.1089/10430340050057468>
11. Navarro G., Maiwald G., Haase R., Rogach A. L., Wagner E., de Ilarduya C. T., Ogris M. Low generation PAMAM dendrimer and CpG free plasmids allow targeted and extended transgene expression in tumors after systemic delivery. *Journal of Controlled Release*, 2010, vol. 146, no. 1, pp. 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.04.030>
12. Maruyama-Tabata H., Harada Y., Matsumura T., Satoh E., Cui F., Iwai M., Kita M., Hibi S., Imanishi J., Sawada T., Mazda O. Effective suicide gene therapy *in vivo* by EBV-based plasmid vector coupled with polyamidoamine dendrimer. *Gene Therapy*, 2000, vol. 7, no. 1, pp. 53–60. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301044>
13. Han L., Huang R., Li J., Liu S., Huang S., Jiang C. Plasmid pORF-hTRAIL and doxorubicin co-delivery targeting to tumor using peptide-conjugated polyamidoamine dendrimer. *Biomaterials*, 2011, vol. 32, no. 4, pp. 1242–1252. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.070>
14. Han L., Zhang A., Wang H., Pu P., Jiang X., Kang C., Chang J. Tat-BMPs-PAMAM conjugates enhance therapeutic effect of small interference RNA on U251 glioma cells *in vitro* and *in vivo*. *Human Gene Therapy*, 2010, vol. 21, no. 4, pp. 417–426. <https://doi.org/10.1089/hum.2009.087>
15. Mignani S., Rodrigues J., Roy R., Shi X., Cena V., El Kazzouli S., Majoral J.-P. Exploration of biomedical dendrimer space based on in-vivo physicochemical parameters: Key factor analysis (Part 2). *Drug Discovery Today*, 2019, vol. 24, pp. 1184–1192. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.001>
16. Jain K., Kesharwani P., Gupta U., Jain N.K. Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, vol. 394, pp. 122–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.027>
17. Duncan R., Izzo L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, vol. 57, pp. 2215–2237. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.09.019>
18. Kharwade R., Badole P., Mahajan N., More S. Toxicity and surface modification of dendrimers: a critical review. *Current Drug Delivery*, 2022, vol. 19, pp. 451–465. <https://doi.org/10.2174/1567201818666211021160441>
19. Ziemba B., Janaszewska A., Ciepluch K., Krotekiewicz M., Fogel W. A., Appelhans D., Voit B., Bryszewska M., Klajnert B. *In vivo* toxicity of poly(propyleneimine) dendrimers. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2011, vol. 99, pp. 261–268. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33196>
20. Mignani S., Shi X., Ceña V., Shcharbin D., Bryszewska M., Majoral J.-P. *In vivo* therapeutic applications of phosphorus dendrimers: State of the art. *Drug Discovery Today*, 2021, vol. 26, pp. 677–689. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.11.034>

Информация об авторах

Становая Аlesia Игоревна – науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alesiastanovaya@gmail.com

Абашкин Виктор Михайлович – науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: viktar.abashkin@gmail.com

Вчерашня Александра Васильевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vcherashniaya@gmail.com

Терехова Мария Михайловна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: maryterekhova@tut.by

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

Живицкая Славяна Сергеевна – студент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: slaviankazhivicka@gmail.com

Щербин Дмитрий Григорьевич – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shcharbin@gmail.com

Information about the authors

Alesia I. Stanavaya – 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: alesiastanovaya@gmail.com

Viktar M. Abashkin – 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

Aliaksandra V. Vcherashniaya – 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: vcherashniaya@gmail.com

Maria M. Terehova – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: maryterekhova@tut.by

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

Slaviana S. Zhyvitskaya – Student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: slaviankazhivicka@gmail.com

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

UDC 579.66:152.311:579.873.71

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-426-432>

Received 05.08.2022

Larisa L. Birichevskaya¹, Evgeniy I. Kvasyuk², Anatoliy I. Zinchenko^{1,2}

¹*Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

MOLNUPIRAVIR AS A PROMISING PRODRUG AGENT FOR THERAPY OF COVID-19

Abstract. The ongoing COVID-19 pandemic accompanied by the emergence of new successive pathogenic variants makes problematic the prospects of the approach based on application of exclusively prophylactic vaccines to combat SARS-CoV-2. This reason motivated the urgent need in search and development of chemical formulas showing direct antiviral action.

The present mini-review provides data on chemical and enzymatic methods of producing molnupiravir regarded so far as one of the most effective pharmaceuticals for treatment of COVID-19. In conclusion of the literature survey it is suggested to administer lipid-containing analog instead of molnupiravir in COVID-19 therapeutic protocols. In this respect the authors reported the successful synthesis catalyzed by bacterial phospholipase D of 5'-dimyristoyl derivative of N4-hydroxycytidine – the compound allegedly more efficient than molnupiravir in inhibiting SARS-CoV-2 replication.

Keywords: COVID-19 pandemic, chemotherapy, modified nucleoside, N4-hydroxycytidine, chemical and enzymatic synthesis of molnupiravir, phospholipase D, transphosphatidylolation

For citation: Birichevskaya L. L., Kvasyuk E. I., Zinchenko A. I. Molnupiravir as a promising prodrug agent for therapy of COVID-19. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyolagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 426–432. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-426-432>

Л. Л. Биричевская¹, Е. И. Квасюк², А. И. Зинченко^{1,2}

¹*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь*

МОЛНУПИРАВИР КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ ПРОЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ТЕРАПИИ COVID-19

Аннотация. Непрерывающаяся пандемия COVID-19, сопровождающаяся появлением все новых антигенных вариантов возбудителя, делает проблематичным подход, основанный на применении для борьбы с SARS-CoV-2 только профилактических вакцин. Это обстоятельство обуславливает настоятельную необходимость скорейшего поиска и создания химиопрепаратов прямого противовирусного действия.

В настоящей мини-обзорной статье приводится информация о химических и ферментативных методах получения молнупиравира, считающегося на сегодняшний день одним из самых перспективных лекарственных средств для терапии COVID-19. В заключении литературного обзора предлагается использовать для терапии COVID-19 не сам молнупиравир, а его липидсодержащий аналог. В связи с этим авторы сообщают о синтезе ими с помощью бактериальной фосфолипазы D 5'-димиристоильного производного N4-гидроксицитидина – соединения, которое, как предполагается, более эффективно, чем молнупиравир, в отношении ингибирования репликации SARS-CoV-2.

Ключевые слова: пандемия COVID-19, химиотерапия, модифицированный нуклеозид, N4-гидроксицитидин, химический и ферментативный синтез молнупиравира, фосфолипаза D, трансфосфатидилирование

Для цитирования: Биричевская, Л. Л. Молнупиравир как перспективное пролекарственное средство для терапии COVID-19 / Л. Л. Биричевская, Е. И. Квасюк, А. И. Зинченко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 4. – С. 426–432 (на англ. яз.). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-4-426-432>

Introduction. COVID-19 pandemic caused by novel coronavirus of morbid acute respiratory syndrome (SARS-CoV-2) turned into the grave global challenge for the health of human population. The estimates in early May 2022 recorded over 516 mln people around the world infected with the virus, with overall death toll taking 6.25 mln lives [1].

Specific vaccination is known to be the most effective means to control viral diseases. Numerous pharmaceutical companies joined into the race to clinch the championship in design of vaccine against SARS-CoV-2. However, the probability cannot be ruled out that vaccines opposing rapidly mutating

coronavirus will tend to lose their efficiency. This argument substantiates the efforts in favor of formulating medicines displaying direct antiviral activity [2, 3].

Since the development of specific preparations for treatment of every newly appearing infection is a long-term process taking several years even in the most favorable circumstances, in the meantime the medical community is focused on the existing registered broad-spectrum antiviral trademarks. The previous experience in curing infections of viral origin is conveyed to the foreground for public debates.

The chemical core of the most renowned antiviral preparations is made up by modified nucleosides, yet, they do not possess therapeutic activity per se. To transform into the active form, they undergo multistage intracellular metabolic activation consisting in step-by-step conversion of nucleoside into nucleoside-5'-triphosphate. The initial stage (5'-monophosphorylation of nucleoside) is often the step limiting activation rate. Moreover, the total lack of enzyme nucleoside kinase responsible for this stage, completely blocks the conversion of nucleoside into the active substance.

To by-pass this stage the so-called pro-Tide strategy is applied, envisaging in one of the variants substitution of 5'-phosphatidyl derivatives for the respective nucleosides [4]. Penetrating into the cells, the above-mentioned compounds are hydrolyzed under the impact of cellular esterases, turning immediately into nucleoside-5'-monophosphates (without mediation of nucleoside kinases).

Thus, generation of active substance (with concomitant therapeutic effect) may happen even in cells deficient in nucleoside kinases and, as a consequence, resistant to action of the parent nucleoside.

Of special interest in this respect are reports circulating in periodicals of therapeutic properties of molnupiravir-antiflu preparation with commercial codes MK-4482 and EIDD-2801. This prodrug is composed of nucleoside carcass based on N4-hydroxycytidine [5, 6] – a modified nucleoside originally synthesized in Emory University, private research institution located in Atlanta, Georgia, USA.

Now molnupiravir is promoted by Merck pharma company as a new peroral antiviral remedy for COVID-19 [7]. Animal trials demonstrated beneficial effect of molnupiravir in preventing virus transmission and inhibiting SARS-CoV-2 activity [8].

Structurally molnupiravir is 5'-isobutyl derivative of antiviral ribonucleoside of direct action – EIDD-1931 (or β -D-N4-hydroxycytidine).

In blood plasma molnupiravir is split to release EIDD-1931. Subsequently it is phosphorylated by kinases in host cells to the respective 5'-triphosphate as the active antiviral agent [9, 10] (Fig. 1).

The animal test models of infections caused by various coronaviruses, flu virus, Ebola virus have shown that EIDD-1931 successfully inhibited replication of many RNA-containing viruses [10, 12, 13]. This peroral preparation proved high efficiency against SARS-CoV-2 infection and adequate safety level [14].

Clinical trials at phase 1 revealed safety of molnupiravir as a novel peroral antiviral drug and good response (no side effects) in healthy volunteers [15]. During phase 2 of clinical trials (multi-centered, randomized, placebo-controlled, double blind control study) the patients with light and medium gravity of the disease were administered molnupiravir twice per diem in the course of 5 days.

The results evidenced that the tested drug reduced the level of SARS-CoV-2 transcription, accelerated the rate of virus elimination, prevented COVID-19 progression and replication of SARS-CoV-2 [14, 16].

The findings collected from synchronized phases 2 and 3 indicated attractive prospects of molnupiravir to become the recognized therapeutic agent for non-hospitalized patients suffering from COVID-19 [11].

Metabolism of molnupiravir. Molnupiravir is peroral 5'-modified analog of N4-hydroxycytidine originally conceived (in 2019) to cure influenza. Surprisingly, the drug displayed elevated activity to counter SARS-CoV-2 under laboratory conditions and in model experiments with test animals [8].



Fig. 1. Metabolic activation of molnupiravir [11]

It should be noted that compounds with a broad spectrum of antiviral activity, including inhibition of SARS-CoV-2 replication, were pointed out among numerous modified analogs of natural nucleosides and nucleotides. Some of them are passing clinical trials to check COVID-19 treatment efficiency [11]. However, in contrast to similar preparations authorized for urgent control of COVID-19, large-scale production of molnupiravir may be arranged. The product requires no special terms for storage, and peroral administration mode enables to apply it on off-ward basis. Molnupiravir successfully passed all 3 phases of clinical trials revealing no significant side effects [17]. The drug dose sufficient and safe for the patients infected with coronavirus was established experimentally by S. H. Khoo et al. [18]. The patients divided in groups 6 persons each were fed perorally 300, 600 and 800 mg of molnupiravir twice per diem during 5-day course. Following examination of 103 participants the authors stated no drug rejection in the tested dosages, hence it was considered as safe. Judging from these results, it was recommended to prescribe 800 mg dose twice a day to achieve the maximum therapeutic effect.

Mechanism of molnupiravir action. Apprehension of the mechanism of action of any medicine on the molecular level is known to play a crucial role in direction (concentration) of research efforts for further elaboration of antiviral compounds. It was found that molnupiravir molecule getting inside the cell undergoes metabolic activation resulting in synthesis of 5'-triphosphate derivative of N4-hydroxycytidine. Later RNA polymerase (the enzyme catalyzing replication of RNA matrix) incorporates the corresponding modified mononucleotide into viral RNA genome. Any molecular event of this kind may induce mutation and accumulation of such mutations blocks propagation of the virus [19] (Fig. 2).

In line with the above-illustrated mechanism of action molnupiravir likewise triggers generation of “life-incompatible” mutations in other RNA-containing viruses interfering with their reproduction [6, 8, 20, 21]. Biochemical and structural investigations have elucidated that viral RNA-dependent RNA polymerase recognizes metabolically activated molnupiravir as the analog of natural cytidine-5'-triphosphate. The enzyme then engages the resulting RNA chain fragment as the matrix for copying, and modified cytosine is linked either with guanine or adenine resulting in emergence of mutant daughter RNA. Despite probable adverse mutagenic consequences, molnupiravir is distinguished by superb pharmacokinetic characteristics evident in the course of peroral administration.

Methods of molnupiravir synthesis. The pioneering approach to production of molnupiravir was proposed by researches of Emory University [23]. In conformity with the devised scheme (Fig. 3) molnupiravir was synthesized in 5 stages, starting from uridine (4). The product yields from the final 2 stages were not specified but in general the procedure attained the top yield of the end product 17 %.

Initially hydroxyl groups adjoining the second and third carbon atoms of ribose molecule were protected with acetone at room temperature. Afterwards the compound (5) was supplemented with 4-(N,N-dimethylamino)-pyridine, triethylamine and isobutyric anhydride (6). The resulting compound (7) was dissolved in acetonitrile, then triethylamine and 1,2,4-triazole were added. The obtained solution was treated with phosphoryl chloride and cytidine derivative (8) modified with triazole was recovered with the yield 29 %. The compound (8) was solved in 2-propanol and treated with hydroxylamine to produce compound (9) (yield 60 %). Using formic acid the authors removed the protective shield from hydroxyl groups at 2'- and 3'-C positions at ambient temperature and synthesized molnupiravir (10).

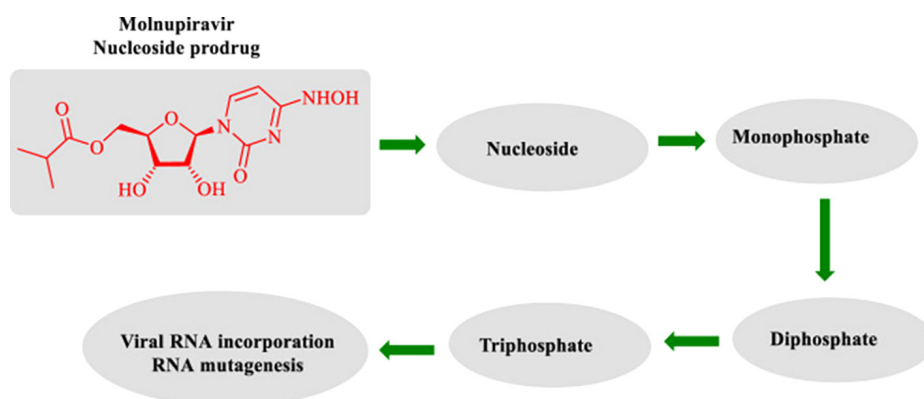


Fig. 2. Mechanism of antiviral action of molnupiravir [11]

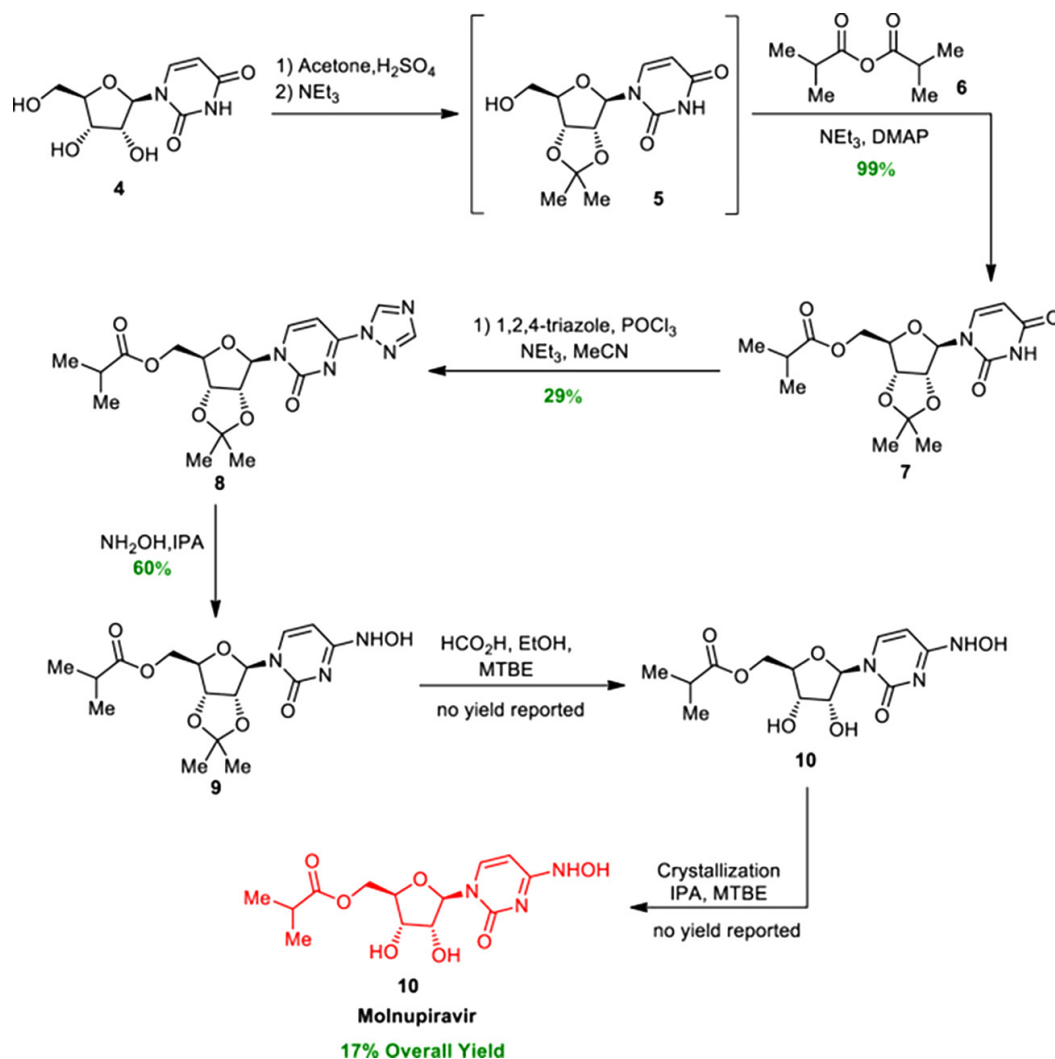


Fig. 3. Scheme of molnupiravir synthesis originating from Emory University [23]

A. Steiner et al. [24] considerably upgraded the chemical process of manufacturing molnupiravir from uridine by simplifying isolation of the end product and its purification. They succeeded in lifting the final yield from 17 to 61 % as compared with the prototype method [23].

Four-stage molnupiravir synthesis from cytidine was conducted in one reaction vessel by T. Hu et al. [25]. This method utilized dimethylacetal N,N-dimethylformamide as the selective protective agent to ensure ready site-specific esterification of 5'-hydroxyl group of nucleoside. Noteworthy that the authors of the cited research replaced more expensive uridine with less costly cytidine. The ultimate yield of the target product equaled 70 %.

V. Gopalsamuthiram et al. [26] also produced molnupiravir from cytidine in 4 stage process on a preparative scale (in gram amounts). The distinction of the proposed chemical technology is that it envisages application of cheap reagents and relatively eco-friendly solvents, like isopropanol, acetone, acetonitrile and water. The authors reached molnupiravir yield 36–41 % and purity grade around 98 %.

The latest decades are known to witness the clear-cut trend of transition from the conventional chemical processes to the so-called green chemistry [27] principles opting for ecologically safe enzymatic reactions in preference over more hazardous chemical technologies.

In this regard a series of papers describing chemical-enzymatic methods of molnupiravir production deserves special attention. For instance, T. Benkovics et al. [28] outlined the scheme of molnupiravir synthesis from ribose and uracil engaging three biocatalysts and available reagents. This biosynthetic procedure is triggered by selective enzymatic (*Candida antarctica* lipase Novozym 435) esterification of primary alcohol group in ribose molecule using isobutyric anhydride as the donor of isobutyl residue. It is followed

by adjoining phosphate to ribose 1-OH group mediated by kinase. Further on uridine phosphorylase catalyzes nearly ideal conversion of intermediate into molnupiravir not aggravated by significant release of by-metabolites. The overall yield of the end product upon recovery from the reaction mixture was 69 %.

N. Vasudevan et al. [29] developed two-stage chemical-enzymatic method of molnupiravir synthesis comprising esterification by lipase from *Candida antarctica* (Novozym 435, Denmark) and hydroxyamination of cytidine. The authors used relatively accessible nucleoside cytidine as the initial substrate. As a result, 75 % yield of the target compound was attained.

G. P. Ahlqvist et al. [30] rationalized and scaled up the process described in the previous study [29]. They carried out preparative synthesis of molnupiravir (dozens of grams) from cytidine and its purification, not resorting to laborious chromatography. Transamination was applied at the first stage, while the required drug was derived by selective enzymatic acylation. In general, molnupiravir of pharmaceutical purity grade (97–99 %) was produced with the final yield 41 %. This approach proved more labor-saving and less costly than the previous analytical variant [29].

D. J. Paymode et al. [31] reported 2-stage procedure of molnupiravir synthesis from cytidine by direct hydroxyamination of cytosine ring and esterification of 5'-primary hydroxyl group in carbohydrate moiety of nucleoside. Both reactions were terminated with 90 % yield. The total yield of isolated compound rose by 23 % (from 37 to 60 %) in case of product purification by crystallization rather than chromatography. Eco-safe solvents, e.g. water and 2-methyltetrahydrofuran were used in the process. In accordance with methodology described in the earlier investigations [29] and [30] acylation was performed with the aid of commercial lipase preparation.

Several literature sources deal with production of N4-hydroxycytidine as an essential intermediate of molnupiravir synthesis. The most impressive technique was proposed by A. Burke et al. [32]. N4-hydroxycytidine was produced by one-stage biocatalytic transformation of cytidine using recombinant cytidine deaminase (E.C. 3.5.4.5) with activity modified by insertion of mutation T123G near the active site of the enzyme. As a consequence, selectivity of the enzyme was raised resulting in reduced amount of by-metabolite (uridine) and 4.9 g output of the end product from 5 g of cytidine (the total yield 85 % with the purity grade over 98 %). The researchers realized the conceived approach in the process manufacturing N4-hydroxycytidine on the scale of hundreds of grams of the target product.

Synthesis of 5'-phosphatidyl derivative of N4-hydroxycytidine. Metabolic activation of molnupiravir (5'-isopropyl ester of N4-hydroxycytidine – EIDD-2801) upon introduction into the human body includes 4 enzymatic stages: a) removal of isopropyl residue from the molecule; b) transformation of the resulting nucleoside into nucleoside-5'-monophosphate; c) phosphorylation of nucleoside-5'-monophosphate to nucleoside-5'-diphosphate; d) conversion of nucleoside-5'-diphosphate into the corresponding triphosphate.

In our opinion, it seems expedient to engage as the drug to control SARS-CoV-2 coronavirus infection instead of molnupiravir 5'-phosphatidyl derivative of its nucleoside moiety – N4-hydroxycytidine, i.e. EIDD-1931. We presume that in this case the initial stage of activation (under the impact of esterase) should lead directly to generation of nucleoside-5'-monophosphate, passing by the most critical stage of nucleoside monophosphorylation catalyzed by nucleoside kinase.

We tested the feasibility of using phospholipase D from strain *Streptomyces netropsis* BIM B-428D deposited in Belarussian collection of nonpathogenic microorganisms, Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus and capable to transfer phospholipid residue from lecithin to primary alcohols in the process of producing 5'-phosphatidyl derivative of N4-hydroxycytidine.

N4-hydroxycytidine was synthesized in compliance with the methodology developed by N. Vasudevan et al. [29]. Synthesis of 5'-phosphatidyl-N4-hydroxycytidine (Fig. 4) was accomplished in biphasic reaction mixture of 1 ml volume composed

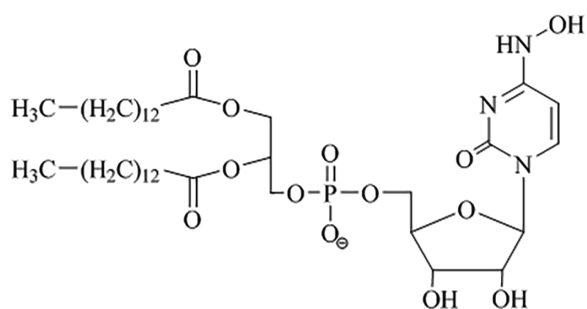


Fig. 4. Molecular structure of 5'-dimyristoylphosphatidyl analog of N4-hydroxycytidine

of chloroform and aqueous buffer phases in 2:1 ratio. The mix contained nucleoside, 1,2-dimyristoyl-phosphatidylcholine and dry preparation of phospholipase D. The reaction proceeded at 37 °C during 6 h. Under these conditions the conversion of nucleoside into the end product exceeded 70 % [33].

The target compound gives a positive color reaction (is stained blue) upon interaction with specific reagents to phospholipids and amino groups. Its spectrum in UV-range matches the spectrum of initial nucleoside ($\lambda_{\text{max}} = 238 \text{ nm}$). The chemical structure of the compound is confirmed by the method of $^1\text{H-NMR}$ -spectroscopy.

Conclusion. Nowadays COVID-19 pandemic turned into the global scourge taking annually a plenty of human lives. Many experts representing diverse branches of science, like organic and biological chemistry, pharmacology, molecular biotechnology, etc. have focused their efforts on research and development of medicinal agents effective against emerging threat of coronavirus SARS-CoV-2.

Molnupiravir as a peroral antiviral drug demonstrated attractive prospects in treatment of out-patients suffering from COVID-19. Clinical trials at phases 1, 2 and 3 showed that molnupiravir considerably reduced the risk of hospitalization and lethality in adults with light and moderate progression of COVID-19 pathology. Thus, the tested drug may play a vital role in control of SARS-CoV-2 infection.

The authors of the presented review succeeded in the first synthesis of 5'-phosphatidyl derivative of N4-hydroxycytidine. Such modification of molnupiravir is assumed to shorten the pathway of metabolic nucleoside transformation into the corresponding nucleoside-5'-triphosphate and hence is likely to increase activity to withstand pandemic coronavirus.

References

1. COVID-19 Data Repository by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University Available at: <https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19> (accessed 05.06.2022).
2. Wen W., Chen C., Tang J., Wang C., Zhou M., Cheng Y. [et al.]. Efficacy and safety of three new oral antiviral treatment (molnupiravir, fluvoxamine and paxlovid) for COVID-19: a meta-analysis. *Annals of Medicine*, 2022, vol. 54, no. 1, pp. 516–523. <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2034936>
3. Dutta A., Roy A., Roy L., Chattopadhyay S., Chatterjee S. Immune response and possible therapeutics in COVID-19. *RSC Advances*, 2021, vol. 11, no. 2, pp. 960–977. <https://doi.org/10.1039/D0RA08901J>
4. Mehellou Y., Rattan H. S., Balzarini J. The ProTide prodrug technology: from the concept to the clinic. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, vol. 61, no. 6, pp. 2211–2226. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00734>
5. Toots M., Yoon J. J., Cox R. M., Hart M., Sticher Z. M., Makhsous N. [et al.]. Characterization of orally efficacious influenza drug with high resistance barrier in ferrets and human airway epithelia. *Science Translational Medicine*, 2019, vol. 11, no. 515, art. eaax5866. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aax5866>
6. Toots M., Yoon J. J., Hart M., Natchus M. G., Painter G. R., Plemper R. K. Quantitative efficacy paradigms of the influenza clinical drug candidate EIDD-2801 in the ferret model. *Translational Research*, 2020, vol. 218, pp. 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2019.12.002>
7. Cross R. Merck & Co. joins race for COVID-19 vaccines and therapies. *Chemical and Engineering News*, 2020, vol. 98, no. 23, p. 12.
8. Sheahan T. P., Sims A. C., Zhou S., Graham R. L., Pruijssers A. J., Agostini M. L. [et al.]. An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice. *Science Translational Medicine*, 2020, vol. 12, art. 541. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abb5883>
9. Hernandez-Santiago B. I., Beltran T., Stuyver L., Chu C. K., Schinazi R. F. Metabolism of the anti-hepatitis C virus nucleoside β -d-N 4-hydroxycytidine in different liver cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, vol. 48, no. 12, pp. 4636–4642. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.12.4636-4642.2004>
10. Painter G. R., Bowen R. A., Bluemling G. R., DeBergh J., Edpuganti V., Gruddanti P. R. [et al.]. The prophylactic and therapeutic activity of a broadly active ribonucleoside analog in a murine model of intranasal Venezuelan equine encephalitis virus infection. *Antiviral Research*, 2019, vol. 171, art. 104597. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104597>
11. Zarenezhad E., Marzi M. Review on molnupiravir as a promising oral drug for the treatment of COVID-19. *Medicinal Chemistry Research*, 2022, vol. 31, no. 2, pp. 232–243. <https://doi.org/10.1007/s00044-021-02841-3>
12. Agostini M. L., Pruijssers A. J., Chappell J. D., Gribble J., Lu X., Andres E. L. [et al.]. Small-molecule antiviral β -d-N 4-hydroxycytidine inhibits a proofreading-intact coronavirus with a high genetic barrier to resistance. *Journal of Virology*, 2019, vol. 93, no. 24, art. e01348–19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01348-19>
13. Reynard O., Nguyen X. N., Alazard-Dany N., Barateau V., Cimarelli A., Volchkov V. E. Identification of a new ribonucleoside inhibitor of Ebola virus replication. *Viruses*, 2015, vol. 7, no. 12, pp. 6233–6240. <https://doi.org/10.3390/v7122934>
14. Fischer W., Eron J. J., Holman W., Cohen M. S., Fang L., Szweczyk L. J. [et al.]. Molnupiravir an oral antiviral treatment for COVID-19. *medRxiv*, 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.06.17.21258639>
15. Painter W. P., Holman W., Bush J. A., Almazedi F., Malik H., Eraut N. C. J. E., Morin M. J., Szweczyk L. J., Painter G. R. Human safety, tolerability, and pharmacokinetics of molnupiravir, a novel broad-spectrum oral antiviral agent with activity against SARS-CoV-2. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2021, vol. 65, art. e02428–20. <https://doi.org/10.1128/AAC.02428-20>

16. Zarenezhad E., Behrouz S., Farjam M., Rad M. N. S. A mini review on discovery and synthesis of remdesivir as an effective and promising drug against COVID-19. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2021, vol. 47, no. 3, pp. 609–621. <https://doi.org/10.1134/S1068162021030183>
17. Singh A. K., Singh A., Singh R., Misra A. Molnupiravir in COVID-19: a systematic review of literature. *Diabetes and Metabolic Syndrome*, 2021, vol. 15, no. 6, art. 102329. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.102329>
18. Khoo S. H., Fitzgerald R., Fletcher T., Ewings S., Jaki T., Lyon R. [et al.]. Optimal dose and safety of molnupiravir in patients with early SARS-CoV-2: a Phase I, open-label, dose-escalating, randomized controlled study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2021, vol. 76, no. 12, pp. 3286–3295. <https://doi.org/10.1101/2021.05.03.21256309>
19. Kabinger F., Stiller C., Schmitzová J., Dienemann C., Kokic G., Hillen H. S., Höbartner C., Cramer P. Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nature Structural and Molecular Biology*, 2021, vol. 28, no. 9, pp. 740–746. <https://doi.org/10.1038/s41594-021-00651-0>
20. Crotty S., Cameron C. E., Andino R. RNA virus error catastrophe: direct molecular test by using ribavirin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, vol. 98, no. 12, pp. 6895–6900. <https://doi.org/10.1073/pnas.111085598>
21. Gordon C. J., Tchesnokov E. P., Schinazi R. F., Götte M. Molnupiravir promotes SARS-CoV-2 mutagenesis via the RNA template. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, vol. 297, no. 1, art. 100770. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100770>
22. Malone B., Campbell E. A. Molnupiravir: coding for catastrophe. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2021, vol. 28, pp. 706–708. <https://doi.org/10.1038/s41594-021-00657-8>
23. *N4-hydroxycytidine and derivatives and anti-viral uses related thereto: pat. WO2019113462 A1, IPC C 07 H 19/06 / G. R. Painter [et al.]*, 2019.
24. Steiner A., Znidar D., Ötvös S. B., Snead D. R., Dallinger D., Kappe C. O. A high-yielding synthesis of EIDD-2801 from uridine. *European Journal of Organic Chemistry*, 2020, vol. 43, pp. 6736–6739. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001340>
25. Hu T., Xie Y., Liu Y., Xue H., Zhu F., A. Aisa H., Shen J. Convenient and cost efficient route suitable for one-pot synthesis of molnupiravir. *ChemRxiv*, 2021. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.14208206.v1>
26. Gopalsamuthiram V., Kadam A. L., Noble J., Snead D., Williams C., Jamison T. F. [et al.]. Towards a practical, non-enzymatic process for molnupiravir from cytidine. *ChemRxiv*, 2021. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.14738109.v1>
27. Sheldon R. A., Brady D. Green chemistry, biocatalysis, and the chemical industry of the future. *ChemSuschem*, 2022. Art. e202102628. <https://doi.org/10.1002/cssc.202102628>
28. Benkovics T., McIntosh J., Silverman S., Kong J., Maligres P., Itoh T. [et al.]. Evolving to an ideal synthesis of molnupiravir, an investigational treatment for COVID-19. *ChemRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.13472373.v1>
29. Vasudevan N., Ahlqvist G. P., McGeough C. P., Paymode D. J., Cardoso F. S. P., Lucas T. [et al.]. A concise route to MK-4482 (EIDD-2801) from cytidine. *Chemical Communications*, 2020, vol. 56, no. 87, pp. 13363–13364. <https://doi.org/10.1039/D0CC05944>
30. Ahlqvist G. P., McGeough C. P., Senanayake C., Armstrong J. D., Yadaw A., Roy S., Ahmad S., Snead D. R., Jamison T. F. Progress toward a large-scale synthesis of molnupiravir (MK-4482, EIDD-2801) from cytidine. *ACS Omega*, 2021, vol. 6, no. 15, pp. 10396–10402. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00772>
31. Paymode D. J., Vasudevan N., Ahmad S., Kadam A. L., Cardoso F. S. P., Burns J., Cook D. W., Stringham R. W., Snead D. Toward a practical, two-step process for molnupiravir from cytidine. *ChemRxiv*, 2021. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.13550537.v1>
32. Burke A. J., Birmingham W. R., Zhuo Y., Thorpe T. W., Zucoloto da Costa B., Crawshaw R. [et al.]. An engineered cytidine deaminase for biocatalytic production of a key intermediate of the Covid-19 antiviral Molnupiravir. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, vol. 144, no. 9, pp. 3761–3765. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c11048>
33. Biričevskaya L. L., Zinchenko A. I., Kvasyuk E. I., Khanchevskii M. A., Doroshevich A. K. Synthesis of a phosphatidyl derivative β -D-N4-hydroxycytidine using microbial phospholipase D. *Tekhnologiya organicheskikh veshchestv: materialy 86-i nauchno-tekhnicheskoi konferentsii professorsko-prepodavatel'skogo sostava, nauchnykh sotrudnikov i aspirantov (Minsk, 31 yanvarya–12 fevralya 2022 goda)* [Technology of organic substances: materials of the 86th scientific and technical conference of faculty, researchers and graduate students (Minsk, January 31–February 12, 2022)]. Minsk, 2022, pp. 265–267 (in Russian).

Information about the authors

Larisa L. Biričevskaya – Ph. D (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: larbir@mail.ru

Evgeniy I. Kvasyuk – D. Sc. (Chem.), Professor. International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University (23/1, Dolgobrodskaya Str., 220070, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ekvasyuk@inbox.ru

Anatoliy I. Zinchenko – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by

Информация об авторах

Бирічевская Лариса Леонидовна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: larbir@mail.ru

Квасюк Евгений Иванович – д-р хим. наук, профессор. Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ (ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ekvasyuk@inbox.ru

Зинченко Анатолий Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by