

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2023. Т. 68, № 2

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2023. Т. 68, № 2

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

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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

Главный редактор

Олег Юрьевич Баранов – Отделение биологических наук Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

Редакционная коллегия

- М. Е. Никифоров** (*заместитель главного редактора*) – Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь
- В. И. Парфенов** (*заместитель главного редактора*) – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- В. Г. Колосовская** – *ведущий редактор журнала*
- И. Д. Вологовский** – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- А. Е. Гончаров** – 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. Лапан – 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
В. И. Торчик – 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. 2023. Т. 68, № 2.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*

Компьютерная верстка *Н. И. Кашуба*

Подписано в печать 07.04.2023. Выход в свет 27.04.2023. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 72 экз. Заказ 68.

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, 2023

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2023, vol. 68, no. 2

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

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Editor-in-Chief

Oleg Yu. Baranov – Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

Editorial Board

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

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

Valentina G. Kolosovskaya – *Managing Editor*

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

Andrei Y. Hancharou – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences
of Belarus, 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
Vladimir I. Torchuk – Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Igor D. Volotovskii – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

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

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

Address of the Editorial Office:

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

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.

Biological series, 2023, vol. 68, no. 2.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *N. I. Kashuba*

Sent for press 07.04.2023. Output 27.04.2023. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 72 copies. Order 68.
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, 2023

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

ЗМЕСТ

Балюк Н. В., Калацкая Ж. Н., Ламан Н. А. Защитные реакции инфицированных вирусом Y растений картофеля при обработке 24-эпибрассинолидом с салициловой кислотой и метилжасмонатом	95
Пархомчук О. Ю., Фомина Е. Г., Григорьева Е. Е. Получение экспрессирующего вектора, содержащего нуклеотидную последовательность гена, кодирующего белок Bet v 1 – основной аллерген пыльцы березы	104
Карманова В. В., Шабашова Т. Г., Гигиняк Ю. Г., Снявская М. Г. Видовой состав микромицетов станций «Прогресс», «Гора Вечерняя», «Новолазоровская» (Восточная Антарктида).....	114
Антонович А. О. Видовое разнообразие и эколого-трофическая структура агарикоидных грибов, произрастающих в условиях заповедного режима (Никорское лесничество, Национальный парк «Беловежская пуща»).....	124
Карпаева А. Ю. Сезонные изменения таксономической структуры и численности фитопланктона в пелагиали и литорали озера Обстерно.....	136
Алехнович А. В. Плодовитость длиннопалого рака <i>Pontastacus leptodactylus</i> в водоемах Беларуси	147
Веремеенко Е. Г., Бондарева К. С., Левданская А. И., Максимова Н. П. Молекулярно-генетическая характеристика мутантного штамма <i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i> с повышенной устойчивостью к пероксиду водорода.....	154
Ермошенко И. Г. Химический состав эфирного масла монарды дудчатой (<i>Monarda fistulosa</i> L.), культивируемой в условиях северо-востока Беларуси.....	163
Байчоров В. М., Мороз М. Д., Гигиняк Ю. Г., Гигиняк И. Ю., Куликова Е. А., Корзун Е. В. Макрозообентос родниковых комплексов на территории Гродненской области	169

CONTENTS

Baliuk N. V., Kalatskaja J. N., Laman N. A. Protective reactions of potato plants infected with Y virus when treated with 24-epibrassinolide with salicylic acid and methyl jasmonate.....	95
Parkhomchuk O. Yu., Fomina E. G., Grigorieva E. E. Obtaining an expression vector containing the nucleotide sequence of the gene encoding Bet v 1 – the major allergen of birch pollen.....	104
Karmanova V. V., Shabashova T. G., Hihiniak Yu. G., Sinyavskaya M. G. Species composition of micromycetes at the Progress, Vechernyaya Gora, and Novolazorevskaya stations (East Antarctica).....	114
Antonovich H. O. Species diversity and ecological and trophic structure of agaricoid mushrooms growing under the conditions of the reserved regime (Nikorsky forestry, Belovezhskaya Pushcha National Park).....	124
Karpaeva A. Yu. Seasonal changes in the taxonomical structure and abundance of phytoplankton in the pelagial and littoral zones of Obsterno Lake.....	136
Alekhovich A. V. Fecundity of the narrow-clawed crayfish <i>Pontastacus leptodactylus</i> in the water bodies of Belarus.....	147
Verameyenka K. G., Bondarava K. S., Liaudanskaya A. I., Maximova N. P. Molecular and genetic characterization of the <i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i> mutant strain with increased resistance to hydrogen peroxide	154
Ermoshenko I. G. Chemical composition of the essential oil of <i>Monarda fistulosa</i> L., cultivated in the north-east of Belarus.....	163
Baitchorov V. M., Moroz M. D., Hihiniak Yu. G., Giginyak I. Yu., Kulikova A. A., Korzun Ja. V. Macrozoobenthos of spring complexes on the territory of the Grodno region.....	169

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.19:632.3
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-95-103>

Поступила в редакцию 26.10.2022
Received 26.10.2022

Н. В. Балюк, Ж. Н. Калацкая, Н. А. Ламан

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

ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ Y РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ОБРАБОТКЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДОМ С САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ И МЕТИЛЖАСМОНОМ

Аннотация. Исследовано влияние 24-эпибрасинолида в сочетании с салициловой кислотой и метилжасмоном на развитие устойчивости оздоровленных микроклонально размноженных растений картофеля к вирусу Y, их физиологическое состояние, функционирование про-/антиоксидантной системы. Установлено, что в результате синергетического взаимодействия иммуностимуляторов эпибрасинолида с метилжасмоном или эпибрасинолида с метилжасмоном и салициловой кислотой в смесях против вирусной инфекции отмечаются снижение степени заражения листьев Y-вирусом картофеля, активация роста растений и низкий уровень индукции про- и антиоксидантных соединений, определяющих развитие оксидативного стресса. Выявленные положительные взаимодействия между брасиностероидами и метилжасмоном при подавлении вирусного заражения и активизации ростовых процессов подтверждают их взаимный вклад в поддержание баланса между ростом растений и иммунитетом.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, 24-эпибрасинолид, салициловая кислота, метилжасмонат, перекись водорода, продукты перекисного окисления липидов, антиоксидантные ферменты, пролин, фенольные соединения, вирус Y картофеля

Для цитирования: Балюк, Н. В. Защитные реакции инфицированных вирусом Y растений картофеля при обработке 24-эпибрасинолидом с салициловой кислотой и метилжасмоном / Н. В. Балюк, Ж. Н. Калацкая, Н. А. Ламан // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 95–103. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-95-103>

Natallia V. Baliuk, Joanna N. Kalatskaja, Nikolai A. Laman

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

PROTECTIVE REACTIONS OF POTATO PLANTS INFECTED WITH Y VIRUS WHEN TREATED WITH 24-EPIBRASSINOLIDE WITH SALICYLIC ACID AND METHYL JASMONATE

Abstract. The effect of 24-epibrassinolide on salicylic acid and methyl jasmonate on the health of microclonally propagated potato plants to the Y virus, their physiological state, and the functions of the pro-/antioxidant system was studied. A synergistic interaction of immunostimulants with methyl jasmonate or salicylic acid with methyl jasmonate and salicylic acid in mixtures against viral infection was revealed, which includes a decrease in the incidence of potato Y virus, activation of plant growth and a low level of detection of pro- and antioxidant reactions that cause the development of oxidative epidemic stress. The revealed positive effects between brassinosteroids and methyl jasmonate in the suppression of viral infection and activation of growth processes are manifested by their interchangeable contribution to the regulation of the balance between plant growth and immunity.

Keywords: *Solanum tuberosum*, 24-epibrassinolide, salicylic acid, methyl jasmonate, hydrogen peroxide, products of lipid peroxidation, antioxidant enzymes, proline, phenolic compounds, potato Y virus

For citation: Baliuk N. V., Kalatskaja J. N., Laman N. A. Protective reactions of potato plants infected with Y virus when treated with 24-epibrassinolide with salicylic acid and methyl jasmonate. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 95–103 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-95-103>

Введение. Растения картофеля постоянно подвергаются воздействию различных биотических (инфекции патогенов и травоядных насекомых) и абиотических (экстремальные температуры, засухи и засоления) стрессов [1, 2]. Особенно возросла вредоносность вирусных болезней, что связано с высокой степенью их распространенности и отсутствием у растений достаточного уровня устойчивости [3].

К механизмам, приводящим к повышению устойчивости растений к вирусным болезням, многие авторы относят индуцированную устойчивость, которая может регулироваться различными сигнальными молекулами, например салициловой кислотой (СК) и жасмонатами, а также развиваться по различным NPR1-зависимым и/или NPR1-независимым сигнальным путям [4].

Известно, что брассиностероиды (БС) играют ключевую роль в поддержании роста растений как в оптимальных условиях, так и в ответ на воздействие негативных факторов окружающей среды. В настоящее время имеется достаточно данных, подтверждающих, что модификация сигнального пути БС может быть стратегическим направлением для разработки более адаптированных сельскохозяйственных культур [5].

Известно о существовании перекрестных взаимосвязей между БС, СК и жасмонатами. Они включают в себя изменение экспрессии генов биосинтеза гормонов и/или сигнальных промежуточных звеньев, причем имеются сведения о независимых, антагонистических и синергических отношениях между БС, СК и жасмонатами при запуске адаптивных реакций [6, 7]. Следует отметить, что вирусная инфекция изменяет также гормональные взаимодействия, что может проявляться индукцией или интерференцией сигнальных путей при запуске защитных реакций [8, 9].

Таким образом, несмотря на применение в практике растениеводства различных иммуностимуляторов и индукторов устойчивости, механизмы их взаимодействия и совместного влияния на устойчивость растений к биотическим стрессам исследованы недостаточно.

Целью данной работы являлось изучение физиолого-биохимических изменений и степени вирусного заражения растений картофеля при применении иммуностимуляторов в ответ на инфицирование Y-вирусом картофеля.

Объекты и методы исследования. Опыты проведены на микроклонально размноженных растениях картофеля белорусской селекции сорта Бриз, предоставленных РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству». Адаптацию растений-регенерантов на этапе *ex vitro* осуществляли на почвогрунте из верхового торфа торговой марки Двина. Для изучения действия иммуностимуляторов растения выращивали при оптимальной влажности почвогрунта – 70–75 % от полной влагоемкости. Обработку проводили путем опрыскивания листовой поверхности растений иммуностимуляторами: 24-эпибрассинолидом (ЭБ) в концентрации 10^{-7} М с метиловым эфиром жасмоновой кислоты (МеЖ) – 10^{-7} М и/или СК – 10^{-6} М. Искусственное заражение Y-вирусом картофеля (YVK) проводили путем натирания клеточным соком растений-доноров при помощи мелкозернистой наждачной бумаги через 3 сут после обработки смесями. Растения выращивали при температуре 20–21 °С, освещенности 12 000 лк и фотопериоде 16/8 ч (день/ночь) в течение 14 дней после заражения. Затем растительный материал фиксировали в жидком азоте и оценивали влияние иммуностимуляторов на антивирусную активность и физиолого-биохимические показатели растений. YVK определяли с помощью иммуноферментного анализа согласно инструкции [10]. Содержание перекиси водорода (H_2O_2) определяли по цветной реакции с ксиленовым оранжевым [11]; сумму фенольных соединений – согласно методу [12], основанному на реакции фенолов с реактивом Фолина–Чокальтеу; интенсивность перекисного окисления липидов мембран (ПОЛ) – по способности 2-тиобарбитуровой кислоты связываться с липидными перекисями (методика описана в [13]); содержание пролина – по цветной реакции с нингидрином при нагревании [14]; извлечение фотосинтетических пигментов осуществляли 100 %-ным ацетоном по Lichtenthaler [15]. Общую активность растворимой пероксидазы определяли по Бояркину [16], используя в качестве хромогенного субстрата бензидин; активность глутатионредуктазы (ГР) – по кинетике окисления НАДФ(Н) согласно методике, предложенной Smith с соавт. [17]; активность аскорбатпероксидазы (АПО) – по реакции восстановления пероксида водорода аскорбатом согласно методу Nakano и Asada [18]; активность полифенолоксидазы – по изменению оптической плотности продуктов реакции, образующихся при окислении пирокатехина за определенный промежуток времени [19].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью общепринятых методов, используя для расчетов и построения графиков MS Excel. Каждый опыт проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. На гистограммах показаны средние арифметические значения с доверительными интервалами с уровнем надежности $p = 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Проведенный сравнительный анализ степени заражения УВК листьев картофеля выявил различия при обработке смесями иммуностимуляторов (рис. 1). Во всех опытных вариантах наблюдалось снижение вирусного заражения по отношению к инфицированному контролю. Смеси иммуностимуляторов ЭБ + СК и ЭБ + МеЖ наиболее эффективно проявляли антивирусную активность, что способствовало уменьшению накопления УВК в листьях картофеля на 41 и 43 % соответственно по сравнению с зараженным контролем (рис. 1).

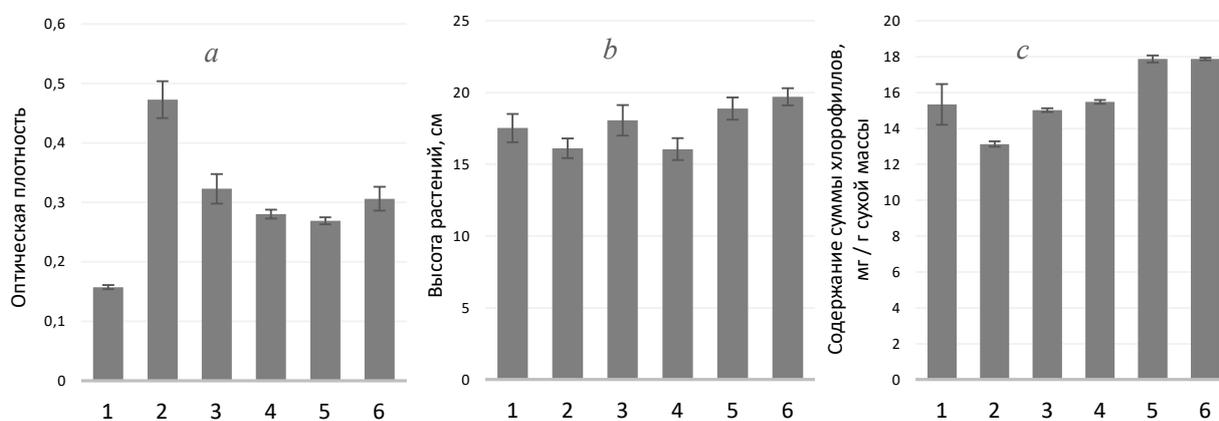


Рис. 1. Антивирусная активность (а), высота растений (б) и содержание суммы хлорофиллов (с) в листьях инфицированных растений картофеля при обработке смесями иммуностимуляторов: 1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБ; 4 – ЭБ + СК; 5 – ЭБ + МеЖ; 6 – ЭБ + СК + МеЖ

Fig. 1. Antiviral activity (a), plant height (b), and total chlorophyll content (c) in the leaves of infected potato plants when treated with mixtures of immunostimulants: 1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – 24-epibrassinolide; 4 – 24-epibrassinolide + salicylic acid; 5 – 24-epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – 24-epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate

При инфицировании УВК наблюдали замедление роста растений и снижение содержания фотосинтетических пигментов в листьях, однако обработки иммуностимуляторами, кроме смеси ЭБ + СК, поддерживали ростовую активность, а также способствовали накоплению фотосинтетических пигментов. Применение ЭБ + МеЖ и ЭБ + МеЖ + СК вызвало активизацию роста побегов на 17,3 и 22,4 % и увеличение содержания фотосинтетических пигментов на 36,5 и 36,4 % соответственно по сравнению с незараженным контролем (рис. 2). Таким образом, экзогенно примененные ЭБ и МеЖ или СК в смесях проявляют синергетический эффект по подавлению развития вирусной инфекции в листьях картофеля и способствуют активизации фотосинтетических процессов и росту растений. Ранее установлено, что БС и жасмоновая кислота (ЖК) при взаимном влиянии повышают устойчивость к вирусу полосатости риса, а сигнальный путь ЖК необходим для БС-опосредованной устойчивости к вирусу у риса [20]. Предполагают также, что пересечение сигнальных путей БС и СК обусловлено тем, что в трансдукции сигналов обоих фитогормонов задействован белок NPR1 [21], хотя немногочисленные исследования свидетельствуют о взаимном влиянии СК и БС в борьбе против вирусной инфекции. Известно, что в условиях стресса БС повышают активность различных антиоксидантных ферментов, эффективность фотосинтеза, содержание хлорофилла и углеводный обмен, ускоряя рост растений [22]. Также показано, что экзогенная СК в концентрации 2 мМ индуцирует устойчивость томатов в ответ на вирусную постинкуляцию. Обработанные СК растения имели нормальный ростовой фенотип [23].

При действии неблагоприятных факторов, включая вирусное заражение, в растительных клетках нарушается про- и антиоксидантный баланс, происходит накопление активных форм кислорода (АФК), в том числе перекиси водорода как наиболее стабильной молекулы, и активация реакций ПОЛ.

Установлено, что при заражении листьев растений УВК содержание H_2O_2 и малонового диальдегида (МДА) увеличивается на 62 и 18,1 % соответственно, но в обработанных растениях их уровень ниже, чем в зараженном необработанном контроле, кроме варианта обработки ЭБ,

когда содержание перекиси отмечалось на уровне инфицированного контроля. Максимально низкое содержание перекиси водорода и продуктов ПОЛ (на 30 и 26,5 % соответственно) относительно инфицированных растений наблюдалось при обработке ЭБ + МеЖ (рис. 2).

Ранее сообщалось, что экзогенная обработка разными концентрациями МеЖ приводила к снижению уровня МДА на растениях бобовых, инфицированных индийским вирусом желтой мозаики мунгбея, при этом предполагалось, что защитная роль МеЖ связана с восстановлением стабильности мембраны, а соответственно, и с предотвращением проникновения вируса [24]. Исследования W. Ahmad Lone с соавт. показали, что экзогенное добавление БС и ЖК снижает уровень МДА за счет накопления различных осмолитов, утилизирующих АФК и предотвращающих ПОЛ [25]. Полученные нами данные по уменьшению содержания продуктов ПОЛ и H_2O_2 подтверждают снижение повреждающего воздействия вирусной инфекции на растительные ткани при применении исследуемых обработок.

Считается, что в большинстве случаев изменение содержания H_2O_2 в листьях растений в процессе вирусного заражения может происходить в результате изменения активности антиоксидантных ферментов. На сегодняшний день, как предполагает мировое научное сообщество, одним из механизмов, объясняющих, как сигнальный путь БС опосредует адаптацию к стрессу, является активация антиоксидантов и стимулирование выработки осмопротекторов.

В процессе роста зараженных УВК растений наблюдали увеличение активности общей пероксидазы, АПО и ГР по отношению к незараженным растениям (рис. 2). Использование ЭБ + СК и ЭБ + СК + МеЖ способствовало повышению общей активности пероксидазы в данном

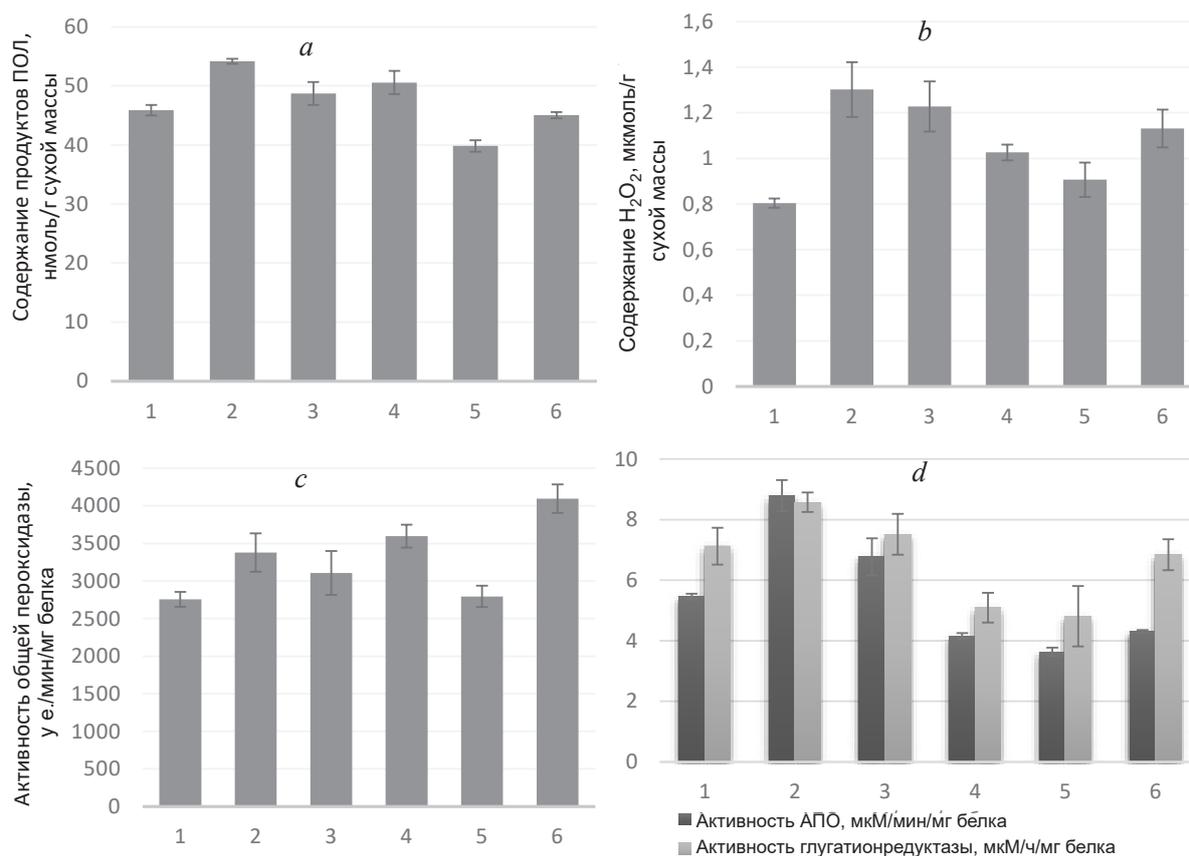


Рис. 2. Содержание продуктов ПОЛ (a) и H_2O_2 (b), активность общей пероксидазы (c), АПО и ГР (d) в листьях картофеля на фоне вирусного заражения при обработке растений иммуностимуляторами: 1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБ; 4 – ЭБ + СК; 5 – ЭБ + МеЖ; 6 – ЭБ + СК + МеЖ

Fig. 2. Content of lipid peroxidation products (a) and H_2O_2 (b), the activity of total peroxidase (c), ascorbate peroxidase and glutathione reductase (d) in potato leaves against the background of viral infection when treating plants with immunostimulants: 1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – 24-epibrassinolide; 4 – 24-epibrassinolide + salicylic acid; 5 – 24-epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – 24-epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate

эксперименте по сравнению с зараженным контролем. По-видимому, увеличение общей пероксидазной активности в этих вариантах связано с тем, что в ответ на обработку СК запускается также синтез пероксидаз III класса, отнесенных к патоген-связанным белкам семейства PR-9, среди которых анионные пероксидазы, имеющие более высокую специфичность к бензидину, вызывают упрочнение клеточной стенки путем ее суберинизации и лигнификации [26, 27]. Кроме того, в работе [28] также показано, что при заражении растений пшеницы фитопатогеном *Septoria nodorum* СК оказывала более значительное влияние на экспрессию генов анионной пероксидазы по сравнению с ЖК.

Применение ЭБ + МеЖ снижало общую пероксидазную активность, а применение всех исследуемых обработок, особенно ЭБ + МеЖ и ЭБ + СК, приводило к низкой активности ферментов аскорбат-глутатионового цикла, где отмечалось и самое низкое содержание перекиси водорода.

Значимыми показателями функционирования защитной системы растения являются активность полифенолоксидазы (ПФО), участвующей в лигнификации клеточной стенки, а также содержание фенольных соединений, играющих важную роль в формировании ответной реакции растительного организма на внедрение патогена [29]. Активность ПФО при заражении растений УВК выросла практически в 2 раза, а общее содержание фенольных соединений увеличилось на 30 % (рис. 3). Исследуемые смеси иммуностимуляторов вызвали существенное снижение активности ПФО, наименьшая ее активность выявлена в варианте обработки ЭБ + МеЖ, где она была практически в 2 раза ниже значений, регистрируемых в незараженном контроле. Кроме варианта с применением ЭБ, когда содержание фенольных соединений уменьшилось по сравнению с необработанным контролем, в остальных опытных вариантах содержание фенольных соединений находилось на уровне значений, характерных для незараженных растений.

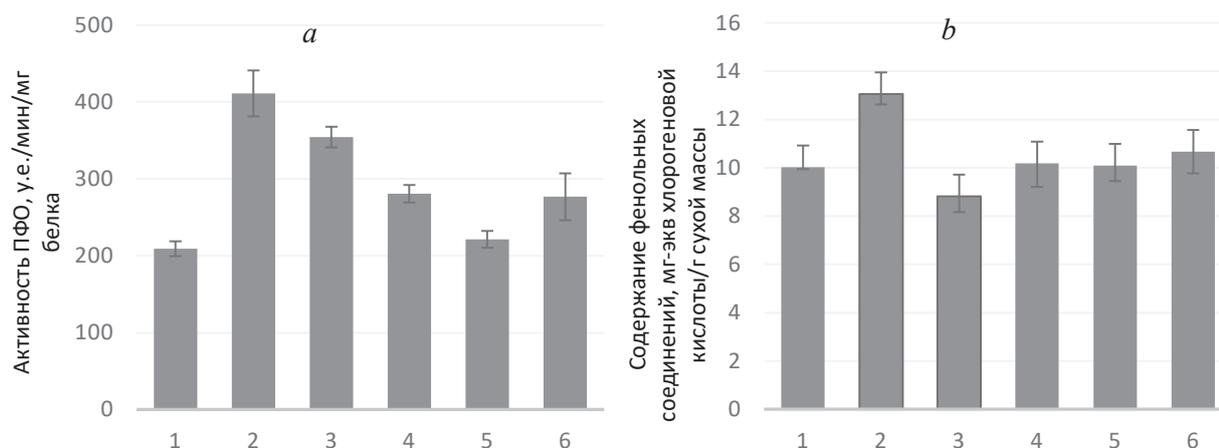


Рис. 3. Активность ПФО (a) и содержание фенольных соединений (b) в листьях картофеля на фоне вирусного заражения при обработке растений иммуностимуляторами: 1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБ; 4 – ЭБ + СК; 5 – ЭБ + МеЖ; 6 – ЭБ + СК + МеЖ

Fig. 3. Polyphenol oxidase activity (a) and the content of phenolic compounds (b) in potato leaves against the background of viral infection when treating plants with immunostimulants: 1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – 24-epibrassinolide; 4 – 24-epibrassinolide + salicylic acid; 5 – 24-epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – 24-epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate

Известно, что пролин не только обладает осмопротекторными свойствами, но и является одним из индикаторов активации системной защиты растений, выполняя сигнальную функцию при взаимодействии растений с патогенами [30]. Во многих исследованиях показано, что содержание пролина увеличивается в период формирования защитных реакций растений против вирусных патогенов [31].

В нашем исследовании заражение растений УВК вызвало снижение содержания пролина (рис. 4). В работе [32] было показано, что искусственное заражение вирусом мозаики репы (TuMV) влияет на закрытие устьиц и улучшает водный баланс у арабидопсиса, что обусловлено

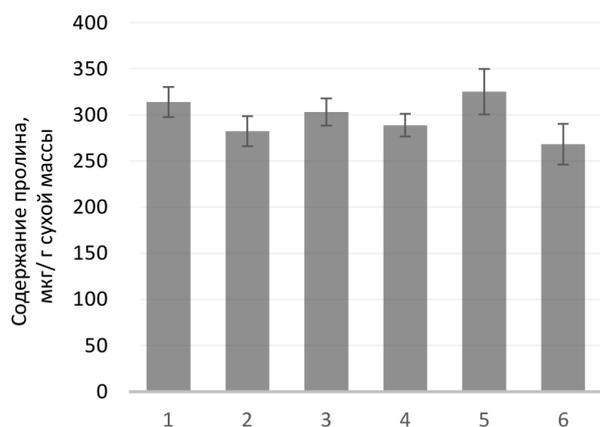


Рис. 4. Содержание пролина в листьях картофеля на фоне вирусного заражения при обработке растений иммуностимуляторами: 1 – контроль; 2 – YVК; 3 – ЭБ; 4 – ЭБ + СК; 5 – ЭБ + МеЖ; 6 – ЭБ + СК + МеЖ

Fig. 4. Proline content in potato leaves against the background of viral infection when treating plants with immunostimulants: 1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – 24-epibrassinolide; 4 – 24-epibrassinolide + salicylic acid; 5 – 24-epibrassinolide+methyl jasmonate; 6 – 24-epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate

снижением газообмена у инфицированных растений и уменьшением потерь воды. Одновременно выявлено увеличение содержания СК и абсцизовой кислоты в TuMV-инфицированных растениях. Можно предположить, что и YVК способен несколько оптимизировать водный баланс растений картофеля, не вызывая тем самым накопление осмолита. В то же время, несмотря на то что ЭБ оказывал стимулирующее действие на выработку осмопротекторов [33], значения пролина в обработанных растениях оставались на уровне зараженного контроля, кроме случаев обработки ЭБ + МеЖ, когда его содержание возросло на 15,2 %, что подтверждает синергетическое взаимодействие ЭБ и МеЖ.

Таким образом, снижение степени вирусного заражения, активный рост растений и низкий уровень индукции про- и антиоксидантных соединений, определяющий развитие оксидативного стресса, указывают на защитную функцию всех исследуемых смесей иммуностимуляторов, из которых наиболее эффективным оказалось применение ЭБ + МеЖ и ЭБ + МеЖ + СК.

Заключение. Исследовано влияние ЭБ в сочетании с СК и МеЖ на развитие устойчивости оздоровленных микроклонально размноженных растений картофеля к вирусу Y, их физиологическое состояние, функционирование про-/антиоксидантной системы (содержание пероксида водорода и продуктов ПОЛ, активность антиоксидантных ферментов, содержание фенольных соединений и пролина). Во всех опытных вариантах наблюдалось снижение вирусного заражения по отношению к инфицированному контролю. Смеси иммуностимуляторов ЭБ + СК и ЭБ + МеЖ наиболее эффективно проявляли антивирусную активность. Применение ЭБ + МеЖ и ЭБ + МеЖ + СК вызвало активизацию роста побегов и увеличение содержания фотосинтетических пигментов по сравнению с незараженным контролем. Обработки (особенно смесью ЭБ + МеЖ) привели к снижению содержания перекиси водорода, продуктов ПОЛ, фенольных соединений и к низкой активности антиоксидантных ферментов. При обработке ЭБ + МеЖ возросло содержание пролина по сравнению с его уровнем у зараженных контрольных растений.

Выявлено синергетическое взаимодействие смесей иммуностимуляторов ЭБ с МеЖ или ЭБ с МеЖ и СК по отношению к вирусной инфекции, заключающееся в снижении степени заражения листьев Y-вирусом картофеля, активном росте растений и низком уровне индукции про- и антиоксидантных соединений, определяющих развитие оксидативного стресса. Выявленные положительные взаимодействия между БС и МеЖ при подавлении вирусного заражения и активизации роста подтверждают их взаимный вклад в поддержание баланса между ростом растений и иммунитетом. Понимание физиолого-биохимических механизмов воздействия иммуностимуляторов при абиотическом и биотическом стрессе необходимо для разработки стратегии повышения стресс-толерантности сельскохозяйственных культур.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта НАН Беларуси № 2022-28-026 на 2022 г. и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № B22M-037).

Acknowledgements. This work was financially supported by the National Academy of Sciences of Belarus grant no. 2022-28-026 for 2022 and the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (project no. B22M-037).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Изучение распространенности и структуры популяций возбудителей вирусных болезней картофеля в Республике Беларусь / В. А. Козлов [и др.] // Земледелие и растениеводство. – 2022. – № 1. – С. 32–36.
2. Climate change and consequences for potato production: a review of tolerance to emerging abiotic stress / T. S. George [et al.] // Potato Res. – 2017. – Vol. 60, N 3–4. – P. 239–268. <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9366-3>
3. Jones, R. A. C. Global plant virus disease pandemics and epidemics / R. A. C. Jones // Plants. – 2021. – Vol. 10, N 2. – P. 233. <https://doi.org/10.3390/plants10020233>
4. Биологические методы защиты растений от вирусов: проблемы и перспективы (обзор) / И. В. Максимов [и др.] // Прикл. биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56. – № 6. – С. 536–550.
5. Grabovskaya, N. I. Protective effect of preparations containing brassinosteroids on plants exposed to environmental lead contamination: a review / N. I. Grabovskaya, O. N. Babenko // J. Sib. Fed. Univ. Biol. – 2020. – Vol. 13, N 2. – P. 129–163. <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0322>
6. Brassinosteroids in Plant Developmental Biology and Stress Tolerance / eds. : G. J. Ahammed, A. Sharma, J. Yu. – [S. n.] : Academic Press, 2019. – 326 p.
7. Wasternack, C. Jasmonates: news on occurrence, biosynthesis, metabolism and action of an ancient group of signaling compounds / C. Wasternack, M. Strnad // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, N 9. – Art. 2539. <https://doi.org/10.3390/ijms19092539>
8. Zhao, S. Current understanding of the interplays between host hormones and plant viral infections / S. Zhao, Y. Li // PLoS Pathogens. – 2021. – Vol. 17, N 2. – P. e1009242. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009242>
9. Benefits of brassinosteroid crosstalk / S. P. Choudhary [et al.] // Trends Plant Sci. – 2012. – Vol. 17, N 10. – P. 594–605. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.012>
10. Инструкция по использованию иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля / Рос. с.-х. акад. НПО по картофелеводству. – М. : Коренево, 2016. – 8 с.
11. Extracellular H₂O₂ induced by Oligagalacturonides is not involved in the inhibition of the auxin-regulated roIB gene expression in tobacco leaf explants / D. Bellincampi [et al.] // Plant Physiol. – 2000. – Vol. 122, N 4. – P. 1379–1385. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1379>
12. Singleton, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent / V. L. Singleton, J. A. Rossi // Am. J. Enol. Viticult. – 1965. – Vol. 16, N 3. – P. 144–158.
13. Copper-induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus* / C. H. R. De Vos [et al.] // J. Plant Physiol. – 1989. – Vol. 135, N 2. – P. 164–169. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(89\)80171-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(89)80171-3)
14. Bates, L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies / L. S. Bates, R. P. Waldren, J. D. Teare // Plant Soil. – 1973. – Vol. 39, N 1. – P. 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
15. Lichtenthaler, K. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents / K. Lichtenthaler, A. R. Welburn // Biochem. Soc. Transact. – 1983. – Vol. 11, N 5. – P. 591–592. <http://doi.org/10.1042/bst0110591>
16. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л. : Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. – 429 с.
17. Smith, I. Assays of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic) acid / I. Smith, T. Virlbeller, C. Thornl // Anal. Biochem. – 1988. – Vol. 175, N 2. – P. 408–413. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
18. Nakano, Y. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts / Y. Nakano, K. Asada // Plant Cell Physiol. – 1981. – Vol. 22, N 5. – P. 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
19. Бояркин, А. Н. Быстрый метод определения активности полифенолоксидазы (модифицированный) / А. Н. Бояркин // Тр. Ин-та физиологии растений АН СССР. – 1954. – Т. 8, № 2. – С. 398–403.
20. Rice stripe virus suppresses jasmonic acid-mediated resistance by hijacking brassinosteroid signaling pathway in rice / J. Hu [et al.] // PLoS Pathogens. – 2020. – Vol. 16, N 8. – P. e1008801. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008801>
21. Divi, U. K. Brassinosteroid mediated stress tolerance in Arabidopsis shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways / U. K. Divi, T. Rahman, P. Krishna // BMC Plant Biol. – 2010. – Vol. 10. – Art. 151. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-151>
22. Влияние 24-эпибрасинолида на рост проростков капусты при холодовом стрессе / Р. Ф. Гималов [и др.] // Агробиохимия. – 2006. – Т. 8. – С. 34–37.
23. Salicylic acid-induced differential resistance to the Tomato yellow leaf curl virus among resistant and susceptible tomato cultivars / T. Li [et al.] // BMC Plant Biol. – 2019. – Vol. 19, N 1. – Art. 173. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1784-0>
24. Chakraborty, N. Exogenous application of methyl jasmonate induces defense response and develops tolerance against mungbean yellow mosaic India virus in *Vigna mungo* / N. Chakraborty, J. Basak // Function. Plant Biol. – 2018. – Vol. 46, N 1. – P. 69–81. <https://doi.org/10.1071/FP18168>
25. Exogenous brassinosteroid and jasmonic acid improve drought tolerance in *Brassica rapa* L. genotypes by modulating osmolytes, antioxidants and photosynthetic system / W. Ahmad Lone [et al.] // Plant Cell Reports. – 2022. – Vol. 41, N 3. – P. 603–617. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02763-9>
26. The activity of peroxidase in various cell fractions of wheat plants infected with *Septoria nodorum* berk / Z. R. Yusupova [et al.] // Rus. J. Plant Physiol. – 2006. – Vol. 53, N 6. – P. 807–813. <https://doi.org/10.1134/S1021443706060124>
27. Structural-functional features of plant isoperoxidases / I. V. Maksimov [et al.] // Biochemistry (Moscow). – 2011. – Vol. 76, N 6. – P. 609–621. <https://doi.org/10.1134/S0006297911060010>

28. Влияние салициловой и жасмоновой кислот на активность и спектр защитных белков пшеницы при заражении возбудителем септориоза / Л. Г. Яруллина [и др.] // Изв. Рос. акад. наук. Сер. биол. – 2015. – № 1. – С. 34–41.
29. Polyphenol oxidase as a biochemical seed defense mechanism / E. P. Fuerst [et al.] // *Frontiers Plant Sci.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 689. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00689>
30. Колупаев, Ю. Е. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях / Ю. Е. Колупаев, А. А. Вайнер, Т. О. Ястреб // Вісн. Харківськ. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014. – № 2. – С. 6–22.
31. Physiological and biochemical responses in *Cucurbita pepo* leaves associated with some elicitors-induced systemic resistance against Zucchini yellow mosaic virus / M. R. Sofy [et al.] // *Int. J. Modern Botany.* – 2014. – Vol. 4, N 2. – P. 61–74. <https://doi.org/10.5923/j.ijmb.20140402.04>
32. TuMV triggers stomatal closure but reduces drought tolerance in *Arabidopsis* / C. A. Manacorda [et al.] // *Plant, Cell Environment.* – 2021. – Vol. 44, N 5. – P. 1399–1416. <https://doi.org/10.1111/pce.14024>
33. Overexpression of the vascular brassinosteroid receptor BRL3 confers drought resistance without penalizing plant growth / N. Fabregas [et al.] // *Nat. Commun.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 4680. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06861-3>

References

1. Kozlov V. A., Rusetskii N. V., Chashinskii A. V., Mikhal'kovich I. A. Study of the prevalence and structure of populations of pathogens of potato viral diseases in the Republic of Belarus. *Zemledelie i rastenievodstvo* [Agriculture and crop production], 2022, no. 1, pp. 32–36 (in Russian).
2. George T. S., Taylor M. A., Dodd I. C., White Ph. J. Climate change and consequences for potato production: a review of tolerance to emerging abiotic stress. *Potato Research*, 2017, vol. 60, no. 3–4, pp. 239–268. <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9366-3>
3. Jones R. A. C. Global plant virus disease pandemics and epidemics. *Plants*, 2021, vol. 10, no. 2, p. 233. <https://doi.org/10.3390/plants10020233>
4. Maksimov I. V., Sorokan' A. V., Shein M. Yu., Khairullin R. M. Biological Methods of Plant Protection from Viruses: Problems and Prospects (Review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied biochemistry and microbiology], 2020, vol. 56, no. 6, pp. 536–550 (in Russian).
5. Grabovskaya N. I., Babenko O. N. Protective effect of preparations containing brassinosteroids on plants exposed to environmental lead contamination: a review. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2020, vol. 13, no. 2, pp. 129–163. <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0322>
6. Ahammed G. J., Sharma A., Yu. J. (eds.). *Brassinosteroids in Plant Developmental Biology and Stress*. Academic Press, 2019. 326 p.
7. Wasternack C., Strnad M. Jasmonates: news on occurrence, biosynthesis, metabolism and action of an ancient group of signaling compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 9, art. 2539. <https://doi.org/10.3390/ijms19092539>
8. Zhao S., Li Y. Current understanding of the interplays between host hormones and plant viral infections. *PLoS Pathogens*, 2021, vol. 17, no. 2, p. e1009242. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009242>
9. Choudhary S. P., Yu J. Q., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Tran L. S. P. Benefits of brassinosteroid crosstalk. *Trends in Plant Science*, 2019, vol. 17, no. 10, pp. 594–605. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.012>
10. Instructions for using the ELISA diagnostic kit for the detection of potato viruses. Moscow, Korenevo Publ., 2016. 8 p. (in Russian).
11. Bellincampi D., Dipierro N., Salvi G., Cervone F., De Lorenzo, G. Extracellular H₂O₂ induced by oligogalacturonides is not involved in the inhibition of the auxin-regulated rolB gene expression in tobacco leaf explants. *Plant Physiology*, 2000, vol. 122, no. 4, pp. 1379–1386. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1379>
12. Singleton V. L., Rossi J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, vol. 16, no. 3, pp. 144–158.
13. De Vos C. R., Schat H., Vooijs R., Ernst W. H. Copper-induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus*. *Journal of Plant Physiology*, 1989, vol. 135, no. 2, pp. 164–169. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(89\)80171-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(89)80171-3)
14. Bates L. S., Waldren R. P., Teare J. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 1973, vol. 39, no. 1, pp. 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
15. Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 1983, vol. 11, no. 5, pp. 591–592. <http://doi.org/10.1042/bst0110591>
16. Ermakov A. I., Arasimovich V. V., Yarosh N. P., Peruanskii Yu. V., Lukovnikova G. A., Ikonnikova M. I. *Methods of biochemical research of plants. 3rd ed.* Leningrad, Agropromizdat (Leningradskoe otdelenie) Publ., 1987. 429 p. (in Russian).
17. Smith I. K., Vierheller T. L., Thorne C. A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry*, 1988, vol. 175, no. 2, pp. 408–413. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
18. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, vol. 22, no. 5, pp. 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
19. Boyarkin A. N. Rapid method for determining polyphenol oxidase activity (modified). *Trudy Instituta fiziologii rastenii Akademii nauk SSSR* [Proceedings of the Institute of Plant Physiology of the USSR Academy of Sciences], 1954, vol. 8, no. 2, pp. 398–403 (in Russian).

20. Hu J., Huang J., Xu H., Wang Y., Li C., Wen P., Wan J. Rice stripe virus suppresses jasmonic acid-mediated resistance by hijacking brassinosteroid signaling pathway in rice. *PLoS Pathogens*, 2020, vol. 16, no. 8, p. e1008801. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008801>
21. Divi U. K., Rahman T., Krishna P. Brassinosteroid mediated stress tolerance in Arabidopsis shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways. *BMC Plant Biology*, 2010, vol. 10, art. 151. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-151>
22. Gimalov F. R., Matniyazov R. T., Chemeris A. V., Vakhitov V. A. Effect of 24-epibrassinolide on the growth of cabbage seedlings under cold stress. *Agrokhimiya* [Agrochemistry], 2006, vol. 8, pp. 34–37 (in Russian).
23. Li T., Huang Y., Xu Z. S., Wang F., Xiong A. S. Salicylic acid-induced differential resistance to the Tomato yellow leaf curl virus among resistant and susceptible tomato cultivars. *BMC Plant Biology*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 173. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1784-0>
24. Chakraborty N., Basak J. Exogenous application of methyl jasmonate induces defense response and develops tolerance against mungbean yellow mosaic India virus in *Vigna mungo*. *Functional Plant Biology*, 2018, vol. 46, no. 1, pp. 69–81. <https://doi.org/10.1071/FP18168>
25. Ahmad Lone W., Majeed N., Yaqoob U., John R. Exogenous brassinosteroid and jasmonic acid improve drought tolerance in *Brassica rapa* L. genotypes by modulating osmolytes, antioxidants and photosynthetic system. *Plant Cell Reports*, 2022, vol. 41, no. 3, pp. 603–617. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02763-9>
26. Yusupova Z. R., Khairullin R. M., Maksimov I. V. The activity of peroxidase in various cell fractions of wheat plants infected with *Septoria nodorum* berk. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2006, vol. 53, no. 6, pp. 807–813. <https://doi.org/10.1134/S1021443706060124>
27. Maksimov I. V., Cherepanova E. A., Burkhanova G. F., Sorokan A. V., Kuzmina O. I. Structural-functional features of plant isoperoxidases. *Biochemistry (Moscow)*, 2011, vol. 76, no. 6, pp. 609–621. <https://doi.org/10.1134/S0006297911060010>
28. Yarullina L. G., Kasimova R. I., Burkhanova G. F., Akhatova A. R. The effect of salicylic and jasmonic acids on the activity and range of protective proteins during the infection of wheat by the septorioses pathogen. *Biology Bulletin*, 2015, vol. 42, no. 1, pp. 27–33. <https://doi.org/10.1134/S1062359014050124>
29. Fuerst E. P., Okubara P. A., Anderson J. V., Morris C. F. Polyphenol oxidase as a biochemical seed defense mechanism. *Frontiers in Plant Science*, 2014, vol. 5, art. 689. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00689>
30. Kolupaev Yu. E., Vainer A. A., Yastreba T. O. Proline: physiological functions and regulation of content in plants under stress conditions. *Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo agrarnogo universitetu. Seriya Biologiya* [Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology], 2014, vol. 2, pp. 6–22 (in Ukrainian).
31. Sofy M. R., Sharaf A. M. A., Noufl M., Sofy A. R. Physiological and biochemical responses in *Cucurbita pepo* leaves associated with some elicitors-induced systemic resistance against Zucchini yellow mosaic virus. *International Journal of Modern Botany*, 2014, vol. 4, no. 2, pp. 61–74. <https://doi.org/10.5923/j.ijmb.20140402.04>
32. Manacorda C. A., Gudesblat G., Sutka M., Alemanno S., Peluso F., Oricchio P., Asurmendi S. TuMV triggers stomatal closure but reduces drought tolerance in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*, 2021, vol. 44, no. 5, pp. 1399–1416. <https://doi.org/10.1111/pce.14024>
33. Fábregas N., Lozano-Elena F., Blasco-Escámez D., Tohge T., Martínez-Andújar C., Albacete A., Caño-Delgado A. I. Overexpression of the vascular brassinosteroid receptor BRL3 confers drought resistance without penalizing plant growth. *Nature Communications*, 2018, vol. 9, art. 4680. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06861-3>

Информация об авторах

Балюк Наталья Валерьевна – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: balyuck.natalya@yandex.ru

Калацкая Жанна Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalatskayaj@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>

Ламан Николай Афанасьевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: laman.nikolai@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>

Information about the authors

Natalia V. Balyuk – Postgraduate student, 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: balyuck.natalya@yandex.ru

Joanna N. Kalatskaja – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalatskayaj@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: laman.nikolai@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.117.2.053.4.083.32:616-022.854:582.878.43

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-104-113>

Поступила в редакцию 15.11.2022

Received 15.11.2022

О. Ю. Пархомчук, Е. Г. Фомина, Е. Е. Григорьева

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

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ВЕКТОРА, СОДЕРЖАЩЕГО НУКЛЕОТИДНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО БЕЛОК BET v 1 – ОСНОВНОЙ АЛЛЕРГЕН ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ

Аннотация. Создана экспрессирующая векторная конструкция, содержащая ген, кодирующий наиболее распространенную изоформу Bet v 1.0101 белка Bet v 1 – главного аллергена пыльцы березы, для последующей экспрессии белка в прокариотической системе *Escherichia coli*. В качестве матрицы использована тотальная РНК пыльцы березы повислой, собранной на территории Республики Беларусь. Получение экспрессирующего вектора pJC40-Bet v 1 осуществлялось при помощи молекулярно-генетических методов: клонирования, лигирования, трансформации. Специфичность клонированного фрагмента подтверждалась методом секвенирования. В ходе исследования в кодирующей части клонированного гена установлено 14 редких для *Escherichia coli* кодонов. Триплеты расположены в нуклеотидной последовательности равномерно, кластеризация кодонов наблюдалась только в двух случаях. Общее процентное содержание редких триплетов (8,75 %) и рассчитанное значение уровня адаптации кодонов (0,57) позволяет прогнозировать достаточно эффективную экспрессию исследуемого гена.

Ключевые слова: pJC40, Bet v 1, аллерген, экспрессирующий вектор, рекомбинантный белок

Для цитирования: Получение экспрессирующего вектора, содержащего нуклеотидную последовательность гена, кодирующего белок Bet v 1 – основной аллерген пыльцы березы / О. Ю. Пархомчук, Е. Г. Фомина, Е. Е. Григорьева // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 104–113. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-104-113>

Olga Yu. Parkhomchuk, Elena G. Fomina, Elena E. Grigorieva

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

OBTAINING AN EXPRESSION VECTOR CONTAINING THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE GENE ENCODING BET V 1 – THE MAJOR ALLERGEN OF BIRCH POLLEN

Abstract. An expression vector containing the gene encoding the most common isoform Bet v 1.0101 of the Bet v 1 protein, the major birch pollen allergen, was created for a subsequent expression in the prokaryotic system of *Escherichia coli*. Total RNA from birch pollen collected in Belarus was used as a matrix. The expression vector pJC40-Bet v 1 was obtained using molecular-genetic methods: cloning, ligation, transformation. The specificity of the cloned fragment was confirmed by sequencing. During the study, 14 rare *Escherichia coli* codons were identified in the coding part of the cloned gene. The triplets were evenly arranged in the nucleotide sequence; codon clustering was observed only in two cases. The total percentage of rare triplets (8.75 %) and the calculated value of the codon adaptation level (0.57) allow us to predict a sufficiently efficient expression of the studied gene. The data obtained will be used in the synthesis of the recombinant polypeptide Bet v 1.0101.

Keywords: pJC40, Bet v 1, allergen, expressing vector, recombinant protein

For citation: Parkhomchuk O. Yu., Fomina E. G., Grigorieva E. E. Obtaining an expression vector containing the nucleotide sequence of the gene encoding Bet v 1 – the major allergen of birch pollen. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 104–113 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-104-113>

Введение. Пыльцевая аллергия (поллиноз) занимает одно из ведущих мест среди аллергических заболеваний. В Европейском регионе значимой является сенсibilизация к пыльце березы. Основная масса пациентов (более 95 %), у которых наблюдается аллергическая реакция на пыльцу березы, реагирует на белок Bet v 1. Этот белок, представляющий собой мажорный аллерген пыльцы березы, имеет молекулярную массу 17 кДа и состоит из 160 аминокислот. Bet v 1 относится к семейству PR-10 (pathogenesis-related class 10) [1–4].

Известно, что белки PR-10 кодируются небольшим числом генов, которые экспрессируются в основном в корнях и индуцируются во всех частях растения в ответ на различные стрессы и повреждение тканей [5]. Гены, кодирующие белки PR-10 березы повислой (*Betula pendula*), сгруппированы в пять подсемейств. В пыльце экспрессируются семь генов первых двух подсемейств, которые кодируют различные варианты (изоформы) Bet v 1. Транскрипция этих генов происходит на поздних стадиях развития пыльников, но факторы, вызывающие транскрипцию, до конца не изучены [6, 7].

В настоящее время номенклатура изоформ Bet v 1 включает в себя 32 последовательности из NCBI (National Center for Biotechnology Information), которые соответствуют 27 вариантам трех изоаллергенов Bet v 1 [8]. На способность связываться с IgE значительное влияние могут оказывать даже несколько аминокислот, которыми изоформы отличаются между собой [9, 10]. Выявлены значительные различия в составе и количестве вариантов аллергена Bet v 1 при исследовании экстрактов пыльцы березы различных видов. По данным литературы установлено, что в пыльце одного дерева экспрессируется от 4 до 6 изоформ белка Bet v 1 [7].

При диагностике аллергической реакции на пыльцу березы в основном используются водные экстракты. Такие экстракты представляют собой смесь как аллергенного, так и неаллергенного материала и характеризуются высокой вариативностью концентрации и биологической активности аллергенов. Преодолеть данные проблемы очень сложно ввиду индивидуальных свойств источника получения экстракта и необходимости применения различных методов, которые для этого используются [11].

Для решения ряда задач в диагностике и аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) аллергических заболеваний, в частности для синтеза рекомбинантных аллергенов, широко применяются рекомбинантные технологии. Известно, что при проведении АСИТ с применением натуральных экстрактов аллергенов, для которых возможна вариативность композиции и концентрации аллергенов, возрастает риск нежелательных реакций. С целью совершенствования АСИТ предлагается использовать аллергенные компоненты с установленной биологической активностью, которые хорошо охарактеризованы и свободны от посторонних примесей [12–16].

Несмотря на то что подходы к производству рекомбинантных аллергенов предлагаются достаточно давно (с конца 1980-х годов), получение каждого целевого полипептида требует индивидуального подхода и экспериментальной реализации. Производство таких аллергенов не зависит от нативного источника и дает возможность получить аллергенный компонент с заранее известными свойствами, что очень важно для диагностики и лечения аллергических заболеваний [17].

Цель исследования – получение векторной конструкции для последующей экспрессии рекомбинантного Bet v 1 в прокариотической системе.

Подобные исследования на территории Республики Беларусь не проводились.

Объекты и методы исследования. Исходным материалом являлась пыльца березы повислой, собранная на территории Республики Беларусь.

Для выделения РНК был использован метод, основанный на применении LiCl [18].

Синтез кДНК на матрице РНК осуществляли с помощью реакции обратной транскрипции с применением набора реагентов RevertAid First cDNA Synthesis Kit производства Thermo Scientific, США, согласно прилагаемой инструкции.

Амплификаты гена, кодирующего белок Bet v 1, получали методом ПЦР с использованием специфических олигонуклеотидных последовательностей, синтезированных ООО «АртБиоТех», Республика Беларусь. Праймеры содержали дополнительные сайты рестрикции для последующего клонирования в экспрессирующий вектор pJС40 [19]:

BetvldH 5' – CGCGAAGCTTATGGGTGTTTTCAATTACGA – 3' (прямой),

BetvlrX 5' – GCGCCTCGAGGTTGTAGGCATCGGAGTG – 3' (обратный).

Состав реакционной смеси: по 15 пмоль праймеров (ООО «АртБиоТех»), 2,5 мкл 10× буфера, 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ дНТФ, 1 мкл кДНК, 1,25 ед. ArtStart-полимеразы (ООО «АртБиоТех»), деионизованная вода до конечного объема 25 мкл. Режим амплификации: 95 °С – 2 мин; 95 °С – 45 с, 55 °С – 45 с, 72 °С – 45 с (количество циклов – 35); 72 °С – 10 мин.

Для анализа фрагментов ДНК, полученных в результате проведения ПЦР, использовали метод электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле. Электрофорез проводили в трис-боратном буфере, pH 8,0, в течение 45 мин. Визуализацию ДНК осуществляли с помощью окрашивания геля бромистым этидием с последующим просмотром в УФ.

Для клонирования очищенного ПЦР-фрагмента в полилинкер вектора pJET1.2/blunt (Thermo Scientific) по тупым концам использовали набор CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific) в соответствии с инструкцией производителя. Переклонирование фрагмента в экспрессирующую плазмиду pJC40 осуществляли по липким концам. Для рестрикции вектора pJC40 и амплифицированного фрагмента в течение 1 ч при + 37 °С использовали по 5 U ферментов HindIII (Fermentas, Литва) и XhoI (Thermo Scientific), конечный объем смеси составил 20 мкл. После инкубации ферменты рестрикции инактивировали в течение 20 мин при + 80 °С. При дальнейшем рестрикционном анализе полученного экспрессирующего вектора дополнительно использовали эндонуклеазу SmaI (Thermo Scientific). Инкубацию плазмиды с рестриктазой осуществляли при + 30 °С в течение 1 ч.

Лигирование проводили в объеме 20 мкл. В качестве лигирующего фермента использовали T4 DNA Ligase (Thermo Scientific) согласно инструкции производителя.

Трансформацию бактериальных клеток *Escherichia coli XLBlue (recA1 endA1 gyrA96 thi-1 hsdR17 supE44 relA1 lac [F' proAB lacI qZAM15 Tn10 (Tet r)])* лигазной смесью осуществляли методом теплового шока. Селекцию трансформированных бактериальных клеток проводили на среде LB (Titan Biotech, India), содержащей 50 мкг/мл ампициллина.

Выделение плазмидной ДНК осуществляли колоночным методом с использованием набора реагентов GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Scientific) в соответствии с инструкцией производителя.

Специфичность клонированного фрагмента подтверждали с помощью секвенирования по методу Сэнгера [20]. При постановке секвенирующей реакции использовали набор Brilliant Dye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Scientific) в соответствии с инструкцией производителя; для разделения фрагментов ДНК, полученных в результате секвенирующей реакции, – метод капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе 3500 xL Applied Biosystems; для последующей обработки полученных данных – программу Bioedit Sequence Alignment Editor, version 7.2.5.

Результаты и их обсуждение. Получение любого рекомбинантного белка в гетерологичной системе (в нашем случае это биосинтез белка растительной клетки в бактериальном хозяине) предполагает целый ряд последовательных этапов, каждый из которых требует решения определенных задач: от выделения генетического материала до получения целевого продукта [21]. Общая схема проведенных экспериментов представлена на рис. 1. Они включали получение амплифицированного фрагмента гена, кодирующего главный аллерген пыльцы березы, подтверждение его специфичности в составе плазмиды как уникальной матрицы изоформы Bet v 1.0101 и получение экспрессирующего вектора для доставки копии гена в бактериальную клетку с последующей трансляцией белка под контролем индуцибельного промотора.

Известно, что растительная клетка представляет собой сложный биологический источник для выделения генетического материала. Особенно это касается молекул РНК. В первую очередь это связано с наличием жесткой полисахаридной стенки, разрушение которой занимает значительное количество времени исследователя. Негативное влияние на процесс выделения оказывают также пигменты и накопленные в растениях вторичные метаболиты, такие как терпены, алкалоиды, полифенолы. Эти соединения не только усложняют сам процесс получения РНК, но и отрицательно влияют на качество генетического материала. В качестве источника получения РНК могут быть использованы различные части растения (листья, корни, пыльца, семена), для которых характерны свои особенности, влияющие на качество и количество выделенных нуклеиновых кислот. В частности, для пыльцы характерны не только избыточная пигментация, но и наличие плотных стенок, которые необходимы для выживания в неблагоприятных природных условиях [22, 23]. Все это необходимо учитывать перед проведением и выбором метода исследования. С целью определения наиболее эффективной методики ранее нами был проведен



Рис. 1. Схема, отражающая этапы получения вектора экспрессии

Fig. 1. Scheme reflecting the stages of obtaining an expression vector

сравнительный анализ двух способов выделения РНК из растительного материала [24]. Установлено, что метод, основанный на применении LiCl, более эффективен, чем метод с использованием коммерческого реагента Trizol (рис. 2).

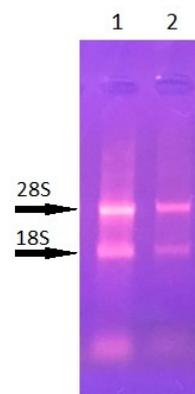
На рис. 2 видно наличие двух дискретных 28S и 18S фракций рибосомальной РНК, отсутствие деградированной нуклеиновой кислоты. Таким образом, применение анионного детергента (10 % SDS) и большого количества LiCl (4 М) способствует более полной экстракции и осаждению РНК из растительного сырья [18].

Выделенная РНК была использована в качестве матрицы для амплификации гена, кодирующего главный аллерген пыльцы березы в реакции ОТ-ПЦР с искусственно синтезированной парой праймеров, в структуру которых дополнительно вводили сайты узнавания для специфических рестриктаз HindIII и XhoI. Эти сайты входят в состав полилинкера экспрессирующего вектора рJC40 и отсутствуют в клонированной последовательности. Теоретически рассчитанная масса ампликона составляет 500 пар нуклеотидных оснований (п. о.) с учетом сайтов рестрикции.

В результате постановки обратной транскрипции на РНК-матрице и дальнейшей ПЦР был получен фрагмент ДНК соответствующего размера (рис. 3).

Рис. 2. Электрофоретический анализ РНК, выделенной двумя методами: 1 – с применением LiCl; 2 – с применением реагента TRIzol

Fig. 2. Electrophoretic analysis of RNA isolated by two methods: 1 – based on using LiCl; 2 – based on using TRIzol reagent



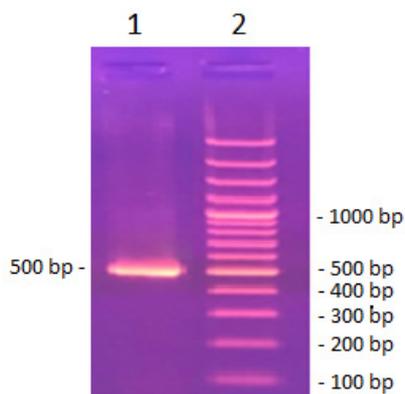


Рис. 3. Электрофоретический анализ амплифицированного фрагмента в 1,5 %-ном агарозном геле: 1 – амплификат, полученный с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров BetvIdH и BetvI rX; 2 – ДНК-маркер O’RangeRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, США)

Fig. 3. Electrophoretic analysis of the amplified fragment in 1.5 % agarose gel: 1 – amplified fragment obtained using specific oligonucleotide primers BetvIdH and BetvI rX; 2 – O’RangeRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, USA)

В связи с тем что в пыльце одного дерева экспрессируется несколько изоформ белка Bet v 1, необходимо было среди смеси разнообразных ампликонов выбрать последовательность, соответствующую изоформе Bet v 1.0101, и именно ее использовать в качестве специфического фрагмента, который будет клонирован в экспрессирующий вектор. По литературным данным, Bet v 1.0101 является преобладающей изоформой в пыльцевых экстрактах [1]. С этой целью полученный ПЦР-продукт был очищен и лигирован в полилинкер вектора pJET1.2/blunt как удобной модели, позволяющей клонировать вставку по тупым концам и отбирать клоны исключительно с гибридной плазмидой, так как наличие суицидного гена в исходной плазмиде приводит к элиминации бактериальных клеток с плазмидной ДНК без вставки. Таким образом, преимущество данного вектора заключается в упрощении процессов клонирования (исключается этап рестрикции и очистки фрагментов) и отбора клеточных клонов с гибридной плазмидой. Достоинством

Birch mRNA for pollen allergen Betv1

Sequence ID: [X15877.1](#) Length: 691 Number of Matches: 1

Range 1: 49 to 528 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
887 bits(480)	0.0	480/480(100%)	0/480(0%)	Plus/Plus
Query 1	ATGGGTGTTTTCAATTACGAAACTGAGACCACCTCTGTTATCCCAGCAGCTCGACTGTTC	60		
Sbjct 49	ATGGGTGTTTTCAATTACGAAACTGAGACCACCTCTGTTATCCCAGCAGCTCGACTGTTC	108		
Query 61	AAGGCCTTTATCCTTGATGGCGATAATCTCTTCCAAAGGTTGCACCCCAAGCCATTAGC	120		
Sbjct 109	AAGGCCTTTATCCTTGATGGCGATAATCTCTTCCAAAGGTTGCACCCCAAGCCATTAGC	168		
Query 121	AGTGTGAAAACATTGAAGGAAATGGAGGGCCTGGAACCATTAAGAAGATCAGCTTTCCC	180		
Sbjct 169	AGTGTGAAAACATTGAAGGAAATGGAGGGCCTGGAACCATTAAGAAGATCAGCTTTCCC	228		
Query 181	GAAGGCTTCCCTTCAAGTACGTGAAGGACAGAGTTGATGAGGTGGACCACACAAACTTC	240		
Sbjct 229	GAAGGCTTCCCTTCAAGTACGTGAAGGACAGAGTTGATGAGGTGGACCACACAAACTTC	288		
Query 241	AAATACAATTACAGCGTGATCGAGGGCGGTCCCATAGGCGACACATTGGAGAAGATCTCC	300		
Sbjct 289	AAATACAATTACAGCGTGATCGAGGGCGGTCCCATAGGCGACACATTGGAGAAGATCTCC	348		
Query 301	AACGAGATAAAGATAGTGGCAACCCCTGATGGAGGATCCATCTTGAAGATCAGCAACAAG	360		
Sbjct 349	AACGAGATAAAGATAGTGGCAACCCCTGATGGAGGATCCATCTTGAAGATCAGCAACAAG	408		
Query 361	TACCACACCAAAGGTGACCATGAGGTGAAGGCAGAGCAGGTTAAGGCAAGTAAAGAAATG	420		
Sbjct 409	TACCACACCAAAGGTGACCATGAGGTGAAGGCAGAGCAGGTTAAGGCAAGTAAAGAAATG	468		
Query 421	GGCGAGACACTTTTGAGGGCCGTTGAGAGCTACCTCTTGGCACACTCCGATGCCTACAAC	480		
Sbjct 469	GGCGAGACACTTTTGAGGGCCGTTGAGAGCTACCTCTTGGCACACTCCGATGCCTACAAC	528		

Рис. 4. Результаты поиска идентичных нуклеотидных последовательностей в NCBI

Fig. 4. Search results of identical nucleotide sequences in NCBI

коммерческого набора для клонирования, включающего плазмиду pJET1.2/blunt, является наличие праймеров для секвенирования, комплементарных плазмидной ДНК, и описание условий постановки секвенирующей реакции. С использованием секвенирования определяли изоформы гена *Bet v 1*, содержащиеся в полученных рекомбинантных плаزمиде рJET1.2/blunt (рис. 4). Среди гибридных плазмид была отобрана плазида, которая в качестве вставки содержала изоформу *Bet v 1.0101* главного аллергена пыльцы березы.

Результаты секвенирования доказывают, что полученная нуклеотидная последовательность идентична последовательности изоформы *Bet v 1.0101* (идентификационный номер в GenBank X15877.1).

К настоящему времени известно достаточно большое количество причин, приводящих к отсутствию или малоэффективной экспрессии клонированных гетерологичных генов в прокариотической системе [21]. Одной из них может быть наличие в клонированной последовательности растительной клетки редко встречающихся у *Escherichia coli* кодонов. Наличие таких триплетов может привести к преждевременной терминации трансляции и/или к снижению ее эффективности.

На следующем этапе был проведен анализ частоты встречаемости редких для *Escherichia coli* аминокислотных кодонов в составе фрагмента гена, кодирующего данную изоформу белка. Известно, что различия в частоте встречаемости синонимичных кодонов в прокариотических и эукариотических клетках также могут значительно влиять на уровень экспрессии клонированных генов [25]. Наиболее редко встречающимися кодонами в *Escherichia coli* являются AGG/CGA/AGA (Arg, аргинин), CTA (Leu, лейцин), CCC (Pro, пролин), ATA (Ile, изолейцин) и GGA (Gly, глутамин). Частота редких для *Escherichia coli* кодонов была проанализирована при помощи интерактивной формы на сайте molbiol.ru и базы данных Codon Usage Database [26, 27]. Установлено, что структурная часть гена, кодирующего *Bet v 1.0101*, содержит 14 редко встречающихся в *Escherichia coli* изоакцепторных кодонов: три триплета, кодирующих аргинин (AGG/CGA/AGA, частота встречаемости 2,6; 4,1; 4,5 на 1000 соответственно), три триплета, кодирующих пролин (CCC, частота встречаемости 5,6 на 1000), три триплета, кодирующих изолейцин (ATA, частота встречаемости 8,3 на 1000) и пять триплетов, кодирующих глицин (GGA, частота встречаемости 10,7 на 1000) (рис. 5).

Анализ показал, что редкие для *Escherichia coli* кодоны в клонированной последовательности распределены равномерно. На рис. 5 видно, что среди 160 триплетов белка 14 составляют редкие кодоны, причем в двух случаях наблюдается тандемное расположение некоторых кодонов. Доля редких триплетов составляет 8,75 %. Для оценки уровня экспрессии гена в гетерологичной системе часто используется такой параметр, как индекс адаптации кодонов (CAI – codon adaptation index – CAI). Значение CAI, рассчитанное на основе кодового состава у *E. coli* с помощью online ресурса www.biologicscorp.com, для клонированной последовательности в данном случае составляет 0,57, что характерно для белков со средним уровнем экспрессии.

На следующем этапе полученный на матрице гибридной плазмидной ДНК рJET-Bet v 1 фрагмент гена, кодирующий аллерген *Bet v 1.0101*, был очищен, обработан рестриктазами HindIII

```

1 atgggtgtt tcaattacga aactgagacc acctctgtta tcccagcagc
51 tcgactgttc aaggecttta tcctgatgg cgataatctc tttccaaagg
101 ttgcaccca agccattagc agtgttgaaa acattgaaag aaatggaggg
151 cctggaacca ttaagaagat cagctttccc gaaggcttcc ctttcaagta
201 cgtgaaggac agagttgatg aggtggacca cacaaacttc aaatacaatt
251 acagcgtgat cgaggcgggt cccataggcg acacattgga gaagatctcc
301 aacgagataa agatagtggc aaccctgat ggaggatcca tcttgaagat
351 cagcaacaag taccacacca aaggtgacca tgaggatgaag gcagagcagg
401 ttaaggcaag taaagaaatg ggcgagacac ttttgagggc cgttgagagc
451 tacctottgg cacactccga tgctacaac

```

Рис. 5. Нуклеотидная последовательность структурной части гена, кодирующего *Bet v 1.0101* (цветом выделены редко встречающиеся в *Escherichia coli* кодоны)

Fig. 5. Nucleotide sequence of the structural part of the gene encoding *Bet v 1.0101* (codons rarely found in *Escherichia coli* are highlighted in color)

и XhoI и лигирован в полилинкер экспрессирующего вектора pJC40. Использование именно этой плазмиды объясняется рядом преимуществ. Одним из них является небольшой размер вектора (2402 п. о.), что способствует субклонированию больших вставок. Важную роль играет присутствие в клетках в большом количестве копий плазмиды, что оказывает значительное влияние на результативность эксперимента. Экспрессия белка в pJC40 осуществляется под контролем промотора РНК-полимеразы T7, который широко используется для эффективной и специфичной экспрессии клонированных генов в прокариотической системе. Кроме того, данный вектор содержит участок, кодирующий гистиридиновый «хвост», который при добавлении к целевому полипептиду позволяет значительно облегчить его выделение и очистку. Для очистки таких белков чаще всего используется металл-хелатная хроматография [19].

Трансформированные лигазной смесью клетки *E. coli*, штамм XLBlue, выращивали при +37 °C на твердой питательной среде, содержащей ампициллин в концентрации 50 мкг/мл.

После выделения плазмидной ДНК проведен последовательный рестрикционный анализ по сайтам рестрикции, узнаваемым эндонуклеазами HindIII и XhoI, HindIII и SmaI с целью подтверждения наличия вставки специфической нуклеотидной последовательности. Использование фермента SmaI обусловлено наличием соответствующего сайта рестрикции в экспрессирующем векторе pJC40 и его отсутствием в плазмиде pJET1.2/blunt. На рис. 6 показаны результаты рестрикции гибридной плазмиды pJC40-Bet v 1.

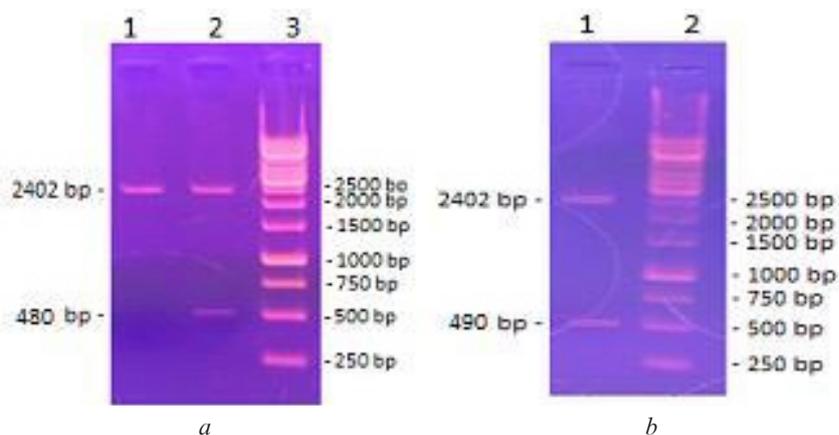


Рис. 6. Электрофоретический анализ в 1 %-ном агарозном геле продуктов рестрикции рекомбинантной плазмиды pJC40-Bet v 1 рестриктазами HindIII и XhoI (a), HindIII и SmaI (b) (a: 1 – линейная форма исходной плазмиды pJC40; 2 – продукты рестрикции гибридной плазмиды pJC40-Bet v 1; 3 – ДНК-маркер GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific, США); b: 1 – продукты рестрикции гибридной плазмиды pJC40-Bet v 1; 2 – ДНК-маркер GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific, США))

Fig. 6. Electrophoretic analysis in 1 % agarose gel of restriction products of recombinant plasmid pJC40-Bet v 1 by HindIII and XhoI (a), HindIII and SmaI (b) (a: 1 – linear form of the original plasmid pJC40; 2 – restriction products of hybrid plasmid pJC40-Bet v 1; 3 – DNA-marker GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific, USA); b: 1 – restriction products of hybrid plasmid pJC40-Bet v 1; 2 – GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific, USA))

Рестрикционный анализ показал наличие специфической вставки клонированного фрагмента ДНК в составе полученной рекомбинантной плазмиды. Размеры полученных фрагментов с учетом положения сайтов рестрикции, узнаваемых эндонуклеазами HindIII и XhoI, HindIII и SmaI в векторе, составили 480 и 490 п. о. соответственно. Таким образом, получена экспрессирующая векторная конструкция pJC40-Bet v 1, которая в качестве вставки содержит последовательность, кодирующую наиболее распространенную изоформу главного аллергена пыльцы березы Bet v 1.0101.

Заключение. В настоящее время во всем мире отмечается интенсивный рост аллергических заболеваний. Использование рекомбинантных технологий и методов молекулярного клонирования в аллергологии позволило определить белковые компоненты, отвечающие за формирование аллергической реакции. В частности, установлено, что мажорный белок пыльцы березы Bet v 1

является одной из основных причин весеннего поллиноза. Единственным лечением данной патологии на сегодняшний день является АСИТ. Для предотвращения побочных эффектов и повышения эффективности АСИТ при производстве аллергенных компонентов, необходимых для данного вида терапии, применяются рекомбинантные технологии. С помощью синтеза рекомбинантных аллергенов стало возможным получение охарактеризованного пептида с известными аллергенными, иммуногенными и толерогенными свойствами. При этом его производство не зависит от нативного источника аллергена. Для наработки такого рекомбинантного аллергенного компонента необходимо использовать экспрессирующие векторные системы. Кроме того, при синтезе белка немаловажно учитывать влияние различных факторов на уровень экспрессии целевого пептида. К таким факторам относится наличие редких для используемой системы экспрессии кодонов. В ходе исследования был проведен анализ частоты встречаемости редких для *Escherichia coli* кодонов в структурной части клонированного гена с целью дальнейшей оценки корреляции с уровнем экспрессии кодируемого белка. В результате проведенной работы была получена векторная конструкция рJC40- Bet v 1, которая содержит ген, кодирующий изоформу белка Bet v 1 – Bet v 1.0101.

Результаты исследования планируется использовать в процессе получения рекомбинантного полипептида Bet v 1.0101, изучения его свойств и возможности применения в диагностике аллергических заболеваний и в АСИТ.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Республики Беларусь (распоряжение Президента Республики Беларусь от 1 марта 2022 г. № 45рп «О предоставлении грантов Президента Республики Беларусь на 2022 год»).

Acknowledgements. This research was supported by the grant of the President of the Republic of Belarus (Order of the President of the Republic of Belarus of March 1, 2022 № 45rp «On granting grants of the President of the Republic of Belarus for the year 2022»).

Список использованных источников

1. Proteomic profiling of birch (*Betula verrucosa*) pollen extracts from different origins / A. Erler [et al.] // *Proteomics*. – 2011. – Vol. 11, N 8. – P. 1486–1498. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000624>
2. Comparative proteomics of common allergenic tree pollens of birch, alder, and hazel / B. Darnhofer [et al.] // *Allergy*. – 2021. – Vol. 76, N 6. – P. 1743–1753. <https://doi.org/10.1111/all.14694>
3. Ligand binding of PR-10 proteins with a particular focus on the Bet v 1 allergen family / L. Aglas [et al.] // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2020. – Vol. 20, N 7. – P. 25. <https://doi.org/10.1007/s11882-020-00918-4>
4. Molecular aspects of allergens and allergy / R. Valenta [et al.] // *Adv. Immunol.* – 2018. – Vol. 138. – P. 195–256. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2018.03.002>
5. PR-белки с рибонуклеазной активностью и устойчивостью растений к патогенным грибам / Е. А. Филипенко [и др.] // *Вавилов. журн. генетики и селекции*. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 326–334.
6. Conformational flexibility differentiates naturally occurring Bet v 1 isoforms / S. Grutsch [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, N 6. – Art. 1192. <https://doi.org/10.3390/ijms18061192>
7. Proteomic analysis of the major birch allergen Bet v 1 predicts allergenicity for 15 birch species / M. F. Schenk [et al.] // *J. Proteomics*. – 2011. – Vol. 74, N 8. – P. 1290–1300. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.03.021>
8. Allergen Nomenclature [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.allergen.org/index.php>. – Date of access: 30.09.2022.
9. Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective / C. Asam [et al.] // *Allergy*. – 2015. – Vol. 70, N 10. – P. 1201–1211. <https://doi.org/10.1111/all.12696>
10. Ligand recognition of the major birch pollen allergen Bet v 1 is isoform dependent / C. Seutter von Loetzen [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10, N 6. – P. e0128677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128677>
11. Valenta, R. Recombinant allergy vaccines based on allergen-derived B cell epitopes / R. Valenta, R. Campana, V. Niederberger // *Immunol. Lett.* – 2017. – Vol. 189. – P. 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.04.015>
12. Мировые стандарты аллерген-специфической иммунотерапии. Научный обзор [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.allergen.ru/images/staloral_10.pdf. – Дата доступа: 30.09.2022.
13. 111 years of allergen-immunotherapy: A long and successful history of the only available disease-modifier in allergic diseases / J. Gutermuth [et al.] // *Allerg. Select.* – 2022. – Vol. 6, N 1. – P. 248–258. <https://doi.org/10.5414/ALX02330E>
14. Birch pollen allergy in Europe / T. Biedermann [et al.] // *Allergy*. – 2019. – Vol. 74, N 7. – P. 1237–1248. <https://doi.org/10.1111/all.13758>
15. Recombinant allergens for immunotherapy: state of the art / Y. Zhernov [et al.] // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2019. – Vol. 19, N 4. – P. 402–414. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000536>
16. Epitope specificity determines cross-protection of a AIT-induced IgG4 antibody / E. Gadermaier [et al.] // *Allergy*. – 2016. – Vol. 71, N 1. – P. 36–46. <https://doi.org/10.1111/all.12710>
17. Tscheppe, A. Recombinant allergens in structural biology, diagnosis, and immunotherapy / A. Tscheppe, H. Breiteneder // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2017. – Vol. 172, N 4. – P. 187–202. <https://doi.org/10.1159/000464104>

18. Isolation of total RNA from pollens / K. Bijli [et al.] // *Preparat. Biochem. Biotechnol.* – 2001. – Vol. 31, N 2. – P. 155–162. <https://doi.org/10.1081/PB-100103381>
19. Clos, J. pJC20 and pJC40 – two high-copy-number vectors for T7 RNA polymerase-dependent expression of recombinant genes in *Escherichia coli* / J. Clos, S. Brandau // *Protein Expr. Purif.* – 1994. – Vol. 5, N 2. – P. 133–137. <https://doi.org/10.1006/prep.1994.1020>
20. 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>
21. Tripathi, N. K. Recent developments in bioprocessing of recombinant proteins: expression hosts and process development / N. K. Tripathi, A. Shrivastava // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 7. – Art. 420. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00420>
22. Varma, A. Plant genomic DNA isolation: an art or a science / A. Varma, H. Padh, N. Shrivastava // *Biotechnol. J.* – 2007. – Vol. 2, N 3. – P. 386–392. <https://doi.org/10.1002/biot.200600195>
23. Рябушкина, Н. А. Специфика выделения ДНК из растительных объектов / Н. А. Рябушкина, М. Е. Омашева, Н. Н. Галиакбаров // *Биотехнология. Теория и практика.* – 2012. – № 2. – С. 9–26.
24. Сравнительный анализ двух методов выделения РНК из растительного сырья / О. Ю. Пархомчук [и др.] // *Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. науч. тр. / под ред. В. А. Горбунова.* – Минск, 2019. – Вып. 12. – С. 237–238.
25. Brule, C. Synonymous codons: choose wisely for expression / C. Brule, E. J. Grayhack // *Trends Genet.* – 2017. – Vol. 33, N 4. – P. 283–297. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.02.001>
26. MolBiol.ru [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.molbiol.ru/scripts/01_11.html. – Дата доступа: 30.09.2022.
27. Codon Usage Database [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.kazusa.or.jp/codon/>. – Date of access: 30.09.2022.

References

1. Erler A., Hawranek T., Krückemeier L., Asam C., Egger M., Ferreira F., Briza P. Proteomic profiling of birch (*Betula verrucosa*) pollen extracts from different origins. *Proteomics*, 2011, vol. 11, no. 8, pp. 1486–1498. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000624>
2. Darnhofer B., Tomin T., Liesinger L., Schittmayer M., Tomazic P. V., Birner-Gruenberger R. Comparative proteomics of common allergenic tree pollens of birch, alder, and hazel. *Allergy*, 2021, vol. 76, no. 6, pp. 1743–1753. <https://doi.org/10.1111/all.14694>
3. Aglas L., Soh W. T., Kraiem A., Wenger M., Brandstetter H., Ferreira F. Ligand binding of PR-10 proteins with a particular focus on the Bet v 1 allergen family. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2020, vol. 20, no. 7, p. 25. <https://doi.org/10.1007/s11882-020-00918-4>
4. Valenta R., Karaulov A., Niederberger V., Gattinger P., van Hage M., Flicker S. [et al.]. Molecular aspects of allergens and allergy. *Advances in Immunology*, 2018, vol. 138, pp. 195–256. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2018.03.002>
5. Filipenko E. A., Kochetov A. V., Kanayama Y., Malinovskii V. I., Shumnyi V. K. Association between PR proteins with ribonuclease activity and plant resistance against pathogenic fungi. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* [Vavilov journal of genetics and breeding], 2013, vol. 17, no. 2, pp. 326–334 (in Russian).
6. Grutsch S., Fuchs J. E., Ahammer L., Kamenik A. S., Liedl K. R., Tollinger M. Conformational flexibility differentiates naturally occurring Bet v 1 isoforms. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, vol. 18, no. 6, art. 1192. <https://doi.org/10.3390/ijms18061192>
7. Schenk M. F., Cordewener J. H., America A. H., Peters J., Smulders M. J., Gilissen L. J. Proteomic analysis of the major birch allergen Bet v 1 predicts allergenicity for 15 birch species. *Journal of Proteomics*, 2011, vol. 74, no. 8, pp. 1290–1300. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.03.0218>
8. *Allergen Nomenclature*. Available at: <http://www.allergen.org/index.php> (accessed 30.09.2022).
9. Asam C., Hofer H., Wolf M., Aglas L., Wallner M. Tree pollen allergens—an update from a molecular perspective. *Allergy*, 2015, vol. 70, no. 10, pp. 1201–1211. <https://doi.org/10.1111/all.12696>
10. Seutter von Loetzen C., Jacob T., Hartl-Spiegelhauer O., Vogel L., Schiller D., Spörlein-Güttler C., Schobert R., Vieths S., Hartl M. J., Rösch P. Ligand recognition of the major birch pollen allergen Bet v 1 is isoform dependent. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, p. e0128677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128677>
11. Valenta R., Campana R., Niederberger V. Recombinant allergy vaccines based on allergen-derived B cell epitopes. *Immunology Letters*, 2017, vol. 189, pp. 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.04.015>
12. *World standards of allergen-specific immunotherapy. Scientific review*. Available at: http://www.allergen.ru/images/staloral_10.pdf (accessed 30.09.2022) (in Russian).
13. Guterma J., Grosber M., Pfaar O., Bergmann K. C., Ring J. 111 years of allergen-immunotherapy: A long and successful history of the only available disease-modifier in allergic diseases. *Allergologie Select*, 2022, vol. 6, no. 1, pp. 248–258. <https://doi.org/10.5414/ALX02330E>
14. Biedermann T., Winther L., Till S. J., Panzner P., Knulst A., Valovirta E. Birch pollen allergy in Europe. *Allergy*, 2019, vol. 74, no. 7, pp. 1237–1248. <https://doi.org/10.1111/all.13758>
15. Zhernov Y., Curin M., Khaitov M., Karaulov A., Valenta R. Recombinant allergens for immunotherapy: state of the art. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2019, vol. 19, no. 4, pp. 402–414. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000536>

16. Gadermaier E., James L. K., Shamji M. H., Blatt K., Fauland K., Zieglmayer P. [et al.]. Epitope specificity determines cross-protection of a SIT-induced IgG4 antibody. *Allergy*, 2016, vol. 71, no. 1, pp. 36–46. <https://doi.org/10.1111/all.12710>
17. Tscheppe A., Breiteneder H. Recombinant allergens in structural biology, diagnosis, and immunotherapy. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2017, vol. 172, no. 4, pp. 187–202. <https://doi.org/10.1159/000464104>
18. Bijli K. M., Singh B. P., Sridhara S., Arora N. Isolation of total RNA from pollens. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 2001, vol. 31, no. 2, pp. 155–162. <https://doi.org/10.1081/PB-100103381>
19. Clos J., Brandau S. pJC20 and pJC40 – two high-copy-number vectors for T7 RNA polymerase-dependent expression of recombinant genes in *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, 1994, vol. 5, no. 2, pp. 133–137. <https://doi.org/10.1006/prep.1994.1020>
20. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, vol. 74, no. 12, pp. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
21. Tripathi N. K., Shrivastava A. Recent developments in bioprocessing of recombinant proteins: expression hosts and process development. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, vol. 7, art. 420. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00420>
22. Varma A., Padh H., Shrivastava N. Plant genomic DNA isolation: an art or a science. *Biotechnology Journal*, 2007, vol. 2, no. 3, pp. 386–392. <https://doi.org/10.1002/biot.200600195>
23. Ryabushkina N. A., Omasheva M. E., Galiakparov N. N. Specifics of DNA extraction from plant objects. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, 2012, no. 2, pp. 9–26 (in Russian).
24. Parkhomchuk O. Yu., Zverko V. V., Grigor'eva E. E., Fomina E. G. Comparative analysis of two methods for RNA isolation from plant raw materials. *Sovremennye problemy infektsionnoi patologii cheloveka: sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 12* [Modern problems of infectious morbidity in humans: a collection of scientific papers. Iss. 12]. Minsk, 2019, pp. 237–238 (in Russian).
25. Brule C. E., Grayhack E. J. Synonymous codons: choose wisely for expression. *Trends in Genetics*, 2017, vol. 33, no. 4, pp. 283–297. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.02.001>
26. *MolBiol.ru*. Available at: http://www.molbiol.ru/scripts/01_11.html (accessed 30.09.2022) (in Russian).
27. *Codon Usage Database*. Available at: <http://www.kazusa.or.jp/codon/> (accessed 30.09.2022).

Информация об авторах

Пархомчук Ольга Юрьевна – аспирант, мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olgaparhom4uk@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3984-393X>

Фомина Елена Георгиевна – д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: feg1@tut.by. <https://orcid.org/0000-0003-3028-1176>

Григорьева Елена Евгеньевна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: grigus@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3919-0625>

Information about the authors

Olga Yu. Parkhomchuk – Postgraduate student, Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olgaparhom4uk@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3984-393X>

Elena G. Fomina – D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: feg1@tut.by. <https://orcid.org/0000-0003-3028-1176>

Elena E. Grigorieva – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: grigus@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3919-0625>

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 582.28:579:26
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-114-123>

Поступила в редакцию 25.08.2022
Received 25.08.2022

В. В. Карманова¹, Т. Г. Шабашова¹, Ю. Г. Гигиняк², М. Г. Синявская³

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

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

³*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОМИЦЕТОВ СТАНЦИЙ «ПРОГРЕСС», «ГОРА ВЕЧЕРНЯЯ», «НОВОЛАЗОРЕВСКАЯ» (ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА)

Аннотация. Выживание грибов в условиях Антарктиды является следствием как экологического отбора, так и эволюционной адаптации, выраженной на физиологическом, метаболическом, структурном и генетическом уровнях. Изучение биологического разнообразия антарктических микромицетов поможет глубже понять пути расселения грибов в биосфере, а также расширить представление о их роли в экстремальных экосистемах. Кроме того, микромицеты экстремальных местообитаний являются перспективными объектами биотехнологии.

Цель работы – изучить видовое разнообразие микроскопических грибов на природных и антропогенно привнесенных субстратах в районах исследовательских станций Восточной Антарктиды «Прогресс», «Новолазаревская», «Гора Вечерняя».

Для выделения микромицетов в культуру использовали традиционные методы изоляции, для определения видового состава – микробиологические и молекулярно-генетические методы. В результате микологического анализа выделено и идентифицировано 46 видов микромицетов из 22 родов и 3 отделов. Проведен таксономический анализ, определены доминирующие роды микромицетов: *Thelebolus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geomyces*, *Cadophora*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*. Проанализированы температурозависимые особенности роста микромицетов: большинство выделенных видов являются психротрофными. Наибольшее видовое разнообразие микромицетов отмечено в почвах с растительными и животными включениями, наименьшее – на каменистых субстратах.

Ключевые слова: антарктические микромицеты, экстремофильные микроорганизмы, психрофилия, антарктические оазисы, таксономическое разнообразие, экстремальные экосистемы

Для цитирования: Видовой состав микромицетов станций «Прогресс», «Гора Вечерняя», «Новолазаревская» (Восточная Антарктида) / В. В. Карманова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бiял. навук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 114–123. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-114-123>

Veronika V. Karmanova¹, Tatyana G. Shabashova¹, Yury G. Hihiniak², Marina G. Sinyavskaya³

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

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

³*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

SPECIES COMPOSITION OF MICROMYCETES AT THE PROGRESS, VECHERNYAYA GORA, AND NOVOLAZOREVSKAYA STATIONS (EAST ANTARCTICA)

Abstract. The survival of fungi in Antarctica is a consequence of both ecological selection and evolutionary adaptation expressed at the physiological, metabolic, structural, and genetic levels. The study of the biological diversity of Antarctic micromycetes will help us to better understand the pathways of fungal dispersal in the biosphere, as well as to broaden our understanding of their role in extreme ecosystems. In addition, micromycetes of extreme habitats are the promising objects of biotechnology.

The purpose of the work is to study the biological diversity of microscopic fungi on natural and anthropogenically introduced substrates in the East Antarctica research areas of Progress, Novolazarevskaya, and Mount Vechernyaya stations.

Traditional isolation methods were used to isolate micromycetes in culture. To determine the species composition, microbiological and molecular genetic methods were used. As a result of mycological analysis, 46 species of micromycetes from 22 genera and 3 phylum were identified. The taxonomic analysis was made and the dominant genera of micromycetes were identified: *Thelebolus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geomyces*, *Cadophora*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*. The temperature-dependent growth features of micromycetes were analyzed: most of the isolated species were psychrotrophic. The greatest species diversity of micromycetes was noted in soils with plant and animal inclusions, the smallest – on stony substrates.

Keywords: antarctic micromycetes, extremophilic microorganisms, psychrophilia, antarctic oases, taxonomic diversity, extreme ecosystems

For citation: Karmanova V. V., Shabashova T. G., Hihiniak Yu. G., Sinyavskaya M. G. Species composition of micromycetes at the Progress, Vechernyaya Gora, and Novolazorevskaya stations (East Antarctica). *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 114–123 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-114-123>

Введение. Антарктические экосистемы уникальны, поскольку характеризуются, во-первых, широким набором экстремальных для живых организмов факторов среды (низкие температуры, высушивание, высокое УФ-излучение), а во-вторых – минимальной антропогенной нагрузкой.

Грибные сообщества Антарктиды участвуют в круговороте питательных веществ и углерода в наземных и морских экосистемах, выступают в качестве симбионтов, мутуалистов, патогенов и сапротрофов, образующих сложную биологическую сеть вместе с другими организмами, и являются моделью для изучения коэволюции симбиоза в экстремальных условиях.

Экстремальные климатические условия Антарктиды создают сильное селективное давление, которое может привести к развитию новых механизмов стрессоустойчивости местных микроорганизмов, в том числе и грибов. По этой причине в последние годы расширились исследования адаптированных к холоду микромицетов, что обусловлено их потенциальной ценностью для применения в биотехнологии [1].

Исследование микобиоты Антарктиды началось в 1960-х годах. Изначально изучение микроскопических грибов проводилось с применением микробиологических методов, позднее стали набирать популярность молекулярно-генетические методы. На сегодняшний день из различных антарктических субстратов выделено более 1000 видов микромицетов, однако, по мнению многих специалистов, предполагаемое число грибов значительно выше. Из-за небольшого числа исследованных районов видовой состав микроскопических грибов в почвах полярных пустынь нельзя считать окончательно установленным, поскольку виды с низкой встречаемостью и/или плотностью популяции выделяются только при значительной повторности. Анализ материалов с новых территорий (островов) постоянно увеличивает видовой состав антарктических микромицетов [2].

Цель работы – изучить биологическое разнообразие микроскопических грибов на природных и антропогенно привнесенных субстратах в районах исследовательских станций Восточной Антарктиды «Прогресс», «Новолазаревская», «Гора Вечерняя».

Материалы и методы исследования. Сбор материала для исследования осуществлялся ведущим научным сотрудником Научно-практического центра НАН Беларуси по биоресурсам, кандидатом биологических наук Ю. Г. Гигиняком в районе российских антарктических станций «Прогресс», «Новолазаревская» и белорусской полевой базы «Гора Вечерняя» (рис. 1).

Для выделения микромицетов в культуру использовали традиционные методы изоляции, для определения видового состава – микробиологические (прямой посев фрагментов субстрата, приготовление серии разведений) и молекулярно-генетические (анализ по ITS районам) методы.

Образцы проб отбирались согласно общепринятым методикам и с соблюдением условий стерильности.

В работе изучены пробы субстратов естественного и антропогенного происхождения, изолированные в окрестностях и служебно-жилых модулях исследовательских станций Восточной Антарктиды. Образцы были разделены на несколько групп в соответствии с типом субстрата:

1) пробы горных пород (мелкоземы с каменистыми примесями, эндолиты). Эндолиты – это верхний слой коренных пород с обитающими в порах между частицами камней организмами (грибами, бактериями, лишайниками или водорослями) (рис. 2). Образцы эндолитов собирали с помощью молотка и зубила путем откалывания верхних слоев коренных пород.

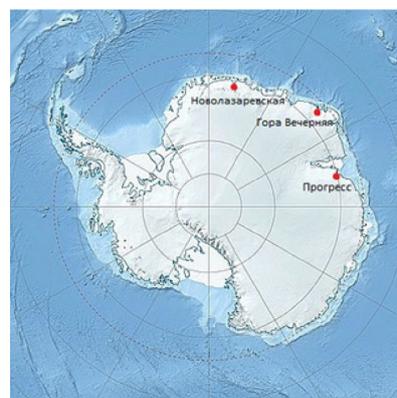


Рис. 1. Районы исследования

Fig. 1. Study areas



Рис. 2. Эндолиты
Fig. 2. Endoliths



Рис. 3. Субстраты животного происхождения
Fig. 3. Substrates of animal origin



Рис. 4. Субстраты растительного происхождения
Fig. 4. Substrates of plant origin

2) пробы почвы с животными включениями, представляющие собой фрагменты почвы с перьями, гуано, костями птиц (рис. 3);

3) пробы почвы с растительными остатками цианобактериальных матов, мхов, лишайников (рис. 4);

4) сухие и влажные пробы верхнего горизонта почвы без растительных и животных примесей;

5) пробы антропогенного происхождения (представляют собой лоскуты ткани, этикетки от пищевых продуктов, собранные в окрестностях исследовательских станций);

6) пробы керн донных отложений оз. Нижнее (полевая база «Гора Вечерняя») (кern представляет собой образец горной породы, извлеченный из скважины посредством специально предназначенного для этого вида бурения).

Основные методы исследования грибов в лаборатории включали: выделение в культуру, идентификацию и исследование чистых культур грибов, световую микроскопию, молекулярно-генетические методы (выделение и очистка грибной ДНК, амплификация, постановка сиквенсовой реакции, очистка продуктов сиквенсовой реакции).

При микроскопической идентификации грибного разнообразия предварительно проводился прямой трехкратный посев фрагментов субстрата на питательную среду с последующим культивированием образцов в разных температурных условиях (4, 18, 22, 25 °C) для выявления психрофильных, психротрофных (психротолерантных) и мезофильных микромицетов.

В качестве питательной среды использовали картофельный агар с дрожжевым экстрактом, агар Чапека, мясопептонный агар.

Посев на питательную среду осуществляли несколькими методами:

1) прямой посев фрагментов субстрата на питательную среду;

2) приготовление серии разведений по методу Коха с последующим высевом суспензий на питательную среду (метод применяли для проб почв): 10 г пробы субстрата смешивали со 100 мл дистиллированной воды с последующим перемешиванием раствора на качалке (45 мин, 28 °C). Получив таким образом 10^0 разведение, проводили серию разведений, количество которых варьировалось в зависимости от предполагаемого количества микроорганизмов в образце: чем больше предполагаемое число микроорганизмов в пробе, тем больше разведений необходимо. Далее осуществляли высев на плотные среды с использованием стерильных пипетки и шпателя [3].

Видовую принадлежность и таксономические особенности устанавливали по определителям для разных групп грибов [4–7].

Для идентификации отдельных видов микромицетов применяли молекулярно-генетические методы. Для выделения грибной ДНК из чистой культуры использовали, согласно протоколам, 5 %-ную смолу Chelex и 5 %-ный СТАВ-буфер.

Состав буфера с Chelex: 5 % Chelex, 0,5 мкл Triton X-100, 9 мл воды.

Состав СТАВ-буфера: 1 мл TRIS, 2,77 мл NaCl, 0,5 г СТАВ, 0,2 РvР40, 20 мкл меркаптоэтанола, 4 мл воды.

Для забора материала использовали стерильные палочки для буккального эпителия.

Выделенную ДНК осаждали путем центрифугирования (10 мин при 12 000 об/мин) и последующего добавления 80 % этанола, высушивали и растворяли в 20–30 мкл воды в зависимости от количества осадка. Концентрацию ДНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop.

Для проведения амплификации использовали ПЦР-смесь следующего состава: 2 мкл грибной ДНК (50–100 нг), 7,5 мкл готовой смеси ArtMix («АртБиоТех»), 1 мкл (5 пмоль) прямого праймера ITS1 (5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G '3) («Праймтех»), 1 мкл (5 пмоль) обратного праймера ITS4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC '3) («Праймтех»), 3,5 мкл воды.

Амплификацию проводили в термоциклере С1000 (BioRad) (объем 15 мкл) в следующем режиме: 95 °С – 2 мин (1 цикл), 40 циклов: 95 °С – 10 с, 58 °С – 15 с, 67 °С – 15 с (1 цикл), 12 °С – до остановки.

Разделение продуктов амплификации проводили в 2 %-ном агарозном геле с использованием 1×ТАЕ-буфера, для окрашивания применяли бромистый этидий. Для визуализации результатов электрофореза использовали прибор Gel Doc XR (BioRad).

Переочистку продуктов ПЦР для проведения сиквенсовой реакции осуществляли с помощью экзонуклеазы I (Eco I) и рекомбинантной щелочной фосфатазы (rSAP) согласно рекомендации производителя (Thermo Fisher).

Последовательность ДНК определяли по методу Сэнгера. Сиквенсовую реакцию проводили по протоколу фирмы-производителя, используя набор BrilliantDye Terminator v3.1 (Nimagen). Состав: 0,75 мкл Sequencing Buffer, 0,5 мкл RR Sequencing Premix, 0,5 мкл ПЦР-продукта, 1 мкл (5 пмоль) праймера ITS 1 и 2,95 мкл воды.

Сиквенсовую реакцию проводили в амплификаторе MJ Mini (объем 5 мкл) в следующем режиме: 96 °С – 45 с (1 цикл), 34 цикла: 96 °С – 10 с, 50 °С – 5 с, 60 °С – 2 мин, 12 °С – до остановки.

Подготовленный и высушенный фрагмент ДНК затем растворяли в формамиде и отдавали в центр «Геном» Института генетики и цитологии НАН Беларуси для секвенирования на приборе ABI 3100 Genetic Analyser. Полученные нуклеотидные последовательности анализировали с помощью программ Finch TV, UGENE, BLASTn.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований выявлено 46 видов микромицетов, относящихся к 22 родам и 3 отделам: Ascomycota, Basidiomycota и Mucoromycota.

Большинство исследованных проб были изолированы в окрестностях станции «Прогресс». В результате из различных природных и антропогенно привнесенных субстратов станции «Прогресс» было выделено 39 видов микромицетов 19 родов (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Биологическое разнообразие микромицетов станции «Прогресс»

T a b l e 1. Biological diversity of micromycetes at the Progress station

Микромицет	Субстрат
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	Почва, антропогенно привнесенные материалы, растительные субстраты
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze: Fr.) Wiltshire	Почва
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	Почва
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	Почва, растительные субстраты
<i>Acremonium sp.</i>	Почва
<i>Aspergillus duricaulis</i> Raper & Fennell	Почва, животные субстраты
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	Почва, антропогенные субстраты

Микромицет	Субстрат
<i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh.	Почва, животные субстраты
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	Почва, животные субстраты
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	Почва, антропогенно привнесенные материалы
<i>Aspergillus</i> sp.	Почва
<i>Cadophora malorum</i> (Kidd & Beaumont) W. Gams*	Почва, антропогенные материалы
<i>Chaetomium atrobrunneum</i> L. M. Ames	Почва, растительные субстраты
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	Почва, животные субстраты
<i>Chaetomium megalocarpum</i> Bainier	Почва
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G. A. de Vries*	Почва, антропогенно привнесенные материалы
<i>Collariella bostrychodes</i> (Zopf) X. Wei Wang & Samson (<i>Chaetomium bostrychodes</i>)	Почва, животные субстраты
<i>Cryptococcus</i> sp.*	Почва
<i>Cystobasidium laryngis</i> (Reiersöl) Yurkov, Kachalkin, H. M. Daniel, M. Groenew., Libkind, V. de García, Zalar, Gouliam., Boekhout & Begerow*	Почва
<i>Geotrichum candidum</i> Link	Почва
<i>Mucor racemosus</i> Fresen.	Почва
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	Почва
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom*	Почва
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	Почва, животные субстраты
<i>Penicillium expansum</i> Link	Почва, животные субстраты
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling	Растительные субстраты
<i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx	Почва
<i>Penicillium lanosum</i> Westling	Почва, животные субстраты
<i>Penicillium lividum</i> Westling	Почва
<i>Phoma herbarum</i> Westendorp	Почва, растительные субстраты
<i>Phoma leveillei</i> Boerema & G. J. Bollen	Почва
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D. L. Lindner*	Почва, животные и растительные субстраты
<i>Rhizopus microsporus</i> Tiegh.*	Почва
<i>Thelebolus microsporus</i> (Berk. & Broome) Kimbr.*	Почва, животные субстраты
<i>Trichoderma koningii</i> Oudem	Почва
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	Почва, растительные субстраты
<i>Trichosporiella cerebriformis</i> (G. A. de Vries & Kleine-Natrop) W. Gams	Почва
<i>Verticillium album</i> Licop.	Каменные субстраты

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: * – молекулярная идентификация вида.

Из почв, растительных и животных субстратов, изолированных в окрестностях станции «Новолазаревская», было выделено 10 видов микромицетов, относящихся к 7 родам (табл. 2).

Таблица 2. Биологическое разнообразие микромицетов станции «Новолазаревская»

Table 2. Biological diversity of micromycetes at the Novolazarevskaya station

Микромицет	Субстрат
<i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh.	Почва, животные субстраты
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	Животные субстраты
<i>Cadophora malorum</i> (Kidd & Beaumont) W. Gams*	Почва
<i>Chaetomium atrobrunneum</i> L. M. Ames	Растительные субстраты
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G. A. de Vries*	Почва
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom*	Почва
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	Почва, животные субстраты
<i>Penicillium lanosum</i> Westling	Почва, животные субстраты
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D. L. Lindner*	Почва, животные и растительные субстраты
<i>Thelebolus microsporus</i> (Berk. & Broome) Kimbr.*	Почва, животные субстраты

Для полевой базы «Гора Вечерняя» и ее окрестностей исследована микобиота служебно-жи-
лых модулей, а также керн донных отложений озера Нижнее. В результате выявлено 23 вида
микробиоты 15 родов (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Биологическое разнообразие микробиоты станции «Гора Вечерняя»

T a b l e 3. Biological diversity of micromycetes at the Mount Vechernyaya station

Микробиота	Субстрат
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	Антропогенно привнесенные материалы
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	Почва, антропогенно привнесенные материалы
<i>Aspergillus ustus</i> (Bainier) Thom & Church	Почва
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	Почва, антропогенные материалы
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud	Почва
<i>Cadophora malorum</i> (Kidd & Beaumont) W. Gams*	Почва, растительные субстраты
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	Почва, керн донных отложений
<i>Chaetomium megalocarpum</i> Bainier	Почва, керн донных отложений
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.*	Керн донных отложений
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G. A. de Vries*	Почва, пыль, антропогенно привнесенные материалы
<i>Cladosporium sp.</i>	Почва
<i>Cystobasidium laryngis</i> (Reiersöl) Yurkov, Kachalkin, H. M. Daniel, M. Groenew., Libkind, V. de García, Zalar, Gouliam., Boekhout & Begerow*	Почва, керн донных отложений
<i>Geotrichum candidum</i> Link	Пыль
<i>Naganishia diffluens</i> (Zach) Xin Zhan Liu, F. Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout, in Liu, Wang, Göker, Groenewald, Kachalkin, Lumsch, Millanes, Wedin, Yurkov, Boekhout & Bai*	Керн донных отложений
<i>Orbicula parietina</i> (Schröd.) S. Hughes*	Пыль
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom*	Почва, керн донных отложений
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling	Растительные субстраты
<i>Penicillium sp.</i>	Почва
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D. L. Lindner*	Почва, животные субстраты
<i>Talaromyces purpureogenus</i> Samson, N. Yilmaz, Houbraken, Spierenb., Seifert, Peterson, Varga & Frisvad*	Керн донных отложений
<i>Thelebolus microsporus</i> (Berk. & Broome) Kimbr.*	Почва, животные субстраты
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	Растительные субстраты
<i>Trichoderma sp.</i>	Почва

Наибольшее видовое разнообразие отмечалось для отдела Ascomycota, среди Basidiomycota встречались только дрожжи, отдел Mucoromycota был представлен двумя видами родов *Mucor* и *Rhizopus*. Следует отметить, что большинство обнаруженных видов – это анаморфы микробиоты из отдела Ascomycota. Данную группу грибов выделяют в отдел Deuteromycota (несовершенные грибы). По своему происхождению несовершенные грибы связаны с сумчатыми, реже – с базидиальными грибами. Преобладание анаморфных грибов позволяет предположить, что упрощение жизненного цикла ввиду отсутствия телеоморфной стадии дает несовершенным грибам преимущество при колонизации антарктических субстратов в суровых климатических условиях.

Ведущим по числу видов порядком является Eurotiales, представленный видами родов *Aspergillus*, *Penicillium*, далее следуют порядки Eurotiales (включает виды родов *Trichoderma* и *Acremonium*) и Pleosporales (роды *Alternaria* и *Phoma*).

Количество микробиоты в пробе варьировалось в зависимости от типа субстрата и условий культивирования. Наименьшее количество грибов наблюдалось в пробах каменистых суб-

стратов, где микромицеты находились в составе эндолитного сообщества и наряду с цианобактериями и водорослями развивались в порах и микротрещинах между частицами камней. Количество микромицетов в пробах почв (верхний горизонт, без растительных и животных примесей) варьировалось от 1 до 3. При наличии в почвах примесей в виде остатков мхов, лишайников, гуано или перьев птиц количество микромицетов в отдельной пробе возрастало до 5. Из этого следует, что наличие дополнительных включений благоприятно сказывается на численности и разнообразии грибов ввиду того, что эти примеси являются источником необходимых для жизнедеятельности микромицетов органических веществ.

По результатам исследования самыми распространенными родами микромицетов в восточно-антарктических оазисах являются *Thelebolus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Pseudogymnoascus*, *Cadophora*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*. Доминирующим по количеству видов являлся род *Penicillium*. Его доля составила 17 % от общего количества видов. Грибы данного рода встречались на всех типах субстрата, но с разной частотой. Наибольшее разнообразие *Penicillium* наблюдалось на антропогенно привнесенных субстратах, а также в почвах без растительных и животных примесей. Примечательно, что род *Penicillium* хоть и превышает остальные роды по разнообразию, но значительно уступает по численности. Некоторые виды данного рода встречались единично.

Как упоминалось выше, по количеству видов доминирующим родом в почвах является *Penicillium*. Однако к доминирующим видам следует отнести аборигенные виды *Thelebolus microsporus*, *Cadophora malorum* и *Pseudogymnoascus pannorum*. Как доминантные виды в почвах, изолированных в местах концентрации птиц, отмечены также *Thelebolus microsporus* и *Pseudogymnoascus pannorum*. Многими авторами описывается высокий адаптивный потенциал этих видов. Они встречаются преимущественно на субстратах естественного происхождения, но в условиях антропогенного загрязнения способны колонизировать привнесенные материалы и переходить к их активной биодеструкции [2].

В орнитогенных субстратах доминировали роды *Aspergillus*, *Thelebolus* и *Pseudogymnoascus*. Два последних рода в нашем исследовании представлены только одним видом, в то время как род *Aspergillus* насчитывает 6 видов. Значительно реже из данного типа субстратов выделяли грибы родов *Chaetomium* и *Penicillium*. Следует отметить, что большинство микромицетов, выделенных из орнитогенных субстратов, зарегистрированы и в почвах без примесей.

Для растительных субстратов высока доля родов *Trichoderma*, *Phoma* и *Penicillium*. Как упоминалось выше, растительный покров способствует возрастанию разнообразия и численности грибов. Наиболее характерно это для грибов рода *Penicillium*. Для данного типа субстрата зафиксированы 6 из 8 выделенных грибов рода *Penicillium*.

В рамках работы был исследован керн донных отложений оз. Нижнее (оазис Холмы Тала, станция «Гора Вечерняя»). Длина керна составляет 195 см. По мере возрастания глубины уменьшалось количество мицелиальных грибов и увеличивалось количество дрожжей. Верхний слой керна (0–45 см) характеризовался преобладанием грибов рода *Penicillium*. На глубине 65–115 см наблюдалось наибольшее разнообразие микромицетов: были выделены грибы родов *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Penicillium*. Из нижних слоев керна выделялись преимущественно дрожжи (табл. 4).

Из антропогенно привнесенных проб субстратов, включающих лоскуты ткани и этикетки от пищевых продуктов, были выделены виды родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cadophora*. Следует отметить, что для данного типа субстрата характерно преобладание темнопигментированных грибов.

В результате исследования не выявлено микромицетов, строго специфичных для определенного местообитания. Существуют виды, типичные для какого-либо субстрата, однако они встречаются и на других типах субстрата, но с разной частотой. Так, например, микромицеты из рода *Chaetomium* встречались на растительных субстратах и почвах без примесей, а также были выделены из керна и субстратов животного происхождения (рис. 5).

Таблица 4. Микромикеты, выделенные из керн донных отложений оз. Нижнее

Table 4. Micromycetes isolated from the bottom sediment core of Lake Nizhnee

Микромикет	Глубина сбора, см
<i>Aspergillus sp.</i>	90–95
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	110–115
<i>Chaetomium megalocarpum</i> Bainier	80–85
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.*	150–155
<i>Cystobasidium laryngis</i> (Reiersöl) Yurkov, Kachalkin, H. M. Daniel, M. Groenew., Libkind, V. de Garcia, Zalar, Gouliam., Boekhout & Begerow*	135–140, 180–185
<i>Naganishia diffluens</i> (Zach) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout, in Liu, Wang, Göker, Groenewald, Kachalkin, Lumbsch, Millanes, Wedin, Yurkov, Boekhout & Bai*	0–5, 85–90, 95–100, 155–160, 170–175, 180–185, 185–190
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom*	0–5, 5–10, 20–25
<i>Penicillium sp.</i>	0–5, 5–10, 20–25, 30–35, 50–55, 60–65, 85–90, 95–100, 135–140
<i>Talaromyces purpureogenus</i> Samson, N. Yilmaz, Houbraken, Spierenb., Seifert, Peterson, Varga & Frisvad*	130–135

Рис. 5. Микромикеты рода *Chaetomium* на различных субстратах (перья птиц, керн донных отложений)Fig. 5. Micromycetes of the genus *Chaetomium* on various substrates (bird feathers, bottom sediment core)

Проанализированы температурозависимые особенности роста выделенных микромикетов. По отношению к низким температурам выделяют следующие группы микромикетов:

1) мезофильные, с температурными границами роста от +10 до +38 °С (оптимальная температура – +25–30 °С). К данной группе относятся микромикеты родов *Penicillium*, *Fusarium*;

2) психрофильные, температурный диапазон роста которых составляет –3...+10–20 °С. Оптимальными температурами для данных организмов являются +5–10 °С. Например, фитопатоген хвойных растений в Альпах *Herpotrichia juniperi* (Sacc.) Petr.;

3) психротолерантные (психротрофные) микромикеты, для которых оптимальными являются низкие температуры, однако, в отличие от психрофильных, они способны расти при температуре +20 °С и выше. К таковым относятся некоторые виды рода *Cladosporium*, а также антарктический доминант *Geomyces pannorum* [2].

Большинство выделенных микромикетов могут быть отнесены к психрофильным и психротрофным, доля мезофильных видов составила менее 20 %.

Заключение. Благодаря широкому спектру защитных реакций антарктические микромицеты представляют собой прекрасную модель для исследования закономерностей адаптации эукариотических организмов к экстремальным факторам среды (экстремально низкие значения температур, гиперсоленость, высокий уровень ультрафиолетового излучения, крайние значения pH, недостаток источников питания, нехватка кислорода, высушивание, воздействие токсических веществ и др.).

Отличительной особенностью микобиоты Антарктиды является преобладание микромицетов отдела Ascomycota. Кроме того, большинство обнаруженных грибов данного отдела – это микромицеты с конидиальным спороношением. Для комплексов антарктических микромицетов характерно явление монодоминантности, т. е. преобладания одного или двух видов грибов. Это может свидетельствовать о том, что экосистемы Антарктиды имеют простую структуру с короткими пищевыми цепями. Большинство обнаруженных видов микромицетов являются космополитными.

В результате исследования не выявлено субстратной приуроченности у выделенных микромицетов. Количество видов в отдельной пробе варьировалось от 1 до 5 в зависимости от типа субстрата. Растительный покров, представленный мхами, лишайниками и цианобактериальными матами, а также животные включения в виде перьев, костей, гуано птиц положительно влияют на численность и разнообразие микромицетов. Наименьшее разнообразие грибов отмечено для каменистых субстратов.

Доминирующими родами в изученных биотопах Восточной Антарктиды являются *Thelebolus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Pseudogymnoascus*, *Cadophora*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*. Преобладающим по количеству видов родом является *Penicillium* (17 % от общего количества видов).

Следует отметить возросшее влияние антропогенных факторов на развитие микобиоты материка. В первую очередь это выражается в заносе космополитных видов, способных адаптироваться к суровым антарктическим условиям, а также в появлении антропогенно привнесенных субстратов. Доминирующие аборигенные роды микромицетов, имеющие высокий адаптивный потенциал, обычно колонизируют субстраты естественного происхождения, но способны переходить к биодеструкции субстратов антропогенного происхождения.

Чистые культуры микромицетов и пробы субстратов хранятся в микологическом гербарии Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси.

Список использованных источников

1. Rosa, L. H. *Fungi of Antarctica: Diversity, Ecology and Biotechnological Applications* / L. H. Rosa. – Switzerland : Springer Publ., 2019. – 345 p.
2. Кирцидели, И. Ю. Почвообитающие микроскопические грибы в экосистемах Арктики и Антарктики : дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.12 / И. Ю. Кирцидели. – СПб., 2019. – 459 с.
3. Лысак, В. В. *Микробиология. Практикум: пособие* / В. В. Лысак. – Минск : Изд-во БГУ, 2015. – 113 с.
4. Basic searching on Mycobank. – Mode of access: <https://www.mycobank.org/page/Basic%20names%20search/>. – Date of access: 27.06.2022.
5. Бабьева, И. П. *Биология дрожжей* / И. П. Бабьева. – М. : Изд-во МГУ, 2004. – 239 с.
6. Литвинов, М. А. *Определитель микроскопических почвенных грибов* / М. А. Литвинов. – СПб. : Наука, 1967. – 297 с.
7. Domsch, K. H. *Compendium of soil fungi* / K. H. Domsch, W. Gams, T.-H. Anderson. – 2nd ed. – Eching : IHW-Verl., 2007. – 672 p.

References

1. Rosa L. H. *Fungi of Antarctica: Diversity, Ecology and Biotechnological Applications*. Switzerland, Springer Publishing, 2019. 345 p.
2. Kirtsideli I. Yu. *Soil-dwelling microscopic fungi in the ecosystems of the Arctic and Antarctic*. Ph. D. Thesis. St. Petersburg, 2019. 459 p. (in Russian).
3. Lysak V. V. *Microbiology. Workshop: manual*. Minsk, Belarusian State University, 2015. 113 p. (in Russian).
4. *Basic searching on Mycobank*. Available at: <https://www.mycobank.org/page/Basic%20names%20search/> (accessed 27.06.2022).
5. Bab`eva I. P. *Biology of yeasts*. Moscow, Moscow State University Publishing House, 2004. 239 p. (in Russian).
6. Litvinov M. A. *Key to microscopic soil fungi*. St. Petersburg, Nauka Publ., 1967. 297 p. (in Russian).
7. Domsch K. H., Gams W., Anderson T.-H. *Compendium of soil fungi. 2nd ed.* Eching, IHW-Verlag, 2007. 672 p.

Информация об авторах

Карманова Вероника Вадимовна – магистр, мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: veronikarmanova@gmail.com

Шабашова Татьяна Гарьевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tiniti@inbox.ru

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

Синявская Марина Георгиевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.sin@inbox.ru

Information about the authors

Veronika V. Karmanova – Master, 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: veronikarmanova@gmail.com

Tatyana G. Shabashova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tiniti@inbox.ru

Yury G. Hihiniak – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: antarctida_2010@mail.ru

Marina G. Sinyavskaya – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.sin@inbox.ru

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 582.284
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-124-135>

Поступила в редакцию 07.09.2022
Received 07.09.2022

А. О. Антонович

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

**ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА
АГАРИКОИДНЫХ ГРИБОВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ
В УСЛОВИЯХ ЗАПОВЕДНОГО РЕЖИМА (НИКОРСКОЕ ЛЕСНИЧЕСТВО,
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК «БЕЛОВЕЖСКАЯ ПУЩА»)**

Аннотация. Национальный парк «Беловежская пушта» является уникальным памятником природы, представляющим собой единственный в Европе реликтовый равнинный лесной массив. Это одна из самых старых охраняемых территорий, на большей части которой произрастают высоковозрастные хвойно-широколиственные леса, представляющие особую ценность для изучения и сохранения биологического разнообразия.

В статье изложены результаты исследования видового разнообразия грибов на основе хранящихся в гербарии MSK-F образцов, собранных в различных типах фитоценозов на территории Никорского лесничества. Видовая идентификация агарикоидных базидиомицетов проводилась стандартными микологическими методами. В результате было выявлено 145 видов, включая 8 разновидностей и 2 формы базидиальных макромицетов. Из них 34 вида, включая 2 разновидности агарикоидных грибов, являются редкими для микобиоты Национального парка, 13 – очень редкими (представлены единичными находками). Таксономический анализ гербарного материала и литературных данных показал, что доминирующими по количеству видов в микобиоте агарикоидных базидиомицетов были роды *Cortinarius* (17 видов), *Lactarius* (12 видов), *Mycena* (10 видов) и *Russula* (8 видов).

Наиболее репрезентативным по количеству видов агарикоидных грибов были хвойные фитоценозы, в основном сосняки, в частности сосняк чернично-мшистый.

Проведенный эколого-трофический анализ показал, что наибольшее количество видов макромицетов относится к микоризообразователям (35,19 %), а основная часть вступает в симбиоз с корнями *Pinus sylvestris* и *Quercus robur*.

Ключевые слова: агарикоидные базидиомицеты, микобиота, заповедная территория, Беловежская пушта, видовой состав, таксономия

Для цитирования: Антонович, А. О. Видовое разнообразие и эколого-трофическая структура агарикоидных грибов, произрастающих в условиях заповедного режима (Никорское лесничество, Национальный парк «Беловежская пушта») / А. О. Антонович // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 124–135. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-124-135>

Hanna O. Antonovich

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

**SPECIES DIVERSITY AND ECOLOGICAL AND TROPHIC STRUCTURE OF AGARICOID
MUSHROOMS GROWING UNDER THE CONDITIONS OF THE RESERVED REGIME
(NIKORSKY FORESTRY, BELOVEZHSKAYA PUSHCHA NATIONAL PARK)**

Abstract. The Belovezhskaya Pushcha National Park is a unique natural monument that is the only relic flat forest in Europe. This is one of the oldest protected areas, in most of which old coniferous-broad-leaved forests are growing. They are of particular value for study and conservation of biological diversity.

The article presents the study results of the species diversity of fungi based on herbarium specimens stored in the MSK-F herbarium and the materials of our own collections in different-type phytocenoses on the territory of the Nikorsky forestry. Species identification of agaricoid basidiomycetes was carried out by standard mycological methods. As a result, 145 species were identified, including 8 varieties and 2 forms of basidial macrofungi. Of these, 34 species, including 2 varieties of agaricoid fungi, are rare for the mycobiota of the National Park, and 13 are very rare and are represented by single finds. The taxonomic analysis of the herbarium material and the published data showed that the dominant genera in terms of a number of species in the mycobiota of agaricoid basidiomycetes were represented by the genera *Cortinarius* (17 species), *Lactarius* (12 species), *Mycena* (10 species), and *Russula* (8 species).

The most representative in terms of the number of species of agaricoid fungi were coniferous phytocenoses, mainly pine forests, in particular blueberry-mossy pine forest.

The conducted ecological and trophic analysis revealed that the largest number of macromycete species belong to mycorrhiza-formers (35.19 %), the main part enters into the symbiosis with the roots of *Pinus sylvestris* and *Quercus robur*.

Keywords: agaricoid basidiomycetes, mycobiota, protected area, Belovezhskaya Pushcha, species composition, taxonomy

For citation: Antonovich H. O. Species diversity and ecological and trophic structure of agaricoid mushrooms growing under the conditions of the reserved regime (Nikorsky forestry, Belovezhskaya Pushcha National Park). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 124–135 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-124-135>

Введение. Основным параметром, который характеризует состояние экосистемы, является биологическое разнообразие, сохранение и использование компонентов которого определяют жизнеспособность и устойчивость функционирования биоценозов. Приоритетным направлением современных микологических исследований является не только систематизация данных по отдельным видам, но и определение сочетаний видов и структур сообществ, влияющих на стабильность и продуктивность экосистем в целом. В частности, изучение видового разнообразия агарикоидных базидиальных грибов является основой для исследования процессов формирования и функционирования лесных фитоценозов. По числу видов значительная доля макромицетов относится к агарикоидным базидиомицетам, которые играют существенную роль в разложении растительных и животных остатков, а также в образовании микоризы с древесными породами, увеличивая тем самым продуктивность фитоценоза [1].

Изучение разнообразия грибов является основой для выявления основных тенденций и закономерностей изменения микобиоты под влиянием климатических условий. Видовой состав агарикоидных базидиомицетов заповедных территорий может дать наиболее репрезентативную картину трансформаций, происходящих внутри растительных сообществ под действием внутренних и особенно внешних факторов, таких как изменение температуры воздуха и почвы, изменение влажности воздуха и почвы, продолжительность залегания устойчивого снежного покрова и т. д.

Национальный парк «Беловежская пушча» рассматривается в современной науке как уникальный комплекс фитоценозов равнинной части европейского континента, на территории которого сохранились отдельные фрагменты естественного старовозрастного реликтового лесного массива. Эта территория является охраняемой с 1409 г., и концепция сохранения и поддержания естественной структуры дикой природы актуальна и в настоящее время.

Первые сообщения об изучении микобиоты Беловежской пушчи датируются 1826 г. и были продолжены Ф. Блоньски в 1888 г., опубликовавшим результаты своих исследований в журнале «*Ramieŋnik fizyjoğraficzny*» [2, 3]. В них им приведены некоторые сведения о грибах и списки видов, обнаруженных на территории Национального парка.

В первой половине XX в. исследования микобиоты Беловежской пушчи носили эпизодический, нерегулярный характер, а сбор грибов проводили попутно со сбором флористических материалов. В это время списки найденных грибов были опубликованы такими учеными, как Г. Н. Дорогин (1910 г.), Д. Штайнеке (1918 г.), В. Щемазко (1923 и 1925 гг.) [4].

Развитие микологических исследований в Республике Беларусь было начато в середине 1950-х годов академиком, доктором биологических наук, заслуженным деятелем науки БССР Василием Феофиловичем Купревичем в созданном им отделе физиологии и систематики низших растений. Им были сформированы принципиально новые для республики научные направления: систематика, таксономия, география, биология и экология грибов, заложены основы гербария грибов. Сотрудниками этого отдела Г. И. Сержаниной и Э. П. Комаровой в рамках сбора материала для диссертационных работ по систематике и разнообразию высших базидиальных грибов были проведены исследования на территории Беловежской пушчи. Г. И. Сержаниной была опубликована статья, посвященная агарикоидным грибам некоторых кварталов, расположенных на территории Язвинского, Хвойникского, Никорского, Пашуковского, Королево-Мостовского и Переровского лесничеств в период с 1960 по 1964 г. В приведенном списке указывалось 166 видов грибов порядка Agaricales, из которых 100 видов были выявлены впервые [5, 6].

Никорское лесничество находится в Пружанском районе Брестской области и представляет собой территорию, покрытую преимущественно сосновыми лесами. В 1950-е годы было проведено массовое осушение части территории лесничества, являвшейся низинным болотом в долине р. Нарев. Это нарушило гидрологический режим Дикого Никора и привело к снижению влажности почв, занятых реликтовыми лесами, в результате чего произошли значительные изменения в породном составе лесов, произрастающих на данной территории. Кроме того, были проведены лесоустроительные работы, и некоторые лесничества были упразднены. В связи с этим возникла необходимость в проведении инвентаризации микобиоты Никорского лесничества с использованием гербарного материала и сборов с 1954 по 2022 г., а также в уточнении видовой принадлежности некоторых образцов в соответствии с современной номенклатурой.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили гербарные образцы и сборы агарикоидных базидиомицетов, собранные на территории Никорского лесничества (рис. 1) в период с 1954 по 2022 г.

Определение таксономического состава было проведено на основе общепринятых сравнительно-анатомических и морфологических методик [7–15] при помощи микроскопирования [12], латинские названия видов приводились в соответствии с международной научной базой Index Fungorum с использованием корректных либо допустимых синонимичных названий.

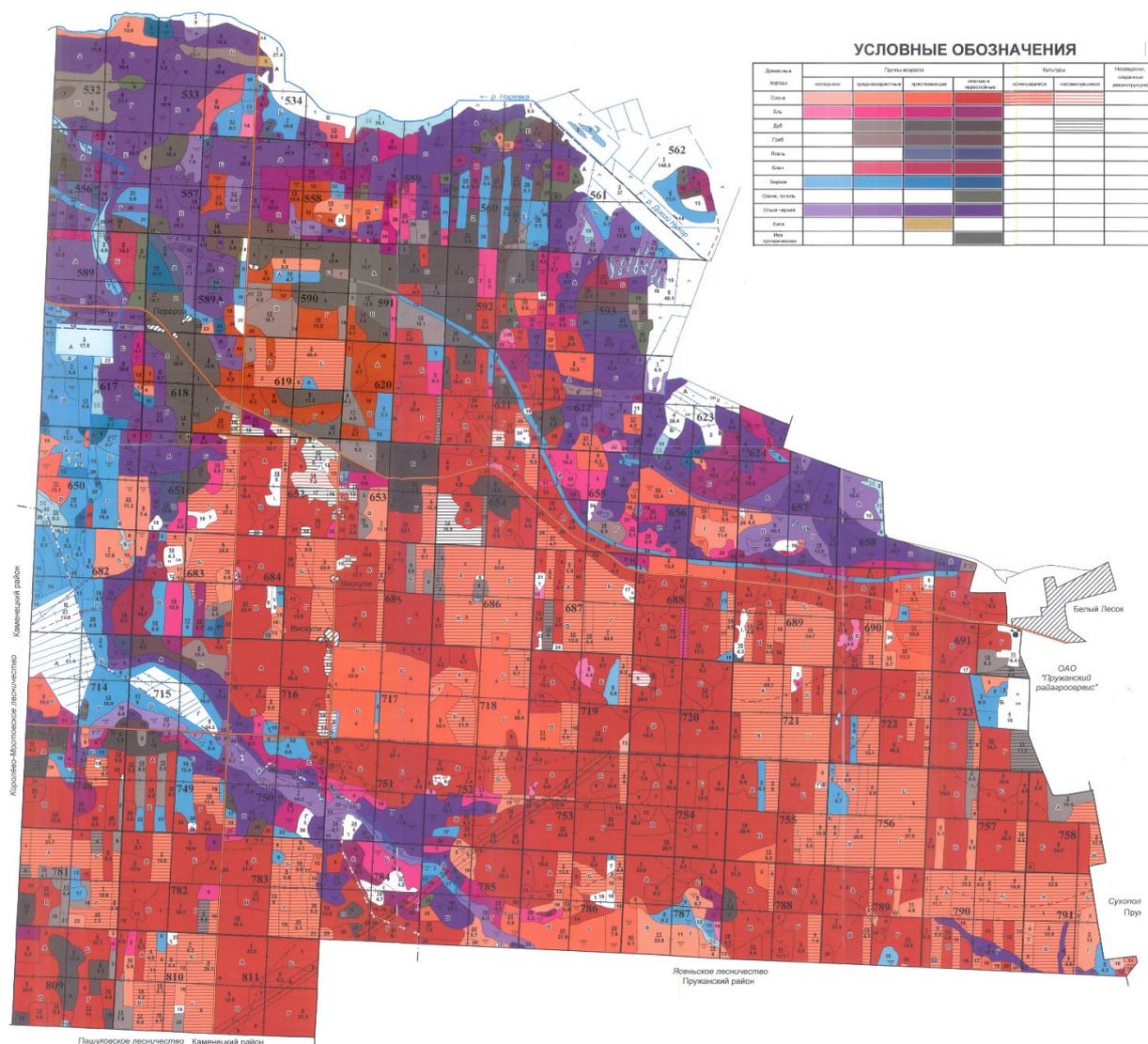


Рис. 1. Карта лесонасаждений Никорского лесничества

Fig. 1. Forest plantation map of the Nikorsky forestry

В ходе микологического исследования на территории Никорского лесничества изучена микобиота лесных фитоценозов разных формаций (грабняков кисличного и разнотравного, дубрав грабовой, грабово-кисличной, елово-кисличной и черничной, ельника чернично-мшистого, сосняков орлякового и чернично-мшистого, ольшаника разнотравного, кленовника разнотравного).

Результаты и их обсуждение. Согласно гербарным образцам, собранным в период с 1954 по 2022 г., на территории Никорского лесничества Национального парка «Беловежская пуща» было выявлено 145 видов шляпочных грибов, включающих 8 разновидностей и 2 формы агарикоидных базидиомицетов. Список макромицетов и соответствующих им фитоценозов приведен в таблице.

Перечень агарикоидных базидиомицетов с привязкой к фитоценозам

List of agaricoid basidiomycetes with reference to phytocenoses

Вид	Фитоценоз
<i>Agaricus campestris</i> L.: Fr.	Дубрава грабовая
<i>Agaricus silvaticus</i> Schaeff.	Ельник чернично-мшистый
<i>Agaricus sylvicola</i> (Vittad.) Peck	Грабняк кисличный
<i>Amanita citrina</i> Pers.	Дубравы грабово-кисличная, елово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
<i>Amanita gemmata</i> (Fr.) Bert.	Ельник чернично-мшистый
<i>Amanita muscaria</i> (L.) Lam.	Грабняк разнотравный, дубравы грабово-кисличная и елово-кисличная, ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый
<i>Armillaria mellea</i> (Vahl) P. Kumm.	Дубрава черничная, грабняк разнотравный, ольшаник разнотравный, сосняк орляковый
<i>Boletus edulis</i> Bull.	Ельник чернично-мшистый
<i>Calocybe chrysenteron</i> (Bull.) Singer	Сосняк чернично-мшистый
<i>Clitocybe candicans</i> (Pers.: Fr.) Kummer	Дубрава грабовая
<i>Clitocybe clavipes</i> (Pers.: Fr.) Kummer	Сосняк орляковый
<i>Clitocybe diatreta</i> (Fr.) P. Kumm.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Clitocybe gibba</i> (Pers.) P. Kumm.	Ольшаник разнотравный
<i>Clitocybe nebularis</i> (Batsch: Fr.) Quél.	Грабняк кисличный
<i>Clitocybe phyllophila</i> (Pers.: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Clitopilus prunulus</i> (Scop.: Fr.) Fr.	Дубрава черничная, сосняк чернично-мшистый
<i>Collybia butyracea</i> (Bull.) P. Kumm.	Дубрава грабовая, сосняк чернично-мшистый
<i>Collybia butyracea</i> f. <i>asema</i> (Fr.) Singer	Сосняк чернично-мшистый
<i>Collybia cirrhata</i> (Schumach.: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Collybia confluens</i> (Pers.) P. Kumm.	Грабняк кисличный, дубрава грабовая
<i>Collybia dryophila</i> (Bull.: Fr.) Kummer	Дубрава черничная, сосняк орляковый
<i>Collybia hariolorum</i> (Bull.) Quél.	Ольшаник разнотравный
<i>Collybia peronata</i> (Bolton) P. Kumm.	Кленовник разнотравный
<i>Conocybe tenera</i> (Schaeff.: Fr.) Fayod	Сосняк чернично-мшистый
<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	Дубрава грабово-кисличная
<i>Coprinus atramentarius</i> (Bull.) Fr.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Coprinus comatus</i> (O. F. Müll.) Pers.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Cortinarius camphoratus</i> (Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius cinnamomeus</i> (L.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius collinitus</i> (Sow.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius delibutus</i> Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius gentilis</i> (Fr.) Fr.	Ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius livor</i> Fr.	Сосняк орляковый
<i>Cortinarius mucosus</i> (Bull.: Fr.) Kickx	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius nemorensis</i> (Fr.) J. Lange	Дубравы грабовая и елово-кисличная
<i>Cortinarius ochroleucus</i> (Schaeff.: Fr.) Fr.	Дубрава елово-кисличная
<i>Cortinarius sanguineus</i> (Wulf.: Fr.) S. F. Gray	Ельник чернично-мшистый
<i>Cortinarius semisanguineus</i> (Fr.) Gill.	Ельник чернично-мшистый
<i>Cortinarius torvus</i> (Fr.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый

Продолжение табл. 1

Вид	Фитоценоз
<i>Cortinarius trivialis</i> J. Lange	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius turgidus</i> Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius uraceus</i> Fr.	Грабняк разнотравный, сосняк орляковый
<i>Cortinarius violaceo-cinereus</i> (Pers.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cortinarius violaceus</i> (L.: Fr.) S. F. Gray	Сосняк чернично-мшистый
<i>Cuphophyllum virgineum</i> (Wulf.: Fr.) Kovalenko	Ельник чернично-мшистый
<i>Cyathus striatus</i> (Huds.) Willd.	Грабняк кисличный, дубрава елово-кисличная, кленовник разнотравный, сосняк чернично-мшистый
<i>Entoloma clypeatum</i> (L.: Fr.) P. Kumm.	Дубрава черничная
<i>Entoloma prunuloides</i> (Fr.: Fr.) Quél.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Entoloma rhodopolium</i> (Fr.: Fr.) Kummer	Сосняк чернично-мшистый
<i>Entoloma sericeum</i> Quél.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Entoloma sinuatum</i> (Bull.: Fr.) Kummer	Грабняк разнотравный, дубравы грабово-кисличная и черничная
<i>Entoloma sphagnum</i> (Romagn. & J. Favre) Noordel.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Galerina hypnorum</i> (Schrank) Kühner	Кленовник разнотравный
<i>Galerina marginata</i> (Batsch) Kühner	Сосняк чернично-мшистый
<i>Galerina triscopa</i> (Fr.) Kühner	Сосняк чернично-мшистый
<i>Gomphidius roseus</i> (Fr.) Fr.	Дубрава грабовая
<i>Gymnopus androsaceus</i> (L.) Della Magg. & Trassin.	Дубрава елово-кисличная, ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый
<i>Hebeloma crustuliniforme</i> (Bull.) Quél.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Hebeloma helodes</i> Favre	Сосняк чернично-мшистый
<i>Hydropus paradoxus</i> M. M. Moser	Дубрава елово-кисличная
<i>Hygrocybe conica</i> var. <i>conica</i> (Schaeff.: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Hygrophorus eburneus</i> (Bull.: Fr.) Fr.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Hygrophorus nemoreus</i> (Pers.: Fr.) Fr.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Hypholoma polytrichi</i> (Fr.: Fr.) Ricken	Ельник чернично-мшистый
<i>Hypholoma sublateralitium</i> (Schaeff.) Quél.	Дубрава грабово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
<i>Hypsizygus ulmarius</i> (Bull.: Fr.) Redhead	Дубрава елово-кисличная
<i>Inocybe geophylla</i> (Fr.: Fr.) P. Kumm.	Дубрава грабово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
<i>Inocybe rimosa</i> (Bull.: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Inocybe sindonia</i> (Fr.) P. Karst.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Inocybe subcarpta</i> Kühner et Bours.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Kuehneromyces mutabilis</i> (Schaeff.) Singer & A. H. Sm.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Laccaria amethystina</i> Cooke	Дубрава грабовая
<i>Lacrymaria lacrymabunda</i> (Bull.: Fr.) Pat.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius lignyotus</i> Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius mitissimus</i> (Fr.) Fr.	Дубрава грабово-кисличная, ельник чернично-мшистый
<i>Lactarius necator</i> (Fr.) P. Karst.	Кленовник разнотравный
<i>Lactarius pallidus</i> (Pers.: Fr.) Fr.	Дубрава грабовая
<i>Lactarius pyrogalus</i> (Bull. emend. Pers.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius quietus</i> (Fr.) Fr.	Дубрава грабовая, дубрава черничная
<i>Lactarius resimus</i> (Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius rufus</i> (Scop.) Fr.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Lactarius scrobiculatus</i> (Scop.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius trivialis</i> (Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius uvidus</i> (Fr.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lactarius volemus</i> (Fr.) Fr.	Дубравы грабовая и грабово-кисличная
<i>Leccinum griseum</i> (Quél.) Singer	Грабняк разнотравный
<i>Lepiota clypeolaria</i> (Bull.: Fr.) Quél.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lepiota clypeolaria</i> var. <i>alba</i> (Bres.) Sacc.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lepiota cristata</i> (Bolton: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lepista nuda</i> (Bull.: Fr.) Cooke	Дубрава елово-кисличная, ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый
<i>Limacella glioderma</i> (Fr.) Maire	Сосняк чернично-мшистый
<i>Limacella illinita</i> (Fr.: Fr.) Murrill	Сосняк чернично-мшистый
<i>Lycoperdon perlatum</i> (Pers.) Pers.	Грабняк кисличный, ельник чернично-мшистый, кленовник разнотравный, сосняк орляковый
<i>Lycoperdon pyriforme</i> (Pers.) Schaeff.	Грабняк кисличный, ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый

Вид	Фитоценоз
<i>Lyophyllum connatum</i> (Schumach.: Fr.) Singer	Сосняк чернично-мшистый
<i>Macrocystidia cucumis</i> (Pers.: Fr.) Joss.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Marasmius chordalis</i> (Fr.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Marasmius epiphyllum</i> (Pers.: Fr.) Fr.	Дубрава грабовая, ольшаник разнотравный
<i>Marasmius oreades</i> (Bolton: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Marasmius scorodonius</i> (Fr.: Fr.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Mycena alcalina</i> (Fr.) P. Kumm.	Ельник чернично-мшистый
<i>Mycena citrinella</i> (Pers.) P. Kumm.	Кленовник разнотравный
<i>Mycena epipterygia</i> var. <i>epipterygia</i> (Scop.) Gray	Сосняк чернично-мшистый
<i>Mycena epipterygioides</i> A. Pearson	Сосняк чернично-мшистый
<i>Mycena galopus</i> var. <i>galopus</i> (Pers.: Fr.) P. Kumm.	Дубрава елово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
<i>Mycena maculata</i> P. Karst.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Mycena pelianthina</i> (Fr.) Quél.	Ольшаник разнотравный
<i>Mycena urania</i> (Fr.: Fr.) Quél.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Mycena vitilis</i> (Fr.) Quél.	Дубрава елово-кисличная
<i>Mycena vitrea</i> (Fr.: Fr.) Quél.	Дубрава грабовая
<i>Myxomphalia maura</i> (Fr.: Fr.) Hora	Сосняк чернично-мшистый
<i>Panaeolus papilionaceus</i> (Bull.) Quél.	Грабняк разнотравный
<i>Panaeolus papilionaceus</i> var. <i>papilionaceus</i> (Bull.: Fr.) Quél.	Грабняк разнотравный
<i>Pholiota decussata</i> (Fr.) M. M. Moser	Ольшаник разнотравный
<i>Pholiota highlandensis</i> (Peck) A. H. Sm. & Hesler	Сосняк чернично-мшистый
<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paulet) Rolland	Кленовник разнотравный
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.: Fr.) P. Kumm.	Дубрава грабово-кисличная, ольшаник разнотравный
<i>Pleurotus ostreatus</i> f. <i>pulmonarius</i> (Fr.) Pilát	Дубрава грабово-кисличная
<i>Pluteus cervinus</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Грабняк разнотравный
<i>Pluteus chrysophaeus</i> (Schaeff.) Quél.	Грабняк разнотравный
<i>Pluteus hispidulus</i> (Fr.) Gillet	Кленовник разнотравный
<i>Pluteus leoninus</i> (Schaeff.: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Psathyrella candolleana</i> (Fr.: Fr.) Maire	Грабняк разнотравный, ольшаник разнотравный
<i>Psathyrella spadicea</i> (P. Kumm.) Singer	Дубрава грабово-кисличная
<i>Psilocybe coprophila</i> (Bull.: Fr.) P. Kumm.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Rickenella fibula</i> (Bull.: Fr.) Raitelth.	Ельник чернично-мшистый
<i>Russula atropurpurea</i> (Krombh.) Britzelm.	Дубрава грабовая, дубрава черничная
<i>Russula cyanoxantha</i> (Schaeff.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Russula elaeodes</i> (Bres.) Romagn. ex Bon	Дубрава черничная
<i>Russula fragilis</i> var. <i>fragilis</i> (Pers.) Fr.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Russula ochroleuca</i> Fr.	Ольшаник разнотравный
<i>Russula sororia</i> Fr.	Дубрава черничная
<i>Russula violacea</i> Quél.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Russula xerampelina</i> var. <i>rubra</i> Britz.	Ельник чернично-мшистый
<i>Strobilurus esculentus</i> (Wulfen: Fr.) Singer	Сосняк чернично-мшистый
<i>Stropharia semiglobata</i> (Batsch: Fr.) Quél.	Грабняк разнотравный
<i>Suillus piperatus</i> (Bull.) Kuntze	Сосняк чернично-мшистый
<i>Tricholoma focale</i> (Fr.) Ricken	Сосняк чернично-мшистый
<i>Tricholoma portentosum</i> (Fr.) Quél.	Дубрава грабово-кисличная
<i>Tricholoma sudum</i> (Fr.) Quél.	Сосняк чернично-мшистый
<i>Tricholoma sulphureum</i> var. <i>sulphureum</i> (Bull.: Fr.) P. Kumm.	Дубравы елово-кисличная и черничная
<i>Volvariella taylorii</i> (Berk. & Broome) Singer	Сосняк чернично-мшистый
<i>Xerocomus badius</i> (Fr.) Kühner ex Gilb.	Ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый
<i>Xerocomus chrysenteron</i> (Bull.) Quél.	Грабняк разнотравный
<i>Xeromphalina campanella</i> (Batsch) Kühner & Maire	Грабняк разнотравный

Наибольшее количество видов агарикоидных грибов (93) было собрано на территории хвойных лесов Никорского лесничества Беловежской пуши, в основном в разных типах сосняков (75 видов). В лиственных лесах (грабняках, дубравах, ольшаниках и кленовниках) собрано лишь немногим меньше – 90 видов, 16 видов обнаружены как в хвойных, так и в лиственных лесах. Количество видов агарикоидных базидиомицетов в разных типах фитоценозов приведено на рис. 2.

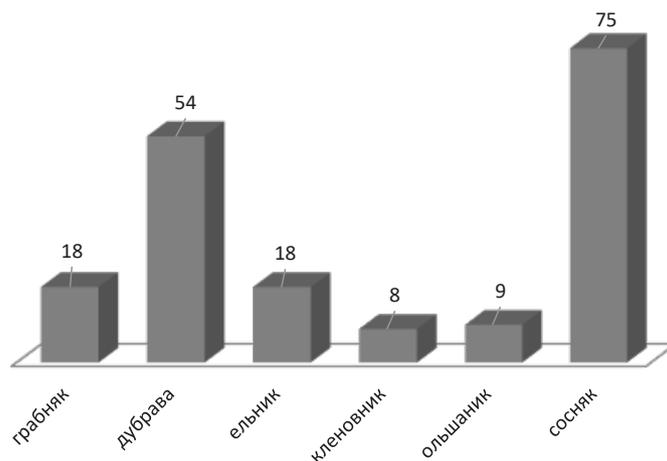


Рис. 2. Количество видов базидиальных шляпочных грибов, найденных в лесах различных формаций Никорского лесничества

Fig. 2. Number of species of basidio cap mushrooms found in the different-formation forests of the Nikorsky forestry

Наибольшее число агарикоидных базидиомицетов отмечено в сосняке чернично-мшистом (48,93 % от общего числа видов), что можно объяснить привязкой большего числа видов шляпочных макромицетов к главному консорту данного фитоценоза – сосне.

В распределении редких и очень редких видов агарикоидных базидиомицетов по фитоценозам также сохраняется общая тенденция, характерная для типичных видов. Наибольшее число редких видов найдено в хвойных лесах (сосняки – 20 видов, ельники – 2 вида), в лиственных их количество меньше (дубравы – 7 видов, грабняки – 3, ольшаники – 1, кленовники – 1 вид). Данная закономерность сохраняется и для очень редких видов, большая часть которых найдена в хвойных лесах (8 видов, все найдены в сосняках), в то время как в лиственных их количество меньше (5 видов, из них 2 найдено в дубравах, 2 – в ольшаниках, 1 – в грабняке).

Распространенность видов агарикоидных базидиомицетов в зависимости от их встречаемости в хвойных и лиственных лесах представлена на рис. 3.

Проведенный таксономический анализ показал, что наибольшим количеством видов представлены роды *Cortinarius* (17 видов), *Lactarius* (12 видов), *Mycena* (10 видов) и *Russula* (8 видов), которые являются самыми распространенными и часто встречающимися в разных типах лесных фитоценозов Беларуси.

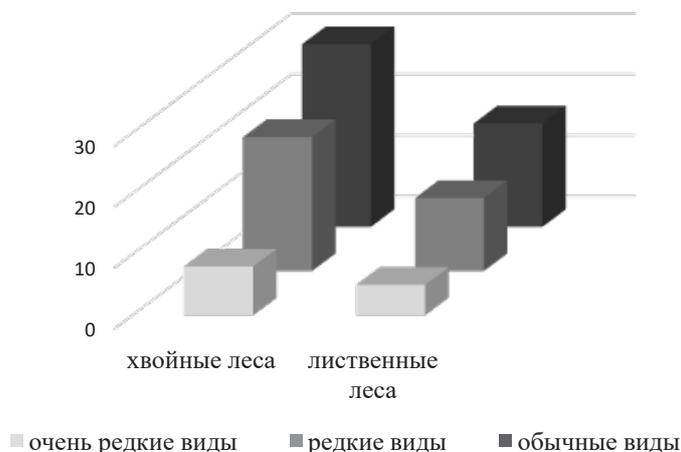


Рис. 3. Распространенность обычных, редких и очень редких видов агарикоидных базидиомицетов в хвойных и лиственных лесах Никорского лесничества

Fig. 3. Distribution of common, rare, and very rare species of agaricoid basidiomycetes in the coniferous and deciduous forests of the Nikorsky forestry

Для научно обоснованного выделения редких видов базидиальных макромицетов необходимы сведения о степени их распространенности и численности популяций, а также о тенденциях их изменения. Данные показатели можно получить из сведений об инвентаризации видового состава исследуемой территории, сопоставляя списки базидиальных макромицетов, полученные в разные периоды времени. Появляющиеся данные о новых местах произрастания редких видов, а также выявление новых видов базидиальных грибов на исследуемой территории могут повлиять на статус редкости, изменяя категорию охраны как в высшую, так и в низшую сторону. Так, например, благодаря находкам новых мест произрастания головача гигантского, *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd, его природоохранный статус в Красной книге Республики Беларусь был изменен с III категории природоохранной значимости (таксоны, не находящиеся под прямой угрозой исчезновения, но подверженные риску вымирания в перспективе в силу морфофизиологических и/или поведенческих особенностей, делающих их уязвимыми при любых, даже незначительных, изменениях окружающей среды) на IV (таксоны, имеющие неблагоприятные тенденции на окружающих территориях или зависящие от осуществляемых мер охраны). Таким образом, ведение списков микобиоты помогает в решении задач о присвоении видам природоохранного статуса и его изменении или удалении их из списка и отнесении к числу обычных для исследуемой территории видов.

На территории Никорского лесничества и Беловежской пуши в целом было выявлено 32 вида и 2 разновидности редких агарикоидных базидиомицетов: *Amanita gemmata* (Fr.) Bert., *Collybia cirrhata* (Schumach.: Fr.) P. Kumm., *Conocybe tenera* (Schaeff.: Fr.) Fayod, *Cortinarius camphoratus* (Fr.) Fr., *Cortinarius delibutus* Fr., *Cortinarius nemorensis* (Fr.) J. Lange, *Cortinarius torvus* (Fr.: Fr.) Fr., *Cortinarius turgidus* Fr., *Cortinarius violaceo-cinereus* (Pers.: Fr.) Fr., *Cuphophyllus virgineus* (Wulf.: Fr.) Kovalenko, *Entoloma sinuatum* (Bull.: Fr.) Kummer, *Hydropus paradoxus* M. M. Moser, *Hygrocybe conica* var. *conica* (Schaeff.: Fr.) P. Kumm., *Hygrophorus nemoreus* (Pers.: Fr.) Fr., *Hypsizygus ulmarius* (Bull.: Fr.) Redhead, *Inocybe subcarpta* Kühner et Bours., *Lacrymaria lacrymabunda* (Bull.: Fr.) Pat., *Lactarius pallidus* (Pers.: Fr.) Fr., *Lactarius pyrogalus* (Bull. emend. Pers.: Fr.) Fr., *Lactarius scrobiculatus* (Scop.: Fr.) Fr., *Limacella glioderma* (Fr.) Maire, *Marasmius chordalis* (Fr.: Fr.) Fr., *Mycena epipterygioides* A. Pearson, *Panaeolus papilionaceus* var. *papilionaceus* (Bull.: Fr.) Quél., *Pholiota decussata* (Fr.) M. M. Moser, *Pluteus hispidulus* (Fr.) Gillet, *Pluteus leoninus* (Schaeff.: Fr.) P. Kumm., *Psilocybe coprophila* (Bull.: Fr.) P. Kumm., *Russula violacea* Quél., *Tricholoma focale* (Fr.) Ricken, *Tricholoma sudum* (Fr.) Quél., *Xerocomus chrysenteron* (Bull.) Quél.

Доля очень редких видов, представленных единичными находками, составила 9,09 % (13 видов от их общего количества). К ним относятся следующие агарикоидные базидиомицеты: *Collybia hariolorum* (Bull.) Quél., *Cortinarius livor* Fr., *Cortinarius ochroleucus* (Schaeff.: Fr.) Fr., *Cortinarius violaceus* (L.: Fr.) S. F. Gray, *Gomphidius roseus* (Fr.) Fr., *Inocybe sindonia* (Fr.) P. Karst., *Lactarius lignyotus* Fr., *Lactarius uvidus* (Fr.: Fr.) Fr., *Limacella illinita* (Fr.: Fr.) Murrill, *Mycena pelianthina* (Fr.) Quél., *Mycena urania* (Fr.: Fr.) Quél., *Pluteus chrysophaeus* (Schaeff.) Quél., *Volvariella taylorii* (Berk. & Broome) Singer.

Большинство базидиальных макромицетов (96 видов, 6 разновидностей, 2 формы) относится к категории обычных и широко распространенных не только на территории Никорского лесничества, но и всего Национального парка «Беловежская пуша». Данные о доле обычных, редких и очень редких видов приведены на рис. 4.

Большая вариативность условий произрастания и трофических связей грибов приводят к образованию эколого-трофических групп, которые не связаны с систематическим положением входящих в них видов. Принято выделять три основные эколого-трофические группы гри-

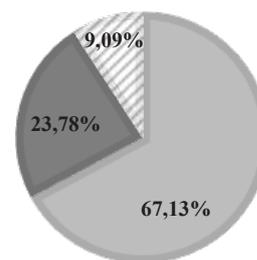


Рис. 4. Доля обычных, редких и очень редких видов агарикоидных базидиомицетов Никорского лесничества Беловежской пуши

Fig. 4. Share of common, rare, and very rare species of agaricoid basidiomycetes of the Nikorsky forestry of the Belovezhskaya Pushcha

■ обычные виды ■ редкие виды ■ очень редкие виды

бов – микоризообразующие, сапротрофные и паразитические, внутри которых происходит более дробное разделение, обусловленное, к примеру, типом образуемой микоризы или приуроченностью к определенному субстрату.

Проведенный эколого-трофический анализ показал, что макромицеты, образующие микоризу с корнями высших растений, составляют порядка 40 % от общего количества известных видов базидиальных шляпочных грибов. Образование микоризы значительно увеличивает выживаемость как растительного, так и грибного компонента симбиоза.

Видовой состав микоризообразователей Никорского лесничества представлен 57 видами агарикоидных базидиомицетов (40,43 % от общего числа найденных видов) из родов *Amanita* (3), *Boletus* (1), *Cortinarius* (17), *Entoloma* (1), *Gomphidius* (1), *Hebeloma* (2), *Inocybe* (1), *Lactarius* (12), *Leccinum* (1), *Russula* (8), *Suillus* (1), *Tricholoma* (4), *Xerocomus* (2). Они привязаны как к исключительно хвойным или лиственным типам древесных пород, так и к обоим типам одновременно.

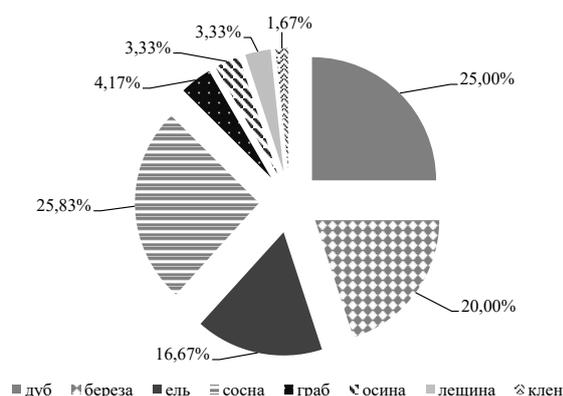
Симбиоз с хвойными деревьями образуют 18 видов шляпочных грибов: *Cortinarius camphoratus* (Fr.) Fr., *Cortinarius cinnamomeus* (L.: Fr.) Fr., *Cortinarius gentilis* (Fr.) Fr., *Cortinarius livor* Fr., *Cortinarius mucosus* (Bull.: Fr.) Kickx, *Cortinarius sanguineus* (Wulf.: Fr.) S.F. Gray, *Cortinarius semi-sanguineus* (Fr.) Gill., *Cortinarius uraceus* Fr., *Gomphidius roseus* (Fr.) Fr., *Hebeloma helodes* Favre, *Inocybe geophylla* (Fr.: Fr.) P. Kumm., *Inocybe subcarpta* Kühner et Bours., *Lactarius lignyotus* Fr., *Suillus piperatus* (Bull.) Kuntze, *Tricholoma focale* (Fr.) Ricken, *Tricholoma portentosum* (Fr.) Quél., *Tricholoma sudum* (Fr.) Quél.

Симбиоз с лиственными деревьями образуют 23 вида шляпочных грибов: *Amanita gemmata* (Fr.) Bert., *Cortinarius nemorensis* (Fr.) J. Lange, *Cortinarius torvus* (Fr.: Fr.) Fr., *Cortinarius trivialis* J. Lange, *Cortinarius turgidus* Fr., *Cortinarius violaceo-cinereus* (Pers.: Fr.) Fr., *Cortinarius violaceus* (L.: Fr.) S. F. Gray, *Entoloma sinuatum* (Bull.: Fr.) Kummer, *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quél., *Inocybe rimosa* (Bull.: Fr.) P. Kumm., *Lactarius necator* (Fr.) P. Karst., *Lactarius pallidus* (Pers.: Fr.) Fr., *Lactarius pyrogalus* (Bull. emend. Pers.: Fr.) Fr., *Lactarius quietus* (Fr.) Fr., *Lactarius resimus* (Fr.) Fr., *Leccinum griseum* (Quél.) Singer, *Russula atropurpurea* (Krombh.) Britzelm., *Russula cyanoxantha* (Schaeff.) Fr., *Russula fragilis* var. *fragilis* (Pers.) Fr., *Russula sororia* Fr., *Russula violacea* Quél., *Tricholoma sulphureum* var. *sulphureum* (Bull.: Fr.) P. Kumm., *Xerocomus chrysenteron* (Bull.) Quél.

Симбиоз с хвойными и лиственными деревьями образуют 16 видов агарикоидных базидиомицетов.

Наиболее распространенной древесной породой для микоризообразования оказались *Pinus sylvestris* и *Quercus robur* (31 и 30 видов соответственно), единичные виды образовывали микоризу с *Acer platanoides*, *Carpinus betulus*, *Corylus avellana* и *Populus tremula* (рис. 5).

К редким видам-микоризообразователям относятся *Amanita gemmata* (Fr.) Bert., *Cortinarius camphoratus* (Fr.) Fr., *Cortinarius delibutus* Fr., *Cortinarius nemorensis* (Fr.) J. Lange, *Cortinarius torvus* (Fr.: Fr.) Fr., *Cortinarius turgidus* Fr., *Cortinarius violaceo-cinereus* (Pers.: Fr.) Fr., *Entoloma sinuatum* (Bull.: Fr.) Kummer, *Inocybe subcarpta* Kühner et Bours., *Lactarius pallidus* (Pers.: Fr.) Fr., *Lactarius pyrogalus* (Bull. emend. Pers.: Fr.) Fr., *Lactarius scrobiculatus* (Scop.: Fr.) Fr., *Russula violacea* Quél., *Tricholoma focale* (Fr.) Ricken, *Tricholoma sudum* (Fr.) Quél., *Xerocomus chrysenteron* (Bull.) Quél.



К очень редким видам-микоризообразователям относятся *Cortinarius livor* Fr., *Cortinarius ochroleucus* (Schaeff.: Fr.) Fr., *Gomphidius roseus* (Fr.) Fr., *Inocybe sindonia* (Fr.) P. Karst., *Lactarius lignyotus* Fr., *Lactarius uvidus* (Fr.: Fr.) Fr.

Рис. 5. Соотношение видов базидиомицетов, образующих микоризу с определенными родами древесных растений в фитоценозах Никорского лесничества

Fig. 5. Species ratio of basidiomycetes forming mycorrhiza with certain genera of woody plants in the phytocenoses of the Nikorsky forestry

При осуществлении процессов жизнедеятельности грибы-сапротрофы используют мертвое органическое вещество, к каждому типу которого у них сформирован специфический набор ферментов. Выделяют 8 разновидностей сапротрофных грибов: гумусовые сапротрофы (Hu), подстилочные сапротрофы (St), ксилотрофы (Le), микотрофы (Mm), копротрофы (E), карботрофы (C), бриотрофы (M). Ксилотрофы, в свою очередь, имеют еще более узкую градацию: на неразрушенной (Lei) и разрушенной (Ler) древесине, на корнях и погребенной в почве древесине (Lh).

Гумусовые сапротрофы используют в качестве субстрата для своей жизнедеятельности гумусовый слой почвы, не образуя симбиоза с корнями высших растений. Среди найденных агарикоидных базидиомицетов гумусовые сапротрофы представлены 27 видами из родов *Agaricus* (3), *Clitopilus* (1), *Coprinus* (2), *Cuphophyllus* (1), *Entoloma* (3), *Hydropus* (1), *Hygrocybe* (1), *Hygrophorus* (1), *Laccaria* (1), *Lacrymaria* (1), *Lepiota* (3), *Lepista* (1), *Limacella* (1), *Lycoperdon* (2), *Lyophyllum* (1), *Marasmius* (1), *Mycena* (2), *Volvariella* (1).

К редким видам гумусовых сапротрофов относятся *Cuphophyllus virgineus* (Wulf.: Fr.) Kovalenko, *Hydropus paradoxus* M. M. Moser, *Hygrocybe conica* var. *conica* (Schaeff.: Fr.) P. Kumm., *Hygrophorus nemoreus* (Pers.: Fr.) Fr., *Lacrymaria lacrymabunda* (Bull.: Fr.) Pat., *Mycena epipterygioides* A. Pearson; к очень редким – *Limacella illinita* (Fr.: Fr.) Murrill, *Volvariella taylorii* (Berk. & Broome) Singer.

Подстилочные сапротрофы используют в качестве субстрата, в котором сосредоточен их мицелий, лесную подстилку. На территории Никорского лесничества они представлены 32 видами базидиальных грибов из родов *Calocybe* (1), *Clitocybe* (5), *Collybia* (7), *Entoloma* (2), *Gymnopus* (1), *Hygrophorus* (1), *Lepiota* (2), *Lepista* (1), *Limacella* (2), *Lyophyllum* (1), *Macrocyttidia* (1), *Marasmius* (2), *Mycena* (6).

К редким видам подстилочных сапротрофов относятся *Collybia cirrhata* (Schumach.: Fr.) P. Kumm., *Limacella glioderma* (Fr.) Maire, *Marasmius chordalis* (Fr.: Fr.) Fr.; к очень редким: *Collybia hariolorum* (Bull.) Quél., *Limacella illinita* (Fr.: Fr.) Murrill, *Mycena pelianthina* (Fr.) Quél., *Mycena urania* (Fr.: Fr.) Quél.

Ксилотрофы используют в качестве субстрата древесину, растут на корнях и стволах живых и мертвых деревьев, пнях, кусочках древесины и т. д. Они обладают одним из самых развитых среди базидиальных грибов ферментативным аппаратом. Представители этой группы на территории Никорского лесничества насчитывают 30 видов и 1 разновидность шляпочных грибов из родов *Armillaria* (1), *Clitocybe* (1), *Collybia* (1), *Coprinellus* (1), *Cyathus* (1), *Galerina* (1), *Gymnopus* (1), *Hypholoma* (1), *Hypsizygyus* (1), *Kuehneromyces* (1), *Lactarius* (1), *Lycoperdon* (2), *Lyophyllum* (1), *Marasmius* (1), *Mycena* (3), *Pholiota* (2), *Pleurotus* (2), *Pluteus* (4), *Psathyrella* (2), *Strobilurus* (1), *Xeromphalina* (1).

К редким видам ксилотрофов относятся *Hypsizygyus ulmarius* (Bull.: Fr.) Redhead, *Pholiota decussata* (Fr.) M. M. Moser, *Pluteus hispidulus* (Fr.) Gillet, *Pluteus leoninus* (Schaeff.: Fr.) P. Kumm. Очень редкий вид – *Pluteus chrysophaeus* (Schaeff.) Quél.

Копротрофы, карботрофы и бриотрофы являются очень специализированными экологическими группами грибов и представлены небольшим числом видов агарикоидных базидиомицетов – 5, 1 и 5 видов соответственно из родов *Conocybe* (1), *Coprinellus* (1), *Entoloma* (1), *Galerina* (2), *Hypholoma* (1), *Mухомphalia* (1), *Panaeolus* (1), *Psilocybe* (1), *Rickenella* (1), *Stropharia* (1).

К редким относятся 3 вида копрофильных макромицетов: *Conocybe tenera* (Schaeff.: Fr.) Fayod, *Panaeolus papilionaceus* var. *papilionaceus* (Bull.: Fr.) Quél., *Psilocybe coprophila* (Bull.: Fr.) P. Kumm.

На территории Никорского лесничества были обнаружены агарикоидные макромицеты, являющиеся паразитами высших растений – *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *Kuehneromyces mutabilis* (Schaeff.) Singer & A.H. Sm., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm, *Pleurotus ostreatus* f. *pulmonarius* (Fr.) Pilát.

Заключение. В результате проведенного таксономического и эколого-трофического анализа гербарного материала, собранного на территории Никорского лесничества Национального парка «Беловежская пушча», было выявлено 145 видов базидиальных макромицетов, включающих 8 разновидностей и 2 формы. Ведущими по числу видов родами являются *Cortinari* (17 видов), *Lactarius* (12 видов), *Mycena* (10 видов) и *Russula* (8 видов). Большая часть агарикоидных бази-

диомицетов представлена обычными для геоботанической подзоны грабово-дубово-темнохвойных лесов видами (67,13 %), доля редких и очень редких видов составила 23,78 и 9,09 % соответственно от общего числа видов.

Наибольшее количество видов агарикоидных базидиомицетов было собрано на территории хвойных лесов (93 вида), доминирующим типом леса был сосняк чернично-мшистый. Данная закономерность наблюдается для всех типов макромицетов: обычных, редких и очень редких.

По эколого-трофическим группам наибольшее число видов макромицетов относится к микоризообразователям (35,19 %), а основная часть агарикоидных базидиомицетов образует симбиоз с корнями древесных растений *Pinus sylvestris* и *Quercus robur*.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ по гранту «Сравнительный анализ видового разнообразия и эколого-трофических особенностей биоты макромицетов редких, эталонных и типичных фитоценозов НП «Беловежская пушча»» (договор № Б22М-005 от 04.05.2022).

Acknowledgements. Work within the framework of the financial support of the BRFFR under the grant “Comparative analysis of species diversity and ecological and trophic features of macromycete biota of rare, reference and typical phytocenoses of NP “Belovezhskaya Pushcha”” (agreement No. B22M-005 dated 04.05.2022).

Список использованных источников

1. Trappe, J. M. Fungus associated of ectotrophic mycorrhizae / J. M. Trappe // Bot. Rev. – 1962. – Vol. 28, N 4. – P. 538–606. <https://doi.org/10.1007/bf02868758>
2. Błoński, F. Spis roślin skrytokwiatowych, zebranych w r. 1887 w puszczy Białowieskiej / F. Błoński // Pamiętnik Fizyograficzny. – 1888. – Т. 8, dział 3. – S. 75–119.
3. Błoński, F. Spis roślin zarodnikowych, zebranych lub zanotowanych w lecie w r. 1887 w puszczech Białowieskiej, Świsłockiej i Ladzkiej / F. Błoński // Pamiętnik Fizyograficzny. – 1889. – Т. 9, dział 3. – S. 63–101.
4. Поликсенова, В. Д. К вопросу о микологических и фитопатологических исследованиях в Беловежской пушче / В. Д. Поликсенова, И. С. Гирилович, А. К. Храмов // Беловежская пушча на рубеже третьего тысячелетия: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 60-летию со дня образования Гос. заповедника «Беловежская Пушча», 22–24 дек. 1999 г., п. Каменьюки, Брест. обл. / Белорус. гос. ун-т [и др.]; редкол.: А. И. Лучков (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 1999. – С. 70–72.
5. Сержанина, Г. И. Агариковые грибы Беловежской пушчи / Г. И. Сержанина // Беловежская пушча. Исследования: сб. науч. ст. / Гос. заповед.-охотн. хоз-во «Беловежская пушча»; редкол.: В. С. Гельтман [и др.]. – Минск, 1968. – Вып. 2. – С. 74–84.
6. Сержанина, Г. И. Шляпочные грибы Белоруссии: Определитель и конспект флоры / Г. И. Сержанина. – Минск: Наука и техника, 1984. – 407 с.
7. Бурова, Л. Г. Изучение грибов как компонента биогеоценоза / Л. Г. Бурова, Б. А. Томилин // Программа и методика биогеоценологических исследований / В. Н. Сукачев [и др.]; отв. ред. Н. В. Дылис. – М., 1974. – С. 122–131.
8. Васильева, Л. Н. Методика изучения макромицетов в лесных фитоценозах / Л. Н. Васильева // Проблемы изучения грибов и лишайников: IV симпозиум прибалт. микологов и лишайников: совещание по методике изучения грибов и лишайников в лесных биоценозах: докл. / Акад. наук Эстон. ССР. – Тарту, 1965. – С. 5–13.
9. Шубин, В. И. Макромицеты лесных фитоценозов таежной зоны и их использование / В. И. Шубин. – Л.: Наука, 1990. – 197 с.
10. Билай, В. И. Методы экспериментальной микологии / В. И. Билай. – Киев: Наук. думка, 1982. – 233 с.
11. Билай, В. И. Основы общей микологии / В. И. Билай. – Киев: Вища шк., 1974. – 395 с.
12. Гербарное дело: справ. рук-во / под ред. Д. Бридсон, Л. Формана. – Кью: Королев. бот. сад, 1995. – 341 с.
13. Роскин, Г. И. Микроскопическая техника / Г. И. Роскин. – М.: Совет. наука, 1967. – 447 с.
14. Кнооп, М. Все о грибах: пер. с нем. / М. Кнооп. – М.: Бертельсманн, 2005. – 256 с.
15. Orson, K. M. Gasteromycetes. Morphological and Developmental Features with Keys to the Orders Families and Genera / K. M. Orson Jr., H. M. Miller. – CA: Mad River Press, 1988. – 157 p.

References

1. Trappe J. M. Fungus associated of ectotrophic mycorrhizae. *Botanical Review*, 1962, vol. 28, no. 4, pp. 538–606. <https://doi.org/10.1007/BF02868758>
2. Błoński F. Spis roślin skrytokwiatowych, zebranych w r. 1887 w puszczy Białowieskiej. *Pamiętnik Fizyograficzny*, 1888, t. 8, dział 3, s. 75–119.
3. Błoński F. Spis roślin zarodnikowych, zebranych lub zanotowanych w lecie w r. 1887 w puszczech Białowieskiej, Świsłockiej i Ladzkiej. *Pamiętnik Fizyograficzny*, 1889, t. 9, dział 3, s. 63–101.
4. Poliksenova V. D., Girilovich I. S., Khramtsov A. K. On the issue of mycological and phytopathological studies in Belovezhskaya Pushcha. *Belovezhskaya pushcha na rubezhe tret'ego tysyacheletiya: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 60-letiyu so dnya obrazovaniya Gosudarstvennogo zapovednika «Belovezhskaya Pushcha», 22–24 dekabrya 1999 goda, poselok Kamenyuki, Brestskaya oblast'* [Belovezhskaya Pushcha at the turn of the third millennium: materials of the scientific and practical conference dedicated to the 60th anniversary of the formation of the State Reserve “Belovezhskaya Pushcha”, December 22–24, 1999, Kamenyuki village, Brest region]. Minsk, 1999, pp. 70–72 (in Russian).

5. Serzhanina G. I. Agaric mushrooms of Belovezhskaya Pushcha. *Belovezhskaya pushcha. Issledovaniya* [Belovezhskaya Pushcha. Researchs], 1968, iss. 2, pp. 74–84 (in Russian).
6. Serzhanina G. I. *Pileate fungus of Belarus: Key and summary of flora*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1984. 407 p. (in Russian).
7. Burova L. G., Tomilin B. A. The study of fungi as a component of biogeocenosis. Moscow, 1974, pp. 122–133 (in Russian).
8. Vasil'eva L. N. Methodology for studying macromycetes in forest phytocenoses. *Problemy izucheniya gribov i lishainikov: IV simpozium pribaltiiskikh mikologov i likhenologov: soveshchanie po metodike izucheniya gribov i lishainikov v lesnykh biotsenozakh: doklady* [Problems of studying fungi and lichens: IV Symposium of Baltic mycologists and lichenologists: meeting on the methodology for studying fungi and lichens in forest biocenoses: reports]. Tartu, 1965, pp. 5–13 (in Russian).
9. Shubin V. I. *Macromycetes of forest phytocenoses of the taiga zone and their use*. Leningrad, Nauka Publ., 1990. 197 p. (in Russian).
10. Bilai V. I. *Methods of experimental mycology*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1982. 233 p. (in Russian).
11. Bilai V. I. *Basics of general mycology*. Kiev, Vishcha shkola Publ., 1974. 395 p. (in Russian).
12. Forman L., Bridson D. (eds.). *The herbarium handbook*. Surrey, Royal Botanic Gardens, 1989. 218 p.
13. Roskin G. I. *Microscopic technique*. Moscow, Sovetskaya nauka Publ., 1967. 447 p. (in Russian).
14. Knoop M. *Pilze. Bestimmen, Sammeln, Zubereiten*. München, Bassermann, 2001. 256 S.
15. Orson K. M., Miller H. M. *Gasteromycetes. Morphological and Developmental Features with Keys to the Orders Families and Genera*. CA, Mad River Press, 1988. 157 p.

Информация об авторе

Антонович Анна Олеговна – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anaria1995@mail.ru

Information about the author

Hanna O. Antonovich – Postgraduate student, 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: anaria1995@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 574.5
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-136-146>

Поступила в редакцию 08.11.2022
Received 08.11.2022

А. Ю. Карпаева

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

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И ЧИСЛЕННОСТИ ФИТОПЛАНКТОНА В ПЕЛАГИАЛИ И ЛИТОРАЛИ ОЗЕРА ОБСТЕРНО

Аннотация. Изучены сезонные изменения таксономического состава и численности фитопланктона в литорали и пелагиали оз. Обстерно. Установлены характерные различия для литорали и пелагиали. Так, численность фитопланктона в литоральной зоне была выше в апреле, августе и декабре, в остальные месяцы она была выше в пелагической зоне. В эти же месяцы было выше и его видовое богатство в литоральной зоне. На выявленные различия в наибольшей степени влияло как количество биогенных элементов (азота и фосфора), так и температурный фактор.

Ключевые слова: фитопланктон, сезонная динамика, видовой состав, численность, литораль, пелагиаль

Для цитирования: Карпаева, А. Ю. Сезонные изменения таксономической структуры и численности фитопланктона в пелагиали и литорали озера Обстерно / А. Ю. Карпаева // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 136–146. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-136-146>

Anastasiya Yu. Karpaeva

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

SEASONAL CHANGES IN THE TAXONOMICAL STRUCTURE AND ABUNDANCE OF PHYTOPLANKTON IN THE PELAGIAL AND LITTORAL ZONES OF OBSTERNO LAKE

Abstract. We studied the seasonal changes in the taxonomic composition and abundance of phytoplankton in the littoral and pelagic zones of Obsterno Lake. A number of important differences recorded for the littoral and pelagic zones. The abundance in the littoral zone is higher in April, August and December. In other months it is higher in the pelagic zone. In the same months, the species richness in the littoral zone is also higher. These differences were influenced by such factors as biogenic elements (nitrogen and phosphorus), as well as the temperature factor.

Keywords: phytoplankton, seasonal dynamics, species composition, abundance, littoral, pelagial

For citation: Karpaeva A. Yu. Seasonal changes in the taxonomical structure and abundance of phytoplankton in the pelagial and littoral zones of Obsterno Lake. *Vestsi Natsyonal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 136–146 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-136-146>

Введение. Фитопланктон является одной из наиболее восприимчивых к изменяющимся факторам среды экологической группой [1]. В связи с этим различия в видовом и количественном составе наблюдаются как между озерами, так и в каждом озере в отдельности. Кроме того, значительные различия видового состава и численности отмечаются не только в течение одного вегетационного сезона, но и в определенный момент времени в разных участках водоема [2].

Для сообществ литорали и пелагиали характерен ряд значительных отличий. Доступно большое количество источников литературы, в которых описаны общие закономерности пелагических и литоральных зон как морских, так и пресноводных водоемов [2, 3]. В то же время в большинстве исследований приводятся в основном морфометрические, гидрохимические различия литорали и пелагиали, а количество работ, посвященных сравнительному анализу разнообразия и динамики численности фитопланктона в литоральной и пелагической зонах озер Беларуси, невелико [4, 5].

Цель работы – изучение фитопланктонных сообществ для прогнозирования развития локальных водных экосистем, а также возможных последствий их эвтрофирования.

Материалы и методы исследования. Материалом для настоящей работы служили пробы фитопланктона, собранные в течение вегетационного сезона с апреля по ноябрь в 2020 и 2021 гг. в литоральной и пелагической зонах мезотрофного мелководного оз. Обстерно.

Оз. Обстерно расположено в Миорском районе Витебской области, входит в Обстерновскую (Перебродскую) группу озер. Его площадь составляет 9,89 км², средняя глубина – 5,3 м, прозрачность в летние месяцы по диску Секки – 4,5 м [5, 6]. Температура воды в поверхностном слое и у дна различается в среднем на 1,8–2 °С, у дна – почти на 1 °С.

Отбор проб фитопланктона производили по общепринятым гидробиологическим методам [7]. С каждой станции (литораль и пелагиаль) отбирали разово по три пробы и проводили фиксацию их формалином, концентрация которого в пробе составляла 2 %.

Параллельно проводили измерение основных абиотических факторов, обуславливающих развитие фитопланктона в водоеме (см. таблицу). В лабораторных условиях определяли гидрохимические показатели (концентрации азота, аммонийного азота и минерального фосфора). Содержание фосфатов, а также ионов азота и аммония определяли с помощью прибора Hanna 83000, растворенного фосфора – путем добавления персульфата (NH₄)₂S₂O₈) и аскорбиновой кислоты.

Статистическую значимость различий между двумя выборками определяли после нормализации данных методом логарифмирования с помощью программ STATISTICA 8.0 и Microsoft Excel 2013.

Показатели основных абиотических факторов и концентрации биогенных элементов в литорали и пелагиали оз. Обстерно в 2020–2021 гг.

Main abiotic factors and the concentration of biogenic elements in the littoral and pelagial of Lake Obsterno in 2020–2021

Показатель	2020 г.		2021 г.	
	Литораль	Пелагиаль	Литораль	Пелагиаль
<i>Апрель</i>				
Температура, °С	8,8	10,3	–	–
pH	7,5	7,4	–	–
PO ₄ , мг/л	0,023	0,016	–	–
NO ₃ , мг/л	2	1,5	–	–
NH ₄ , мг/л	0,22	0,2	–	–
<i>Май</i>				
Температура, °С	–	–	13,1	11,2
pH	–	–	8,13	8,19
PO ₄ , мг/л	–	–	0,02	0,2
NO ₃ , мг/л	–	–	0	0
NH ₄ , мг/л	–	–	0,08	0,09
<i>Июнь</i>				
Температура, °С	21,1	20,8	22,4	20,6
pH	9,02	9,08	8,14	8,11
PO ₄ , мг/л	0,046	0,087	0,023	0,037
NO ₃ , мг/л	1,3	1,5	0,2	0
NH ₄ , мг/л	0,39	0,68	0,2	0,27
<i>Июль</i>				
Температура, °С	22,5	22,1	24,5	25
pH	7,4	7,5	8,68	8,83
PO ₄ , мг/л	0,03	0,048	0,017	0,32
NO ₃ , мг/л	2,4	2,2	0,04	0
NH ₄ , мг/л	0,3	0,31	0,17	0,09

Окончание таблицы

Показатель	2020 г.		2021 г.	
	Литораль	Пелагиаль	Литораль	Пелагиаль
<i>Август</i>				
Температура, °С	–	–	22,6	22
pH	–	–	8,62	8,32
PO ₄ , мг/л	–	–	0,017	0,056
NO ₃ , мг/л	–	–	0,04	0
NH ₄ , мг/л	–	–	0,09	0,09
<i>Сентябрь</i>				
Температура, °С	18,5	18	11,3	11,1
pH	7,3	7,2	8,6	8,43
PO ₄ , мг/л	0,017	0,043	–	–
NO ₃ , мг/л	2,5	0,4	–	–
NH ₄ , мг/л	0,05	0,27	–	–
<i>Ноябрь</i>				
Температура, °С	7,9	7,9	–	–
pH	7,3	7,2	–	–
PO ₄ , мг/л	0,05	0,3	–	–
NO ₃ , мг/л	0,4	0	–	–
NH ₄ , мг/л	0,15	0,24	–	–
<i>Декабрь</i>				
Температура, °С	–	–	2	2
pH	–	–	8,4	8,5

В лабораторных условиях концентрацию фитопланктона определяли методом отстаивания (изначальный объем – 0,5 л). Подсчет плотности (численности) фитопланктона осуществляли в камере Фукса–Розенталя.

Видовой состав определяли с помощью светового микроскопа фирмы micro Austria и CarlZeiss (модель Axiostarplus) при 100-, 200- и 400-кратном увеличении.

Результаты и их обсуждение. Анализ таксономической структуры фитопланктона оз. Обстерно показал, что в водоеме представлено 7 отделов водорослей, включающих 11 классов, 16 порядков, 35 семейств, 49 родов и 74 вида.

Количество видов в отделах распределено неравнозначно. Наибольшее видовое богатство характерно для отдела Chlorophyta (39 % от общего числа видов). Зеленые водоросли представлены 29 видами, которые относятся к 20 родам из 13 семейств, объединенных в 5 порядков.

По числу видов выделяются роды *Oocystis* (4) и *Scenedesmus* (3). Остальные роды представлены одним-двумя видами. Также значительную часть видового богатства составляют представители отдела Bacillariophyta (26 видов). На долю этого отдела приходится 35 % от общего числа видов. В данном отделе по количеству видов преобладали роды *Cymbella* (5) и *Navicula* (4).

На основании полученных данных проведен сравнительный анализ сезонных изменений таксономического состава и численности фитопланктона в пелагиали и литорали оз. Обстерно. Сезонная динамика численности фитопланктона в целом соответствовала PEG-модели сезонной сукцессии стандартного озера [8].

Апрель. В апреле различия между литоральной и пелагической зонами были выражены незначительно. Численность в пелагиали составила 1,24 млн кл/л, в литорали – 1,46 млн кл/л. Доминирующими на обеих станциях были отделы Cyanophyta и Bacillariophyta (рис. 1).

Для литорали и пелагиали характерно небольшое видовое богатство. В апреле в литорали было обнаружено 20 видов водорослей фитопланктона, в пелагиали – 17. Общее для двух станций число видов – 16. Индекс Сёренсена составил 0,70.

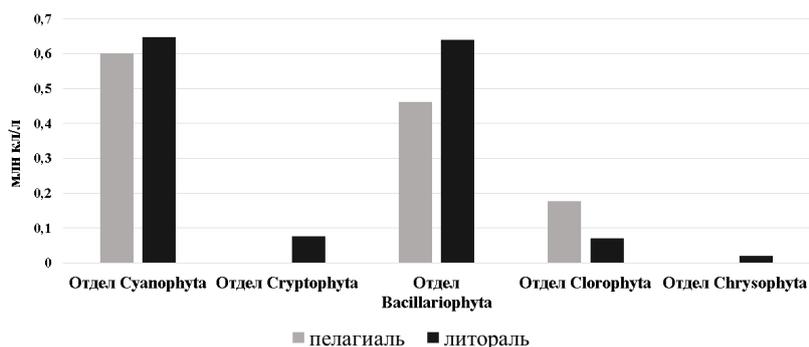


Рис. 1. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в апреле

Fig. 1. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in April

Выявленное сходство между двумя биотопами можно объяснить сходством биотических факторов: температура на двух станциях отличалась на 1,5 °C (у дна различий не наблюдалось), концентрация биогенных элементов также имела незначительные различия.

Май. В мае различия в численности между двумя станциями по-прежнему были статически незначимы (t -критерий составил 0,24). Численность в литорали составила 1,49 млн кл/л, в пелагиали – 1,53 млн кл/л. Основную долю в видовом богатстве в пелагиали составили диатомовые – 0,48 млн кл/л. В литоральной зоне численность диатомовых была значительно ниже – 0,1 млн кл/л. В литорали доминировали виды отделов Cyanophyta и Chrysophyta (рис. 2). Увеличение доли отдела Chrysophyta (35 %) и сокращение при этом численности диатомовых, вероятно, связано с низкими концентрациями неорганического фосфора (литораль – 0,02 мг/л, пелагиаль – 0,2 мг/л). При таких концентрациях резко возрастает численность видов *Dinobryon divergens* и *Dinobryon bavaricum*, однако для видов других отделов указанные выше концентрации являются слишком низкими [9].

Количество видов в пелагиали в мае было заметно выше (21 вид), в то время как в литоральной зоне было обнаружено всего 12 видов. Общими для двух станций были всего 5 видов, коэффициент Сёренсена составил 0,36.

Поскольку количество идентифицированных видов в пелагиали выше преимущественно за счет диатомовых, можно предположить, что основной причиной различий в этом месяце послужил лучший прогрев литоральной зоны, где температура была на 2 °C выше, чем в пелагиали (там все еще доминировали холодолюбивые диатомовые *Stephanodiscus sp.* и *Asterionella formosa*).

Июнь. Для июня характерно значительное увеличение численности фитопланктона. Максимальная его численность была зафиксирована в пелагической зоне (в 2020 г. – 3,63 млн кл/л, в 2021 г. – 4,32 млн кл/л). В литорали численность фитопланктона была несколько ниже (в 2020 г. – 2,28 млн кл/л, в 2021 г. – 1,9 млн кл/л). Более низкие значения численности в литоральной зоне можно объяснить пониженным содержанием минерального азота и фосфора в сравнении с пела-

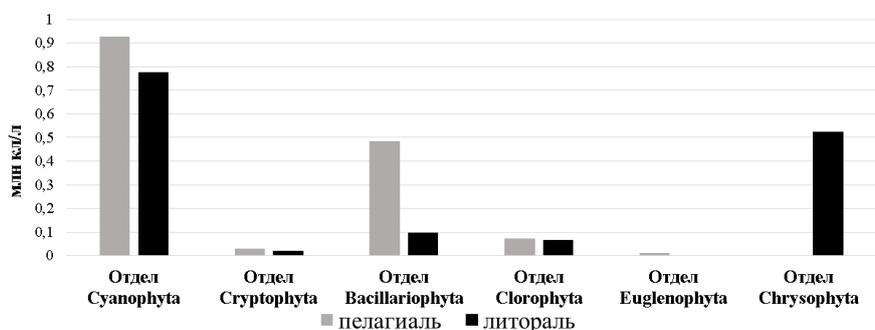


Рис. 2. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в мае

Fig. 2. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in May

гической зоной. В связи с этим численность водорослей отдела Cyanophyta в литоральной зоне была ниже, чем в пелагиали (рис. 3). В 2020 г. в литорали она составила 0,73 млн кл/л (1,82 млн кл/л в пелагиали), а в 2021 г. – 1,27 млн кл/л (3,76 млн кл/л в пелагиали).

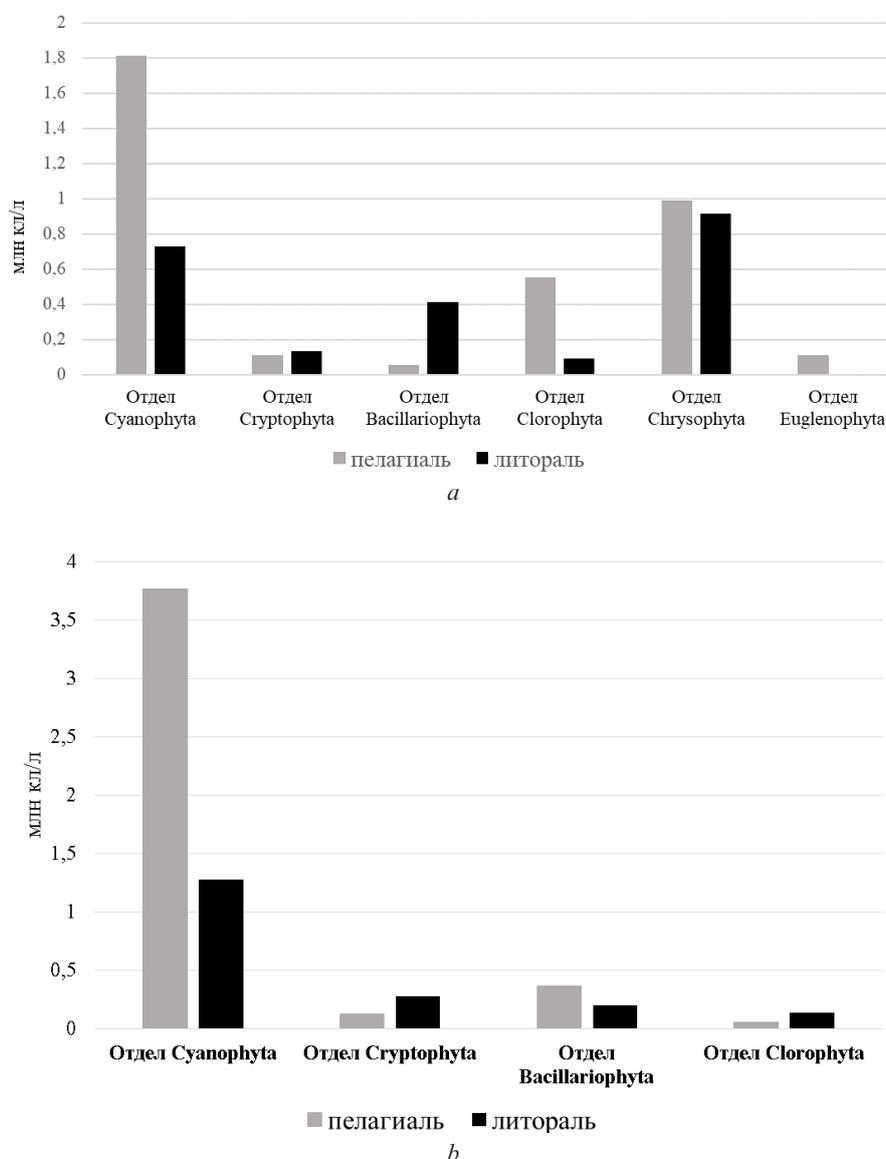


Рис. 3. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в июне (а – 2020 г., б – 2021 г.)

Fig. 3. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagic and littoral zones in June (a – 2020, b – 2021)

Кроме того, представленные зоны отличались по видовому богатству. В пелагической зоне обнаружено 12 (2020 г.) и 11 (2021 г.) видов, в литоральной – 13 (2020 г.) и 15 (2021 г.). Количество общих для двух биотопов видов не превышало 5. Индекс Сёренсена в 2020 г. составил 0,2, в 2021 г. – 0,38.

Июль. По сравнению с предыдущим месяцем численность фитопланктона в июле значительно снизилась. Максимум был зафиксирован в пелагической зоне: в 2020 г. – 0,58 млн кл/л, в 2021 г. – 2,04 млн кл/л. Значения средней численности в литоральной зоне оказались более низкими (в 2020 г. – 0,5 млн кл/л, в 2021 г. – 1,97 млн кл/л).

Кроме того, отмечалась явное увеличение доли отдела Chlorophyta по сравнению с предыдущими месяцами. Этот отдел преобладал также по количеству видов (в 2020 г. – 8, в 2021 г. – 9). Развитие водорослей отдела Chlorophyta в основном было лимитировано концентрациями минерального азота, в меньшей степени – фосфора. Так как в июле концентрации фосфора были низ-

кими, а концентрации азота, наоборот, высокими, зеленые водоросли развивались лучше, чем водоросли других отделов [10]. Особенно это было характерно для *Dictyosphaerium pulchellum*, который преобладал по численности оба сезона. Его развитие напрямую зависело от содержания азота [11].

Как и в предыдущем месяце, по численности доминировал отдел Cyanophyta. В 2020 г. на его долю приходилось 55 % от общей численности фитопланктона, в 2021 г. – 42 %. Снижение численности данного отдела в июле может быть связано со слишком высокими температурами прогрева воды как в литоральной части, так и в пелагиали.

Следует также отметить, что между литоральной и пелагической зонами как в 2020 г., так и в 2021 г. процентные различия по численности были незначительны (рис. 4). Более высокая численность, отмеченная в 2021 г. в пелагической части озера, по всей видимости, объясняется высокой концентрацией биогенного фосфора в пелагиали (0,32 мг/л) и значительно более низкими его значениями в литорали (0,017 мг/л).

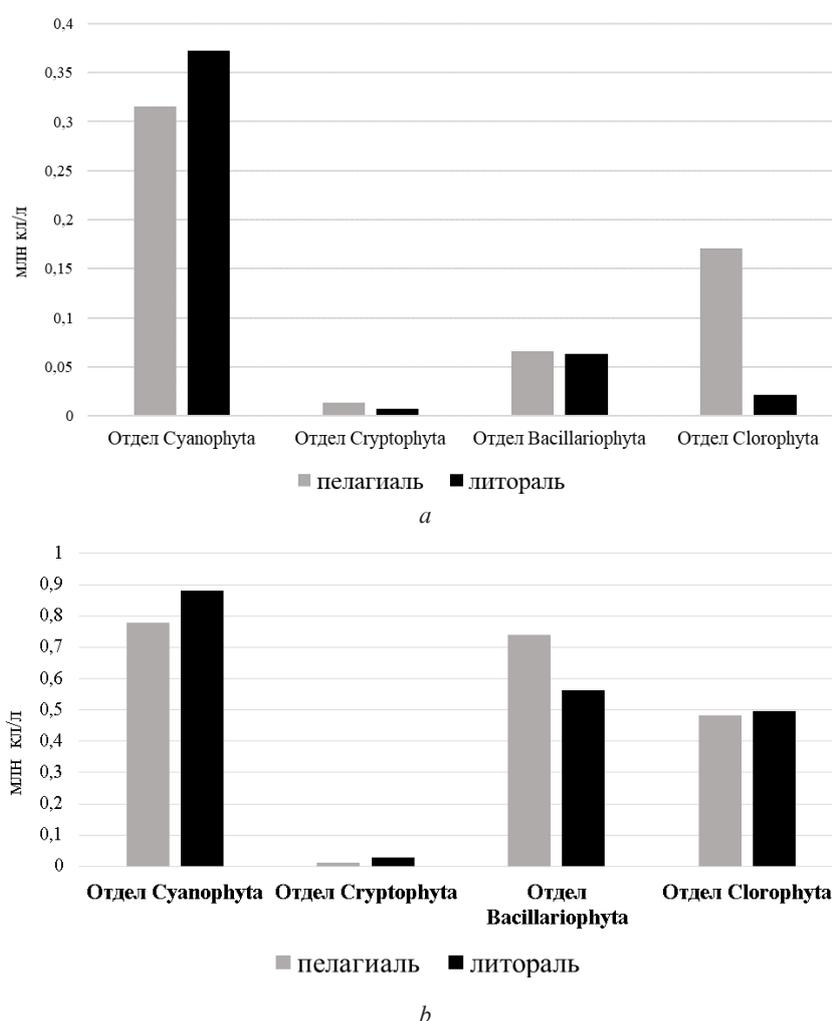


Рис. 4. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в июле (a – 2020 г., b – 2021 г.)

Fig. 4. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in July (a – 2020, b – 2021)

Видовое богатство в 2020 г. в пелагиали составило 12 видов, в то время как в литоральной части озера идентифицировано 14 видов. В 2021 г. была выявлена иная закономерность. В пелагиали идентифицирован 21 вид, в литорали – 18 видов. Однако различия в количестве видов между станциями в данном случае были незначительными. Кроме того, следует отметить,

что количество общих для двух биотопов видов в 2021 г. было достаточно высоким (11 видов). Индекс Сёренсена в 2021 г. составил 0,56. В 2020 г. эти значения были несколько ниже. Общими для двух станций были 5 видов (индекс Сёренсена – 0,38).

Август. Для августа характерны небольшие колебания численности. В пелагиали изменения незначительны. Численность оставалась приблизительно на прежнем уровне – 1,51 млн кл/л. При этом средняя температура воды в пелагиали составила 22 °С, что на два градуса ниже, чем в предыдущем месяце. Кроме того, резко снизилась концентрация минерального фосфора, однако на численности синезеленых водорослей это существенно не сказалось. В основном снижение численности происходило за счет водорослей отделов Chlorophyta и Bacillariophyta.

Иная картина наблюдалась в литоральной части: здесь численность фитопланктона увеличилась с 1,97 до 3,03 млн кл/л. На фоне снижения численности водорослей отделов Chlorophyta и Bacillariophyta увеличилась доля отдела Cyanophyta – с 0,88 млн кл/л в июле до 1,98 млн кл/л в августе. Данная закономерность может быть связана с понижением температуры и достижением температурного оптимума для некоторых видов синезеленых водорослей (рис. 5).

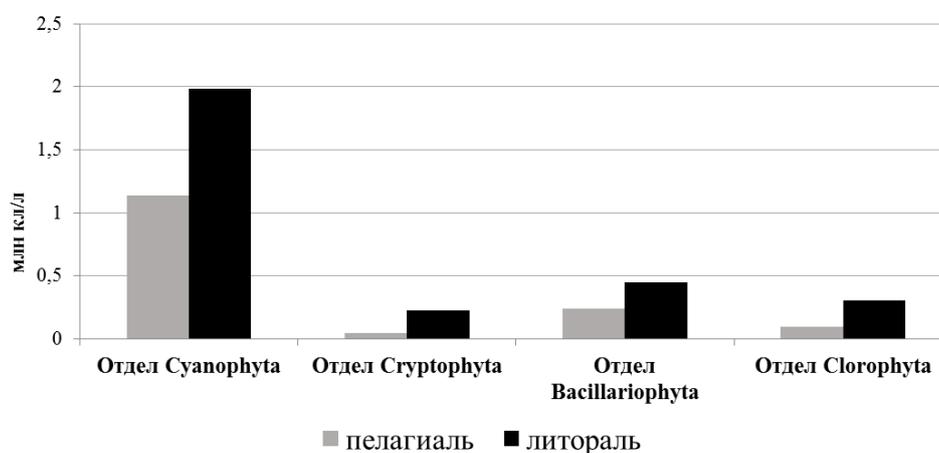


Рис. 5. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в августе 2021 г.

Fig. 5. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in August 2021

В литорали обнаружено также большее количество видов (17), чем в пелагиали (12). Высокое видовое богатство в литорали обычно обусловлено гетерогенностью местообитаний (морфологией дна, разнообразной водной растительностью). Помимо этого, метаболиты водной растительности могут оказывать как отрицательный, так и стимулирующий эффект на развитие различных видов фитопланктона [4].

В литорали идентифицировано большее количество видов цианобактерий и зеленых водорослей, в то время как в пелагиали, где температуры были ниже, зафиксировано большее количество диатомовых водорослей. При этом коэффициент Сёренсена оставался достаточно высоким – 0,63.

Сентябрь. Для этого месяца характерны средние годовые величины численности фитопланктона. Средняя численность для всего озера в сентябре 2020 г. составила 2,42 млн кл/л, в 2021 г. – 1,39 млн кл/л. Соответственно, уменьшение средней численности было связано со снижением средней температуры воды.

В сентябре между литоралью и пелагиалью также имелись свои различия: наибольшая численность как в 2020 г. (2,84 млн кл/л), так и в 2021 г. (2,79 млн кл/л) зафиксирована в пелагической зоне. Для литорали эти значения были несколько ниже – 1,99 млн кл/л в 2020 г. и 2 млн кл/л в 2021 г. В пелагиали значительно интенсивнее развивались представители отдела Cyanophyta, численность которых в 2020 г. составила 2,2 млн кл/л, а в 2021 г. – 2,16 млн кл/л (для сравнения: в литоральной части оз. Обстерно численность синезеленых водорослей как в 2020 г., так и в 2021 г. не превышала 1,3 млн кл/л). Доминирующим видом на обеих станциях был *Microcystis*

aeruginosa. Его интенсивное развитие в этом месяце можно объяснить высокими величинами pH (>8) в 2021 г., стабильной вертикальной стратификацией столба воды, все еще высоким уровнем надводной освещенности и достаточно высокими показателями концентрации биогенного азота и фосфора [12].

Низкие значения численности как в 2020 г., так и в 2021 г. в литоральной части были характерны для отдела Chlorophyta, более высокие – для диатомовых водорослей (рис. 6).

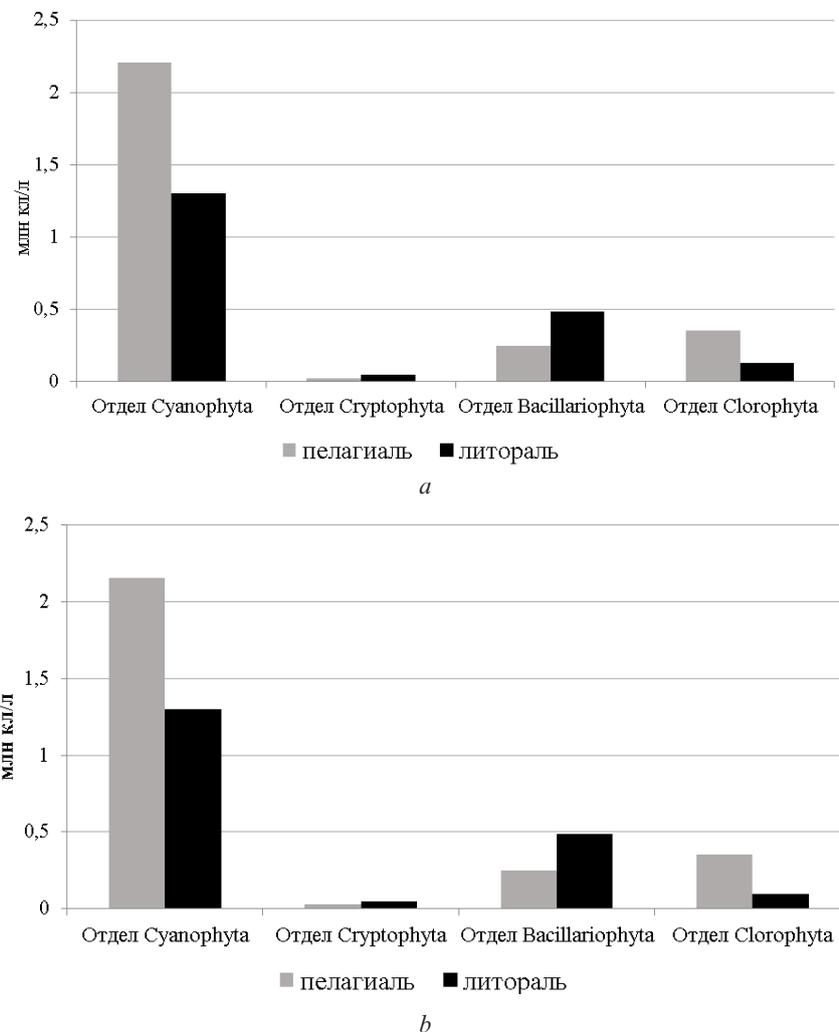


Рис. 6. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в сентябре (a – 2020 г., b – 2021 г.)

Fig. 6. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in September (a – 2020, b – 2021)

Кроме того, в пелагической зоне в 2020 и 2021 гг. идентифицировано большее количество видов – 19, чем в эти же годы в литоральной части (в 2020 г. – 15 видов, в 2021 г. – 14 видов). При этом коэффициент Сёренсена имел практически одинаковые значения – 0,47 и 0,48 в 2020 и 2021 гг. соответственно.

Ноябрь. Наблюдения за численностью фитопланктона в ноябре 2020 г. показали резкое снижение численности как в литорали, так и в пелагиали. Максимальная численность в этот период была зафиксирована в пелагической части озера – 0,54 млн кл/л. Температура воды на двух станциях составляла 7,9 °С. Данные температурные показатели объясняют низкие значения общей численности (рис. 7). Доминирующим как по численности, так и по количеству видов являлся отдел Bacillariophyta. В пелагиали численность диатомовых составила 0,37 млн кл/л (69 % от общей численности), в литорали – 0,26 млн кл/л (72 % от общей численности). Такое преобладание

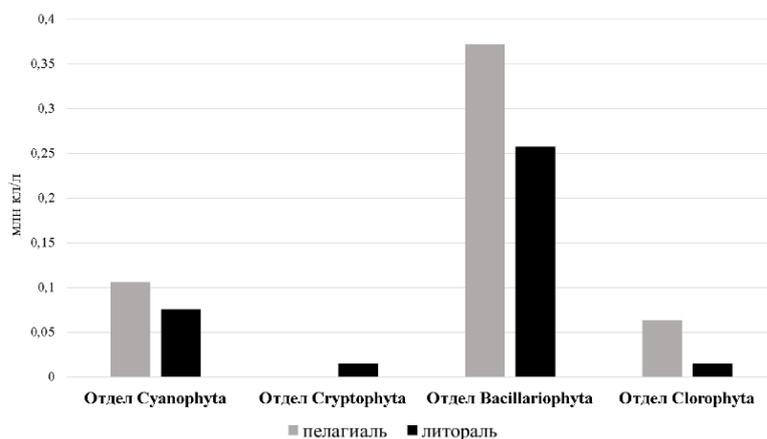


Рис. 7. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в ноябре 2020 г.

Fig. 7. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in November 2020

диатомовых объясняется их экологическими особенностями, поскольку большинство видов являются холодолюбивыми.

В ноябре идентифицировано 13 видов водорослей (9 – в пелагиали, 6 – в литорали). Коэффициент Сёренсена составил 0,27.

Декабрь. В декабре значительное увеличение численности отмечалось в основном за счет отдела диатомовых водорослей. В этом месяце качественные и количественные показатели представленных видов водорослей преобладали в литоральной зоне. Уровень количественного развития на этой станции достигал 3,35 млн кл/л, при этом доля видов отдела Bacillariophyta составила 35 % (1,15 млн кл/л). Далее по численному преобладанию следовали отделы Cyanophyta (1,1 млн кл/л) и Chlorophyta (1,03 млн кл/л). Температура в литорали не превышала 2 °С. Низкие температуры объясняют численное преобладание диатомовых.

В пелагиали численность фитопланктона значительно ниже (1,83 млн кл/л), в основном за счет представителей отделов Chlorophyta и Bacillariophyta. Количество синезеленых водорослей не отличалось от количества представителей этого отдела в литоральной части озера и составляло 1,1 млн кл/л (рис. 8). Температура в пелагической зоне также составила 2 °С. Соответственно, температурный фактор в данном случае не является ключевым при объяснении количественных различий.

По количеству обнаруженных видов в декабре выделялась литораль (21 вид), значительно меньше зафиксировано в пелагиале (14 видов). Различия касались в основном представителей от-

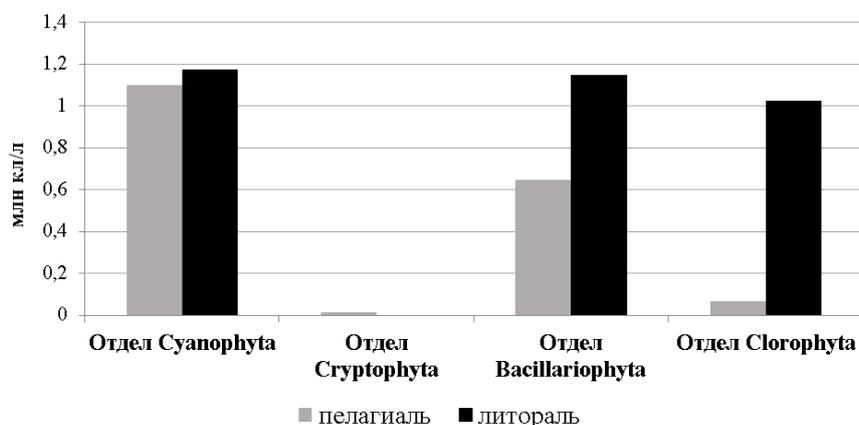


Рис. 8. Соотношение численности фитопланктона разных отделов в пелагиали и литорали в декабре 2021 г.

Fig. 8. Abundance ratio of phytoplankton divisions in the pelagial and littoral zones in December 2021

делов зеленых и диатомовых водорослей. При этом коэффициент Сёренсена был достаточно высоким – 0,46.

Заклучение. Таким образом, сезонная динамика качественных и количественных показателей фитопланктона для всего озера в целом соответствовала стандартной модели сезонной сукцессии. В апреле доминировал комплекс холодолюбивых диатомовых водорослей, который в мае, в связи со снижением концентраций неорганического фосфора, сменялся видами из отдела Chrysophyta. Летом наблюдалось увеличение численности фитопланктона за счет зеленых и синезеленых водорослей. Однако ярко выраженного пика их цветения за два года не наблюдалось. Осень (вплоть до декабря) характеризовалась закономерным снижением численности.

В результате сравнительного анализа сезонных изменений таксономического состава и численности фитопланктона в пелагиали и литорали оз. Обстерно отмечен ряд характерных различий между данными экологическими зонами. Численность фитопланктона в литоральной зоне была выше в апреле, августе и декабре. В остальные месяцы исследований она была выше в пелагической зоне. В эти же месяцы (апрель, август, декабрь) было выше и видовое богатство в литоральной зоне. Различия между пелагической и литоральной частями озера в наибольшей степени связаны с влиянием абиотических факторов, таких как количество минерального азота и фосфора, а также с температурным фактором и напрямую зависят от стратификации. В то же время степень их воздействия варьировалась в зависимости от сезона.

Список использованных источников

1. Лепская, Е. В. Фитопланктон в экосистеме озера Курильское: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.18 / Е. В. Лепская ; Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии. – Владивосток, 2004. – 23 с.
2. Seasonal changes in the phytoplankton taxonomic structure and photosynthetic pigments in pelagial and littoral of two interconnected lakes in Belarus / Zh. F. Buseva [et al.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 3. – С. 310–318.
3. Разнообразие, структура и функционирование морских и прибрежных экосистем [Электронный ресурс] / А. Б. Цетлин [и др.] // ИСТИНА. – Режим доступа: <https://istina.msu.ru/projects/14927586/>. – Дата доступа: 22.10.2022.
4. Семенченко, В. П. Факторы, определяющие суточное распределение и перемещения зоопланктона в литоральной зоне пресноводных озер (обзор) / В. П. Семенченко, В. И. Разлуцкий // Журн. Сиб. фед. ун-та. Сер. Биология. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 191–225.
5. Стехиометрический состав сестона в литорали и пелагиали мелководного озера Обстерно (Беларусь) / Ж. Ф. Бусева [и др.] // Докл. Нац. акад. навук Беларусі. – 2018. – Т. 62, № 3. – С. 304–310. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-3-304-310>
6. Оношко, И. И. Оценка состояния среды и рыбохозяйственное значение озера Обстерно / И. И. Оношко, Т. И. Попиначенко // Вопр. рыб. х-ва Беларусі. – 2011. – № 27. – С. 168–177.
7. Михеева, Т. М. Методы количественного учета нанопланктона (обзор) / Т. М. Михеева // Гідробіол. журн. – 1989. – Т. 25, № 4. – С. 3–21.
8. Sommer, U. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters / U. Sommer, Z. M. Gliwicz // Arch. für Hydrobiol. – 1986. – Vol. 106, N 4. – P. 433–471. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/106/1986/433>
9. Armstrong, G. D. Colonies as defence in the freshwater phytoplankton genus Dinobryon (Chrysophyceae) / G. D. Armstrong. – Vancouver : Univ. of Brit. Columbia, 1985. – 178 p.
10. On the abundance of epiphytic green algae in relation to the nitrogen concentrations of biomonitors and nitrogen deposition in Finland / J. Poikolainen [et al.] // Nitrogen, the Confer-N-s : proc. of the first Int. nitrogen conf., March 23–27, 1998, Noordwijkerhout, The Netherlands / eds. : K. W. Van der Hoek [et al.]. – The Netherlands, 1998. – P. 85–92.
11. Irfanullah, H. M. Ecology of Dictyosphaerium pulchellum Wood (Chlorophyta, Chlorococcales) in a shallow, acid, forest lake / H. M. Irfanullah, B. Moss // Aquat. Ecol. – 2006. – Vol. 40, N 1. – P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10452-005-9011-5>
12. Колмаков, В. И. Роль прижизненного прохождения Microcystis aeruginosa через пищеварительные тракты животных-фильтраторов в эвтрофных водоемах (обзор) / В. И. Колмаков // Сиб. экол. журн. – 2014. – № 4. – С. 601–613.

References

1. Lepskaya E. V. *Phytoplankton in the ecosystem of Lake Kurilskoye*. Abstract of Ph. D. diss. Vladivostok, 2004. 23 p. (in Russian).
2. Buseva Zh. F., Farahani S. G., Sysova E. A., Ozolins D., Sushchik N. N., Kolmakova A. A., Veras Y. K. Seasonal changes in the phytoplankton taxonomic structure and photosynthetic pigments in pelagial and littoral of two interconnected lakes in Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, no. 3, pp. 310–318.

3. Bol'shakov F. V., Bubnova E. N., Grum-Grzhimailo O. A., Zhadan A. E., Kolbasov G. A., Kolbasova G. D. [et al.]. Diversity, structure and functioning of marine and coastal ecosystems. *ISTINA*. Available at: <https://istina.msu.ru/projects/14927586/> (accessed 22.10.2022) (in Russian).
4. Semenchenko V. P., Razlutskiy V. I. Factors that determine the daily distribution and movement of zooplankton in the littoral zone of freshwater lakes (review). *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Seriya: Biologiya* [Journal of the Siberian Federal University. Series Biology], 2009, no. 2, pp. 191–225 (in Russian).
5. Buseva Zh. V., Gazerani Farahani Sh. B., Veres Yu. K., Kolmakova A. A., Sushchik N. N. Stoichiometric composition of seston in littoral and pelagial zones of shallow lake Obsterno (Belarus). *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, no. 3, pp. 304–310 (in Russian).
6. Onoshko I. I., Popinachenko T. I. State assessment of the environment and the fishery importance of Obsterno Lake *Voprosy rybnogo khozyaistva Belarusi* [Issues of fisheries in Belarus], 2011, no. 27, pp. 168–177 (in Russian).
7. Mikheeva T. M. Methods of quantitative enumeration of nanophytoplankton (review). *Gidrobiologichnii zhurnal = Hydrobiological Journal*, 1989, vol. 25, no. 4, pp. 3–21 (in Russian).
8. Sommer U. Z. M. Gliwicz. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*, 1986, vol. 106, no. 4, pp. 433–471. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/106/1986/433>
9. Armstrong G. D. Colonies as defence in the freshwater phytoplankton genus *Dinobryon* (Chrysophyceae). Vancouver, University of British Columbia, 1985. 178 p.
10. Poikolainen J., Lippo H., Hongisto M., Kubin E., Mikkola K., Lindgren M. On the abundance of epiphytic green algae in relation to the nitrogen concentrations of biomonitors and nitrogen deposition in Finland. *Nitrogen, the Confer-N-s: Proceedings of the First International Nitrogen Conference, March 23–27, 1998*. Noordwijkerhout, The Netherlands, 1998, pp. 85–92.
11. Irfanullah H. M., Moss B. Ecology of *Dictyosphaerium pulchellum* Wood (Chlorophyta, Chlorococcales) in a shallow, acid, forest lake. *Aquatic Ecology*, 2006, vol. 40, no. 1, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10452-005-9011-5>
12. Kolmakov V. I. The role of intravital passage of *Microcystis aeruginosa* through the digestive tracts of filter-feeding animals in eutrophic water bodies (review). *Sibirskii ekologicheskii zhurnal* [Siberian ecological journal], 2014, no. 4, pp. 601–613 (in Russian).

Информация об авторе

Карпаева Анастасия Юрьевна – бакалавр, магистрант, мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: karpaevanastyal@gmail.com

Information about the author

Anastasiya Yu. Karpaeva – Bachelor, Undergraduate student, Junior Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Biore-sources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: karpaevanastyal@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 595.384.16:591.9(282.247.28)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-147-153>

Поступила в редакцию 10.10.2022

Received 10.10.2022

А. В. Алехнович

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

ПЛОДОВИТОСТЬ ДЛИННОПАЛОГО РАКА *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS* В ВОДОЕМАХ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Оценены овариальная плодовитость и плодовитость перед выклевом личинок длиннопалого рака в озерах и водохранилищах Беларуси. За исключением оз. Кичино, для всех остальных водных объектов показатели плодовитости самок перед выклевом личинок в зависимости от длины статистически не различались. Наибольшие потери яиц отмечены в период нереста, т. е. откладки яиц, их оплодотворения и прикрепления к плеоподам самки. За этот короткий период (2–3 ч) смертность яиц у самок 120 мм TL составляла 30 %, у мелких самок она снижалась, у крупных увеличивалась. За период вынашивания кладки смертность яиц составляла в среднем 8 %. Общие потери яиц за период вынашивания кладки – от 4 % у самок 80 мм TL, впервые участвующих в размножении, до 45 % у самок 160 мм TL.

Ключевые слова: длиннопалый рак, плодовитость овариальная и перед выклевом личинок, водоемы Беларуси

Для цитирования: Алехнович, А. В. Плодовитость длиннопалого рака *Pontastacus leptodactylus* в водоемах Беларуси / А. В. Алехнович // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 147–153. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-147-153>

Anatoly V. Alekhnovich

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

FECUNDITY OF THE NARROW-CLAWED CRAYFISH *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS* IN THE WATER BODIES OF BELARUS

Abstract. Pre-larvae hatching fecundity and ovarian fecundity of narrow-clawed crayfish populations were estimated in the lakes and reservoirs of Belarus. Statistically significant differences in the fecundity of females from various water bodies were noted only for Lake Kichino. For all other water bodies, the fecundity dependence on the length of females did not differ statistically and was described by one equation. The greatest loss of eggs was noted during the spawning period (oviposition), insemination and attachment to pleopods of the female. During this short period (2–3 hours), egg mortality of females 120 mm TL is 30 %, it decreases for small females and increases for large ones. During the gestation period, egg mortality averages 8 %.

Keywords: narrow-clawed crayfish, pre-larvae hatching fecundity and ovarian fecundity, water bodies of Belarus

For citation: Alekhnovich A. V. Fecundity of the narrow-clawed crayfish *Pontastacus leptodactylus* in the water bodies of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 147–153 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-147-153>

Введение. Численность популяций определяется соотношением таких показателей, как пополнение популяций и смертность особей. Пополнение оценивается по плодовитости особей. Плодовитость длиннопалого рака может измеряться количеством яиц в яичниках или на плеоподах самки. Плодовитость, оцениваемая по количеству яиц в яичниках самки непосредственно перед откладкой яиц на плеоподы, дает представление о тратах энергии на размножение, а плодовитость, оцениваемая по количеству яиц на плеоподах самки в весенний период, перед выходом личинок, – о величине пополнения популяций молодью.

Вынашивание яиц на плеоподах самки у речных раков продолжается 3–7 мес. В течение этого периода часть яиц по разным причинам теряется, погибает. Плодовитость перед выклевом личинок более вариабельна и ниже, чем количество яиц в яичниках. Эту особенность следует учитывать при оценке ежегодного пополнения популяций длиннопалого рака, особенно промыслового вида.

У длиннопалого рака, как и у других видов речных раков, развита забота о потомстве. В период эмбрионального развития яйца прикреплены к плеоподам самки и находятся под ее защитой, поэтому у раков между плодовитостью и количеством молоди наблюдается прямое соответствие [1, 2].

Условия обитания раков отражаются на плодовитости самок. На эндогенные факторы (размеры особей, возраст созревания, плодовитость) накладывается влияние внешних факторов (обеспеченность пищей, наличие хищников, внутри- и межвидовая конкуренция). Раки эврифаги, и теоретически обеспеченность пищей может и не быть определяющим фактором. В таком случае можно ожидать, что плодовитость будет достаточно стабильным показателем для больших географических зон.

Плодовитость, определяемую по количеству яиц в яичниках, принято называть овариальной (E_{ov}), плодовитость перед выклевом личинок – плеоподной (E_{pl}).

Цель исследования – сравнительная оценка овариальной и плеоподной плодовитости длиннопалого рака в водных объектах Беларуси.

Материалы и методы исследования. Сбор проб по определению плодовитости проводили в октябре, перед откладкой самками яиц на плеоподы (E_{ov}), и в мае, в конце периода эмбрионального развития перед выходом личинок (E_{pl}). Для отдельных популяций эти сборы охватывали время с 1994 по 2021 г.

Для определения E_{ov} самок помещали в кипящую воду или фиксировали 70 %-ным спиртом и сразу же после варки или фиксации оценивали репродуктивные параметры. E_{ov} определяли путем подсчета количества ооцитов в яичниках самки (либо прямым подсчетом всех ооцитов, либо путем пересчета в навеске 300–500 мг). E_{pl} устанавливали, подсчитывая все яйца на плеоподах самки.

Зависимость плодовитости (E_{ov} , E_{pl} , количество яиц) от длины самки (TL – длина самки от острия рострума до конца тельсона, см) описывали при помощи уравнений линейной регрессии.

Для определения сходства и различия плодовитости отдельных популяций длиннопалого рака использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Нормальность распределения выборок оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. В случаях нормального распределения плодовитости самок в выборке для оценки равенства дисперсий (гомоскедастичности) применяли критерий Ливена (Levene's test).

Для малых выборок (10–15 особей) сходство и различия оценивали по U -тесту Манна–Уитни.

Овариальную плодовитость определяли для 8 озер и водохранилищ Беларуси, плеоподную – для 14.

Самок измеряли от острия рострума до конца тельсона (TL).

Статистическую обработку проводили с использованием Statistica 6.0.

Результаты исследования. Минимальных размеров яйценосная самка была обнаружена в оз. Селяхи – ее общая длина от острия рострума до конца тельсона составляла 72 мм. Яйценосные самки длиной 79 мм отмечены для трех озер – Волчино, Селяхи, Белое (Брестский район). Яйценосные самки, начиная с длины 81–85 мм, встречались практически во всех изученных озерах.

Овариальная плодовитость. Овариальная плодовитость определялась для популяций озер Рожево, Белое (Чашникский р-н), Соминское, Гиньково, Олтушское, Кичино и водохранилищ Краснослободское, Лошанское. Зависимость количества ооцитов от длины самки показана на рис. 1.

Как можно видеть на рис. 1, на 5 %-ном уровне статистической значимости большинство значений плодовитости самок рассматриваемых популяций перекрываются. Это дает основание предполагать с вероятностью 95 %, что плодовитость в зависимости от длины самок разных популяций находится в одном интервале.

Тест Колмогорова–Смирнова для любой из рассматриваемых выборок имел значимость $p > 0,2$, следовательно, распределение значений характеризуется как нормальное.

Ливен-тест показал статистически значимое различие только для выборки из популяции оз. Кичино ($F = 6,12$; $p = 0,0022$). Поэтому из дальнейшего анализа эта выборка была исключена. Популяцию длиннопалого рака оз. Кичино следует отнести к другой экологической группе раков.

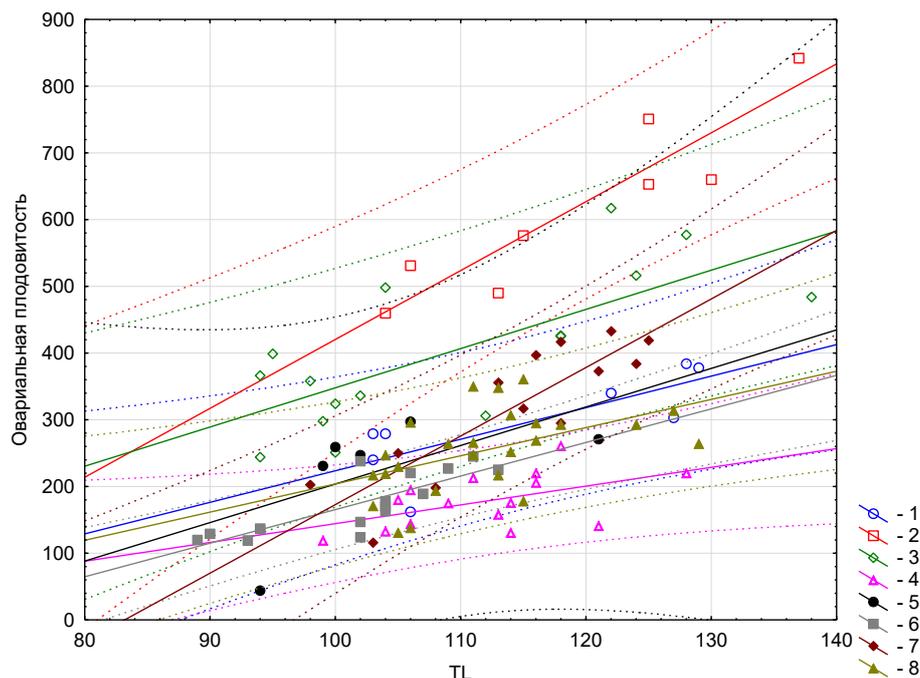


Рис. 1. Зависимость овариальной плодовитости от длины самок популяций длиннопалого рака водных объектов Беларуси: 1 – оз. Рожево, 2 – Лошанское вдхр., 3 – Краснослободское вдхр., 4 – оз. Белое, 5 – оз. Соминское, 6 – оз. Гиньково, 7 – оз. Олтушское, 8 – оз. Кичино

Fig. 1. Ovarian fecundity dependence on the length of female populations of narrow-clawed crayfish in water bodies of Belarus: 1 – Lake Rozhevo, 2 – Loshanski reservoir, 3 – Krasnoslobodski reservoir, 4 – Lake Beloe, 5 – Lake Sominskoe, 6 – Lake Ginkovo, 7 – Lake Oltushskoye, 8 – Lake Kichino

Дисперсионный анализ для популяций озер Рожево, Белое, Гиньково, Соминское, Олтушское и водохранилищ Лошанское, Краснослободское показывает отсутствие различий в плодовитости раков. Значения F-критерия менялись в диапазоне от 0,27 до 6,84 и не имели значимых различий ($p = 0,14-0,91$). Следовательно, популяции рассматриваемых водных объектов относятся к одной генеральной совокупности и различия носят случайный характер.

Общую зависимость овариальной плодовитости от длины самок популяций длиннопалого рака озер Рожево, Соминское, Белое (Чашникский р-н), Гиньково, Олтушское и водохранилищ Лошанское, Краснослободское можно представить следующим образом:

$$E_{ov} = 8,62TL - 614,61 \quad (r = 0,63; p = 0,0000).$$

Зависимость высокодостоверна.

Плодовитость перед выклевом личинок. Плодовитость перед выклевом личинок определялась для популяций озер Соминское, Гиньково, Косаревское, Плисса, Волчино, Бобровицкое, Олтушское, Селяхи, Белое (Брестский р-н), Меднянское, Стоячее, Матырино и водохранилищ Светлогорское, Миничи. Зависимость количества яиц перед выклевом личинок от длины самки показана на рис. 2.

Как и плодовитость в период откладки яиц на плеоподы, плодовитость самок перед выклевом личинок характеризуется близкими значениями.

Тест Колмогорова–Смирнова применяли только для популяций озер Гиньково и Олтушское. Для этих озер подтверждено нормальное распределение признака и гомоскедастичность дисперсий по критерию Ливена. Для других водоемов выборки самок колебались от 5 до 16 особей, что не позволяло использовать тест Колмогорова–Смирнова. В других рассматриваемых водоемах плодовитость раков перед выклевом личинок определяли путем попарного сравнения с использованием U -критерия Манна–Уитни. Во всех парах сравнения полученные эмпирические значения U -критерия Манна–Уитни были статистически незначимыми, т. е. различия между выборками носили случайный характер.

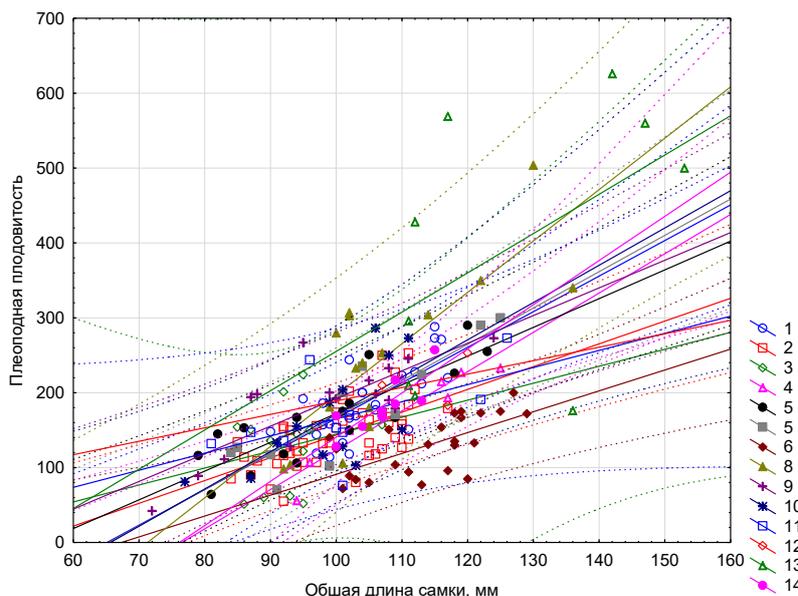


Рис. 2. Плодовитость самок перед выклевом личинок отдельных популяций длиннопалого рака водных объектов Беларуси; 1 – оз. Соминское, 2 – оз. Гиньково, 3 – оз. Косаревское, 4 – оз. Плисса, 5 – оз. Волчино, 6 – оз. Бобровицкое, 7 – Олтушское, 8 – вдхр. Светлогорское, 9 – оз. Селяхи, 10 – оз. Белое (Брестский р-н), 11 – оз. Меднянское, 12 – оз. Стоячее, 13 – вдхр. Миничи, 14 – оз. Матырино

Fig. 2. Fecundity of females before hatching larvae of certain populations of narrow-clawed crayfish in water bodies of Belarus; 1 – Lake Sominskoye, 2 – Lake Ginkovo, 3 – Lake Kosarevskoe, 4 – Lake Plissa, 5 – Lake Volchino, 6 – Lake Bobrovichskoe, 7 – Lake Oltushskoe, 8 – Svetlogorskoe reservoir, 9 – Lake Selyakhi, 10 – Lake Beloe (Brest district), 11 – Lake Mednyanskoe, 12 – Lake Standing, 13 – Minichi reservoir, 14 – Lake Matyrino

Полученные результаты позволяют объединить все выборки и рассчитать общую зависимость для всех рассматриваемых популяций.

Общая зависимость плодовитости перед выклевом личинок от длины самок популяций длиннопалого рака водных объектов Беларуси (озера Соминское, Гиньково, Косаревское, Плисса, Волчино, Бобровицкое, Олтушское, Селяхи, Белое (Брестский р-н), Меднянское, Стоячее, Матырино и водохранилища Светлогорское, Миничи) описывается линейным уравнением

$$E_{pl} = 4,31TL - 272,47 \quad (r = 0,64; p = 0,0000).$$

Зависимость высокодостоверна.

Сопоставив овариальную плодовитость с плодовитостью перед выклевом личинок, можно определить выживаемость яиц в период эмбрионального развития (см. таблицу).

Средние значения выживаемости яиц в период эмбрионального развития

Average survival rates of eggs during the embryonic development

Показатель	TL, мм					
	80	90	100	120	140	160
E_{ov}	75	161	247	420	592	765
E_{pl}	72	115	158	245	331	417
Выживаемость, %	96,0	71,4	64,0	58,3	55,9	54,5

Средние значения выживаемости достаточно низкие и снижаются с увеличением длины особей.

Обсуждение. Спаривание в популяциях длиннопалого рака происходит в конце октября – начале ноября. Сигнальными факторами для начала спаривания являются понижение температуры до 10 °С (иногда больше, иногда меньше) [3–5] и параллельное сокращение длительности светового дня [6].

Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) показал, что средние значения овариальной плодовитости большинства рассматриваемых популяций водоемов Беларуси относятся к одной генеральной совокупности. Только овариальная плодовитость популяций оз. Кичино не входит в общую совокупность. Овариальную плодовитость следует рассматривать как эволюционно закрепленную величину затрат на размножение. Статистические различия в овариальной плодовитости указывают на генетическую неоднородность длиннопалого рака в водных объектах Беларуси.

Ранее были получены доказательства о существовании в водных объектах Беларуси отдельных эволюционных линий [7]. В данном исследовании установлено наличие разных эволюционных линий в популяциях длиннопалого рака Беларуси.

Плодовитость самок перед выклевом личинок определяется факторами окружающей среды. Биобеспокойство в период откладки яиц, нехватка убежищ, высокая плотность хищников, отклонение абиотических факторов окружающей среды от оптимальных в период эмбрионального развития яиц, нарушение развития яиц, наличие сапролегниевых грибов и т. д. приводят к неизбежным потерям яиц во время длительного периода эмбрионального развития.

Суммарные потери яиц за время вынашивания (от их количества в яичниках до выклева личинок) в конце эмбрионального развития составляют 4–45 %. Эти значения вполне сопоставимы с данными, приведенными в литературе. В работе [8] потери яиц в период их вынашивания в популяции севера России оценены в 71 %, в популяциях юга России – в 23–39 %. Для астацид выживаемость яиц от овариальной плодовитости до выклева личинок составила 50 % [6, 9].

В водоемах Беларуси максимальные потери яиц были у самок, предельная длина которых была близка к 160 мм, минимальные – у самок общей длиной 80 см (см. таблицу). Отметим, что самки, впервые приступившие к размножению, практически не теряют яиц в период эмбрионального развития, но с увеличением размеров самок и их плодовитости смертность яиц увеличивается.

Среди возможных причин низкой выживаемости яиц главной причиной являются условия, в которых самки откладывают яйца на плеоподы. Такое заключение основывается на сопоставлении плодовитости самок сразу же после откладки яиц на плеоподы и перед выклевом личинок. Ранее в работе [10] установлено, что плодовитость самок с только что отложенными яйцами (начало ноября) в сравнении с плодовитостью перед выклевом личинок (конец мая) выше на 7–10 %, т. е. за время вынашивания яиц в период эмбрионального периода их численность снижается не более чем на 10 %. В таком случае потери яиц (до 45 %) определяются сложностью и несовершенством процессов, связанных с откладкой яиц, их оплодотворением и прикреплением к плеоподам самки.

Причинами потери яиц могут быть их раздавливание при выходе из половых протоков самки, недостаточное оплодотворение или прикрепление яиц к плеоподам самки [6].

Естественно предположить, что потери яиц возрастают в случае большего их количества, поэтому с увеличением размеров самок и увеличением плодовитости потери увеличиваются.

Примем средние потери яиц за период эмбриогенеза у самок длиной 120 мм от их количества в начальный период вынашивания кладки равным 8 % [10], а потери яиц за тот же период, но от количества яиц в яичниках за 42 %. В таком случае средние потери яиц только во время оплодотворения составят 34 %. Не все яйца могут выметываться самкой. Оставшиеся в яичниках самки яйца резорбируются [11]. Поэтому потери только от несовершенства процессов оплодотворения для самок общей длиной 120 мм можно принять равными 30 %. У самок меньших размеров потери будут снижаться, у самок больших размеров – увеличиваться.

Большие потери яиц указывают на то, что откладка яиц, их оплодотворение и прикрепление к плеоподам самки – критический период. Этот процесс всегда происходит в ночное время суток и продолжается 2–3 ч [12, с. 43]. За этот короткий период времени потери яиц составляют в среднем 30 %.

После оплодотворения и прикрепления яиц к плеоподам самки во время их вынашивания потери яиц у крупных самок меньше, чем у мелких. Снижение потерь яиц с увеличением длины самок отмечено и у широкопалого рака [13].

Самки длиннопалого рака начинают созревать на третьем году жизни (возраст 2+ лет) и в возрасте 3+, т. е. на четвертом году жизни они все становятся половозрелыми. Полученные результаты показывают, что потери яиц из-за несовершенства процессов оплодотворения у крупных особей примерно на порядок выше, но снижение смертности яиц у больших самок за счет лучшей охраны в период вынашивания кладки незначительно выше. У длиннопалого рака это 2–3 %. Есть основание предполагать, что у длиннопалого рака отбор будет идти в сторону снижения размеров самок, впервые участвующих в размножении, за счет более быстрого развития и достижения половой зрелости при меньших размерах особей. Отметим, что этот вывод справедлив в случае одинаковой выживаемости молоди как крупных, так и мелких самок, т. е. в случае, если масса одного яйца не зависит от массы самки. Известно [14], что из репродуктивных параметров наиболее стабильной величиной является размер яиц.

Представленные результаты показывают, что плодовитость перед выклевом личинок для рассматриваемых популяций длиннопалого рака Беларуси можно описать одним общим уравнением, что существенно упрощает расчеты пополнения молодью отдельных популяций. Величина пополнения будет определяться плотностью и размерной структурой половозрелых самок и характеризоваться общей зависимостью плодовитости от длины самок.

Заключение. Плодовитость зависит от длины самок и описывается прямолинейной зависимостью. Дисперсионный анализ закономерностей изменения плодовитости самок длиннопалого рака водных объектов Беларуси позволил выделить две экологические группы. Для массовой экологической группы овариальная плодовитость длиннопалого рака в зависимости от размеров самок составила от 75 до 765 яиц, плодовитость перед выклевом личинок – от 72 до 417 яиц. Потери яиц за период вынашивания кладки составили 4–45 %. Наибольшие потери яиц отмечены в период нереста, т. е. откладки яиц, их оплодотворения и прикрепления к плеоподам самки. За этот короткий период (2–3 ч) потери яиц у самок длиной 120 мм составили 30 %, у мелких самок они снижались, у крупных увеличивались. Таким образом, нерест – наиболее критический период в репродуктивном цикле длиннопалого рака. За период вынашивания кладки смертность яиц составляет в среднем 8 %.

Список использованных источников

1. Cukerzis, J. *Astacus astacus* in Europe / J. Cukerzis // Freshwater crayfish: biology, management and exploitation / ed. : D. M. Holdich, R. S. Lowery. – New York : Chapman and Haal, 1988. – P. 309–340.
2. Momot, W. T. Potential for exploitation of freshwater crayfish in coolwater systems: management guidelines and issues / W. T. Momot // Fisheries. – 1991. – Vol. 16, N 5. – P. 14–21. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1991\)016<0014:pfeofc>2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1991)016<0014:pfeofc>2.0.co;2)
3. Koksals, G. *Astacus leptodactylus* in Europe / G. Koksals // Freshwater Crayfish: biology, management and exploitation / ed. : D. M. Holdich, R. S. Lowery. – London, 1988. – P. 365–400.
4. Some biological characteristics of crayfish (*Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)) in Lake Egirdir / İ. Balik [et al.] // Turk. J. Zool. – 2005. – Vol. 29, N 4. – P. 295–300.
5. Aydin, H. Effects of different water temperatures on the hatching time and survival rates of the freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) / H. Aydin, K. Dilek // Turk. J. Fisheries Aqua. Sci. – 2004. – N 4. – P. 75–79.
6. Reynolds, J. D. Growth and reproduction / J. D. Reynolds // Biology and Ecology of Crayfish / ed. : D. M. Holdich. – Blackwell Science Ltd., Oxford, 2002. – P. 152–191.
7. Сливинска, К. Сравнительный морфометрический анализ популяций длиннопалого рака *Pontastacus leptodactylus* Западного Полесья / К. Сливинска // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 60–71.
8. Alekhovich, A. V. Comparative analysis of reproduction of narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* Esch. (Crustacea, Decapoda, Astacidae) in its eastern area / A. V. Alekhovich, V. F. Kulesh // Freshwater Crayfish. – 1997. – N 11. – P. 339–347.
9. Taugbøl, T. Effect of density on brood size in noble crayfish, *Astacus astacus* L., subjected to indoor rearing conditions / T. Taugbøl, J. Skurdal // Aquacult. Fisheries Management. – 1990. – Vol. 21, N 1. – P. 17–23. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1990.tb00378.x>
10. Алехнович, А. В. Продолжительность жизни, рост и размножение длиннопалого рака *Astacus leptodactylus* в озере Соминское / А. В. Алехнович // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 3. – С. 80–88.
11. Taugbøl, T. Effect of indoor, culture conditions on maturation and fecundity of wild caught female noble *Astacus astacus* L. / T. Taugbøl, J. Skurdal // Aquaculture. – 1989. – Vol. 81, N 1. – P. 1–12. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90226-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90226-3)
12. Цукерзис, Я. М. Речные раки / Я. М. Цукерзис. – Вильнюс : Моксклас, 1989. – 142 с.

13. Long term study of exploitation, yield and stock structure of noble crayfish *Astacus astacus* in Lake Steinfjorden, S. E. Norway / J. Skurdal [et al.] // *Freshwater Crayfish*. – 1993. – Vol. 9. – P. 118–133.

14. Fluctuating fecundity parameters and reproductive investment in crayfish: driven by climate or chaos? / J. Skurdal [et al.] // *Freshwater Biol.* – 2011. – Vol. 56, N 2. – P. 335–341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2010.02501.x>

References

1. Cukerzis J. *Astacus astacus* in Europe. *Freshwater crayfish: biology, management and exploitation*. New York, Chapman and Haal Publ., 1988, pp. 309–340.

2. Momot W. T. Potential for exploitation of freshwater crayfish in coolwater systems: management guidelines and issues. *Fisheries*, 1991, vol. 16, no. 5, pp. 14–21. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1991\)016<0014:pfeofc>2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1991)016<0014:pfeofc>2.0.co;2)

3. Koksal G. *Astacus leptodactylus* in Europe. *Freshwater Crayfish: biology, management and exploitation*. London, 1988, pp. 365–400.

4. Balik İ., Çubuk H., Özkök R., Uysal R. Some biological characteristics of crayfish (*Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)) in Lake Egirdir. *Turkish Journal of Zoology*, 2005, vol. 29, no. 4, pp. 295–300.

5. Aydin H., Dilek K. Effects of different water temperatures on the hatching time and survival rates of the freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2004, no. 4, pp. 75–79.

6. Reynolds J. D. Growth and reproduction. *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science Ltd., Oxford, 2002, pp. 152–191.

7. Slivinska K. Comparative morphometric analysis of populations of narrow clawed crayfish *Pontastacus leptodactylus* in Western Polissya. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 60–71 (in Russian).

8. Alekhnovich A. V., Kulesh V. F. Comparative analysis of reproduction of narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* Esch. (Crustacea, Decapoda, Astacidae) in its eastern area. *Freshwater Crayfish*, 1997, no. 11, pp. 339–347.

9. Taugbøl T., Skurdal J. Effect of density on brood size in noble crayfish, *Astacus astacus* L., subjected to indoor rearing conditions. *Aquaculture and Fisheries Management*, 1990, vol. 21, no. 1, pp. 17–23. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1990.tb00378.x>

10. Alekhnovich A. V. Lifespan, growth and reproduction of the narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* in Lake Sominskoe. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2014, no. 3, pp. 80–88 (in Russian).

11. Taugbøl T., Skurdal J. Effect of indoor, culture conditions on maturation and fecundity of wild caught female noble *Astacus astacus* L. *Aquaculture*, 1989, vol. 81, no. 1, pp. 1–12. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90226-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90226-3)

12. Tsukerzis Ya. M. *River crayfish*. Vilnius, Moksklas Publ., 1989. 142 p. (in Russian).

13. Skurdal J., Qvenild T., Taugbøl T., Gamås E. Long term study of exploitation, yield and stock structure of noble crayfish *Astacus astacus* in Lake Steinfjorden, S. E. Norway. *Freshwater Crayfish*, 1993, vol. 9, pp. 118–133.

14. Skurdal J., Hessen D. O., Gamås E., Vøllestad L. A. Fluctuating fecundity parameters and reproductive investment in crayfish: driven by climate or chaos? *Freshwater Biology*, 2011, vol. 56, no. 2, pp. 335–341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2010.02501.x>

Информация об авторе

Алекhnovich Анатолий Васильевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Alekhnovichav@gmail.com

Information about the author

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

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 579:252.2
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-154-162>

Поступила в редакцию 17.10.2022
Received 17.10.2022

Е. Г. Веремеенко, К. С. Бондарева, А. И. Левданская, Н. П. Максимова

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТНОГО ШТАММА *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA* С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПЕРОКСИДУ ВОДОРОДА

Аннотация. Химический мутагенез, сопровождающийся тщательно продуманной стратегией селекции, представляет собой эффективный способ получения микробных продуцентов разнообразных биологически активных соединений. Однако существенным минусом данного метода является множественность изменений генома, в результате чего впоследствии сложно идентифицировать гены, продукты которых вносят наибольший вклад в образование целевого метаболита. Современные технологии секвенирования и анализа геномов позволяют преодолеть данный недостаток и открывают новые перспективы в идентификации метаболических путей, задействованных в образовании биологически активных соединений.

Целью данной работы являлся геномный анализ и молекулярно-генетическая характеристика мутантного штамма *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/15 для обнаружения потенциальных генов-кандидатов, продукты которых могут принимать участие в обеспечении сверхпродукции феназиновых соединений.

В рамках данного исследования были осуществлены полногеномное секвенирование и аннотация генома мутантного штамма B-162/15 бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*. В ходе аннотации было идентифицировано 6493 последовательности, кодирующие белки, и 66 последовательностей, кодирующих транспортные и рибосомальные РНК. При сравнении генома мутантного штамма с ранее отсеквенированным геномом штамма дикого типа B-162 выявлено 16 мутаций. Три из обнаруженных мутаций локализованы в межгенных областях, остальные 13 – в кодирующих областях. Шесть из идентифицированных в кодирующих областях мутаций привели к радикальным заменам аминокислот в структуре белков, что потенциально может оказать влияние на функциональную активность этих белков. Выявлены аминокислотные замены с высоким показателем расстояния Grantham, например, в таких белках, как FliD, железосодержащий редокс-белок и β -субъединица аргинин N-сукцинилтрансферазы. Установлено присутствие в геноме штамма B-162/15 регионов, содержащих фаговые гены.

Ключевые слова: феназиновые соединения, секвенирование, аннотация, расстояние Grantham, радикальные замены

Для цитирования: Молекулярно-генетическая характеристика мутантного штамма *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* с повышенной устойчивостью к пероксиду водорода / Е. Г. Веремеенко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 154–162. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-154-162>

Katsiaryna G. Verameyenka, Krystsina S. Bondarava, Anastasia I. Liaudanskaya, Natalia P. Maximova

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

MOLECULAR AND GENETIC CHARACTERIZATION OF THE *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA* MUTANT STRAIN WITH INCREASED RESISTANCE TO HYDROGEN PEROXIDE

Abstract. A whole genome sequencing of natural and mutant producer strains is the best way to analyze the genome and to search for mutations that could cause the acquisition of a number of properties valuable for biotechnological and pharmaceutical industry.

The main goal of current research was to identify mutations that had been induced by chemical mutagenesis in the genome of the mutant strain *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/15 resistant to hydrogen peroxide. It would give an opportunity to discover new genes potentially participating in phenazine compounds biosynthesis. Such an approach also makes it possible to identify genes, whose products do not directly participate in the phenazine synthesis, but influence the phenazine detoxification, excretion, and optimization of antioxidant system activity. Most of all, it could help us to discover new unpredicted enzyme systems that might be involved into this process.

The genome size of *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/15 was 7109863 b. p. It contained 6493 open reading frames and 66 sequences encoding transport and ribosomal RNA. Comparison of a wild-type strain and B-162/15 mutant genomes revealed 16 mutations, 13 of which were located in coding sequences and 3 were located in intergenic regions. Six mutations led to radical replacements in amino acid sequences of coded proteins (with a Grantham distance of more than 80). We managed to identify four potential gene-candidates, which could influence the phenazine metabolism and provided the ability of mutant strain to superproductivity. They were arginine N-succinyltransferase, phosphoenolpyruvate synthase, iron-contain-

ing redox enzyme family protein, membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism. Three prophage regions were identified, two regions of which were intact and one region was incomplete. The prophage genes, as well as the bacterial genes were inside these regions. We also managed to identify two genes of *Agrobacterium tumefaciens* inside prophage region 2. It was possible that these regions were introduced into the genome of studied strain by viral transduction.

Keywords: phenazines, sequencing, Grantham distances, radical substitutions

For citation: Verameyenko K. G., Bondarava K. S., Liaudanskaya A. I., Maximova N. P. Molecular and genetic characterization of the *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* mutant strain with increased resistance to hydrogen peroxide. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 154–162 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-154-162>

Введение. Для решения задач современной биологии все чаще используется процедура секвенирования нуклеиновых кислот. Данный подход с успехом применяется в судебной медицине, онкогематологии, диагностике генетических и инфекционных заболеваний, паспортизации ценных сельскохозяйственных животных и растений, а также во многих других направлениях [1]. Для микробной биотехнологии секвенирование не только стало неотъемлемым этапом в идентификации видов, представители которых синтезируют ценные метаболиты либо осуществляют деградацию токсичных и контаминирующих соединений, но и оказалось чрезвычайно полезным для установления метаболических связей, принимающих участие в обеспечении сверхсинтеза тех или иных соединений у штаммов-продуцентов [2].

Несмотря на разработку большого количества генно-инженерных методов создания микробных продуцентов промышленно ценных метаболитов, химический мутагенез и последующая селекция по-прежнему остаются крайне эффективными подходами в микробной биотехнологии. Это обусловлено тем, что данная стратегия позволяет получить и закрепить множественные изменения генома, которые, в свою очередь, являются причиной масштабных изменений в метаболизме бактериальной клетки. Получение повышенных концентраций целевых соединений зачастую невыгодно либо токсично для самой бактериальной клетки-продуцента, что является основным барьером к сверхпродукции. Преодоление такого барьера требует глобальных изменений клеточного метаболизма [3].

Однако существенным минусом этой стратегии является сложность последующей идентификации генов, продукты которых вносят наибольший вклад в образование целевого метаболита. С развитием технологий секвенирования второго и третьего поколений, а также с оптимизацией биоинформатических подходов, позволяющих осуществить сборку достаточно протяженных скаффолдов либо целых бактериальных геномов и их последующую аннотацию, были открыты новые перспективы в идентификации метаболических путей, задействованных в образовании биологически активных соединений [4].

Одними из перспективных биологических соединений бактериального происхождения являются феназины, относящиеся к ароматическим гетероциклическим соединениям [5]. Поскольку феназины обладают бактерицидным и цитостатическим эффектами, их применяют в медицине, сельском хозяйстве и нанотехнологиях [6]. Известно использование феназиновых соединений в качестве медиаторов, опосредующих взаимодействие между бактериями и высшими растениями, а также для улучшения минерального питания последних [7]. Все это обуславливает актуальность получения продуцентов данных соединений. Однако феназины в высоких концентрациях могут быть токсичны для самих штаммов-продуцентов. Преодоление токсического эффекта сверхпродукции собственных феназинов требует глобального изменения метаболизма штаммов-продуцентов. Для этого необходимо обладать детальной информацией обо всех возможных биосинтетических путях, которые могут быть задействованы в обеспечении сверхпродукции. На данном этапе имеется информация лишь о небольшом количестве генов, продукты которых напрямую задействованы в образовании феназинов в бактериальных клетках. Расширение спектра генов-кандидатов позволит оптимизировать стратегии создания штаммов-продуцентов данных биотехнологически ценных соединений.

Целью данной работы являлся геномный анализ и молекулярно-генетическая характеристика мутантного штамма *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/15 и его сравнение со штаммом дикого типа для обнаружения потенциальных генов-кандидатов, продукты которых могут принимать участие в обеспечении сверхпродукции феназиновых соединений.

Материалы и методы исследования. В работе использовали штаммы *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* дикого типа (B-162) и мутантный штамм (B-162/15), полученный в результате ступенчатого мутагенеза и последующей селекции на устойчивость к пероксиду водорода [8].

Геномную ДНК бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* выделяли с помощью набора GeneJET Genomic DNA Purification Kit K0881 (Thermo Scientific). Секвенирование генома проводили с использованием Illumina MiSeq и MiSeq Reagent Kit v2 на базе ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси». Геном собирали с помощью программы SPAdes 3.13.1, аннотацию генома выполняли в специальном сервисе для аннотации геномов прокариот RAST (<http://rast.nmpdr.org/>). Для поиска генов в секвенированном геноме использовали программу SnapGene 4.2.11 DNA (<https://www.snapgene.com>), для поиска элементов фаговых геномов в составе генома штамма B-162/15 – онлайн-ресурс PHASTER (<https://phaster.ca/>). Продуктивность штаммов представляли в мг фенозинов/л культуральной среды.

Результаты и их обсуждение. Ранее на кафедре генетики биологического факультета БГУ в ходе ступенчатого химического мутагенеза и последующей селекции на устойчивость к пероксиду водорода был получен мутантный штамм B-162/15 бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* [8]. Продуктивность штамма B-162/15 составляла 2814 мг/л, что в 5,8 раза выше, чем продуктивность штамма дикого типа B-162. Использование нитрозогуанидана в качестве химического мутагена для ступенчатого мутагенеза позволяло предположить, что геном мутанта будет насыщен транзциями.

В результате секвенирования были получены парные риды, которые при помощи программы-сборщика SPAdes 3.13.1 были собраны в 40 контигов. Последние были собраны в хромосомную последовательность с использованием двух референсных геномов: *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162 (код доступа SRX11183367) и *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* DSM 19603 (код доступа CP027746).

Последующая аннотация позволила установить, что размер генома мутантного штамма составляет 7 109 863 п. о. В результате аннотирования генома с помощью алгоритма RASTtk были обнаружены 6493 открытые рамки считывания и 66 последовательностей, кодирующих транспортные и рибосомальные РНК (рис. 1). Внехромосомных элементов обнаружено не было. Содержание ГЦ-пар составило 62,9 %, что соответствует таковому для представителей рода *Pseudomonas* [9]. Согласно данным аннотации, наибольшее количество генов (543) в геноме *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/15 ответственны за синтез аминокислот и их метаболизм (рис. 1). Вторую по численности группу (300 генов) составляют гены метаболизма углеводов (рис. 1). Значительная часть генома (225 генов) задействована в метаболизме витаминов, кофакторов и пигментов (рис. 1).

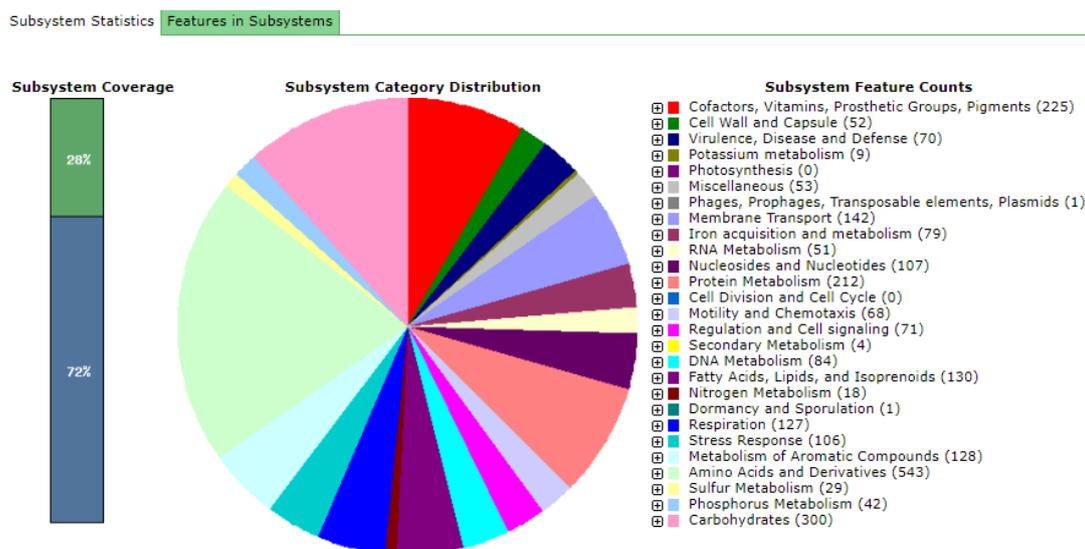


Рис. 1. Данные аннотации генома штамма B-162/15 при помощи RASTtk

Fig. 1. RASTtk genome data for the B-162/15 strain

На следующем этапе работы проведено сравнение генома исследуемого мутанта с геномом штамма дикого типа *P. chlororaphis subsp. aurantiaca* B-162. В результате такого сравнения выявлено 16 мутаций. Три из них были локализованы в межгенных областях, остальные 13 – в области кодирующих последовательностей (см. таблицу). Дальнейший анализ полученных данных показал, что 6 из обнаруженных в кодирующих областях генома мутаций не приводят к замене аминокислоты в кодируемом белке, тогда как еще 6 мутаций приводят к радикальным заменам в первичной последовательности белков, кодируемых данными генами. Потенциально это может вызывать значительные изменения в функциональной активности данных белков. Среди этой группы наибольший интерес представляют замены, для которых показан высокий уровень расстояния Grantham (см. таблицу). Более высокие значения расстояния Grantham свидетельствуют о том, что эволюционное расстояние между двумя аминокислотами достаточно велико и такие замены приводят к более серьезным изменениям в функциях белков или отдельных белковых доменов.

В данном исследовании в группу белков с наиболее высоким значением показателя Grantham вошли белки FliD (коэффициент 94), железосодержащий редокс-белок (коэффициент 180) и β -субъединица аргинин N-сукцинилтрансферазы (коэффициент 83). Особый интерес среди них представляет железосодержащий редокс-белок. Известно, что феназиновые соединения являются редокс-активными веществами [5], а продуценты этих соединений должны обладать развитыми системами антиоксидантной защиты, чтобы обеспечить собственное выживание в условиях повышенного синтеза феназинов [10]. Кроме того, некоторые феназины принимают активное участие в секвестировании железа из окружающей среды, на чем (в том числе) и основывается механизм их антибиотического действия в отношении ряда патогенных микроорганизмов [11].

Мутации в геноме штамма *P. chlororaphis subsp. aurantiaca* B-162/15
Mutations in the *P. chlororaphis subsp. aurantiaca* B-162/15 genome

Продукт	Позиция мутации в геноме	Вариант нуклеотидной замены	Тип аминокислотной замены	Положение измененной аминокислоты в первичной последовательности белка	Расстояние Grantham
Гипотетический белок	1 005 953	a→g	Нет изменений	–	–
MreC-белок	1 028 732	t→c	Радикальная (Ser→Pro)	40	74
Межгенная область	1 697 472	c→t	–	–	–
T1SS секретируемый агглютинин	1 717 816	c→t	Консервативная (Ala→Val)	1229	64
Пермеаза (транспорт лекарств и метаболитов)	1 732 103	c→t	Радикальная (Ala→Thr)	294	58
Гликозил трансфераза, группа 2	1 778 517	c→t	Нет изменений (Ser)	122	
FliD-белок (биосинтез жгутиков)	1 791 265	g→a	Радикальная (Gly→Asp)	224	94
FliH-белок	1 811 895	c→t	Нет изменений (Ser)	111	–
Регулятор хемотаксиса (рецептор)	1 818 470	c→t	Нет изменений (Gly)	104	–
Fe-содержащий фермент семейства редокс-активных белков	1 857 435	c→t	Радикальная (Asp→Cys)	187	180
Метионил-гРНК-формилтрансфераза	1 864 643	c→t	Нет изменений (Ala)	131	–
Мембран-связанный белок пути метаболизма эйкозаноидов и глутатиона	1 892 446	g→a	Trp→stop-кодон (укорочение на 28 а. к. у мутанта)	106	–
Межгенные области	5 019 222	a→g	–		
	5 019 241	a→g	–		
	5 019 261	t→c	–		
Аргинин N-сукцинил трансфераза, β -субъединица	5 391 853	g→a	Радикальная (His→Tyr)	290	83
Межгенная область	5 401 360	g→a	–		
Фосфоенолпируват синтаза	6 872 028	g→a	Радикальная (Pro→Gly)	519	76

Фермент аргинин N-сукцинилтрансфераза катализирует реакцию взаимодействия между сукцинил-КоА и L-аргинином с образованием КоА и N²-сукцинил-L-аргинина. Наличие мутаций в гене, кодирующем β-субъединицу аргинин N-сукцинилтрансферазы, было показано нами ранее для штамма В-162/17, способного к синтезу феназинов на минимальных средах [12]. Это указывает на то, что метаболизм аргинина может каким-то образом быть связанным с продукцией феназинов, хотя прямая корреляция между этими двумя процессами пока не установлена.

Кроме того, с точки зрения влияния на уровень продукции феназинов интересной является мутация в гене, кодирующем фермент фосфоенолпируватсинтазу. Известно, что данный фермент задействован в синтезе фосфоенолпирувата, который наряду с эритрозо-4-фосфатом является ключевым метаболитом, с которого начинается ароматический путь, в ходе которого образуются все ароматические соединения бактерий, в том числе и феназины [3]. Радикальная замена в первичной структуре данного белка потенциально может оказывать влияние на его активность и концентрацию фосфоенолпирувата, а следовательно, на поток метаболитов в рамках всего ароматического пути.

Еще одной интересной мутацией является радикальная замена аминокислоты в пермеазе, ответственной за экскрецию из бактериальной клетки лекарств и вторичных метаболитов. Данный белок может быть задействован в выделении феназинов и снижении, таким образом, их токсического влияния на ключевые клеточные мишени (ДНК, ферменты, первичные метаболиты) самого продуцента. Такой механизм детоксикации феназинов потенциально может обеспечивать способность штамма синтезировать более высокие концентрации данных соединений.

Мутация в гене, кодирующем мембран-связанный белок пути метаболизма эйкозаноидов и глутатиона, приводит к формированию стоп-кодона и укорочению мутантного белка на 28 аминокислот. Как было показано нами ранее, глутатион и его метаболизм играют ключевую роль в способности штаммов *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* синтезировать повышенные концентрации феназинов [10]. Изменение метаболизма глутатиона (например, в сторону увеличения его восстановленной формы) будет иметь ключевое значение для повышения продуктивности штаммов.

Мутация в гене, кодирующем MreC-белок, присутствует также в геноме другого штамма-продуцента данной бактерии – В-162/255 [12]. Известно, что этот белок контролирует палочковидную форму клеток *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*. Однако данных о корреляции формы бактериальной клетки и ее способности к сверхпродукции феназинов в литературе не обнаружено. Кроме того, локализация замены аминокислоты в белке свидетельствует о том, что она не затрагивает активный сайт MreC.

Более детальный анализ генома штамма В-162/15 на присутствие в его составе профагов и элементов их геномов с помощью онлайн-ресурса PHASTER [13] продемонстрировал наличие двух интактных регионов, содержащих элементы геномов профагов, и одного неполного региона (рис. 2).

Первый интактный регион (регион 1) содержит 49 открытых рамок считывания (1344190–1386019 – координаты региона в геноме штамма В-162/15) и имеет размер 41,8 Кб. Он включает элементы фагов, поражающих бактерии родов *Pseudomonas*, *Shigella*, *Ralstonia*, *Salmonella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Burkholderia*, *Acinetobacter* и *Halomonas*. В его составе присутствуют последовательности, ответственные за формирование базальной пластинки (Pla), хвоста (Sha) и его фибрилл (Fib), а также целый ряд последовательностей, кодирующих другие фаговые белки (к примеру, транскрипционный регулятор Cro/CI-семейства, фактор сборки боковых хвостовых фибрилл бактериофага (лямбда grTfa-гомолог) и лизозим). Примечательно, что группы последовательностей, кодирующих фаговые белки, разделены между собой последовательностями генов, кодирующих бактериальные белки, характерные для представителей рода *Pseudomonas* (к примеру, белок DprA-суперсемейства, N-ацетилмурамоил-L-аланинамидазу и гликозид-гидролазу). Из фаговых генов наиболее полно в данном регионе представлены последовательности фага phiNAP, поражающего бактерий родов *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Lactococcus* и *Clostridium* [14].

Второй интактный регион (регион 2) содержит 79 открытых рамок считывания и имеет размер 63,2 Кб (3999276–4062482 – координаты региона в геноме штамма В-162/15) (рис. 2). В его составе присутствуют последовательности, кодирующие белки фагов, поражающих бактерии

родов *Pseudomonas*, *Shigella*, *Erwinia*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Acinetobacter*, *Xylella*. Эти последовательности ответственны за образование транскрипционного активатора СП-семейства фага лямбда, фагового репрессора и белков вирионов. Следует отметить, что только в этом регионе были обнаружены последовательности портового белка, интегразы и фаговой транспозазы, а также главного белка капсида. Кроме того, только в составе региона 2 имеются фаговые последовательности, кодирующие образование U-спанинов, которые обеспечивают способность фага лизировать наружную мембрану грамотрицательных бактериальных клеток-хозяев [15]. Обнаружен еще один интересный фаговый ген – ген, кодирующий так называемую хоуминг-эндонуклеазу. Ферменты этой группы распознают протяженные (до 40 п. н.), часто вырожденные участки ДНК. Последовательности, которые содержат эти участки, изначально не имеют в своем составе генов хоуминг-эндонуклеаз. Фермент вносит разрывы в эти последовательности и инициирует перенос собственного гена и фланкирующих областей в данную область. Помимо фагов разнообразные последовательности, кодирующие данный класс ферментов, обнаружены в митохондриальных геномах дрожжей и в составе мобильных интронов группы I [16]. Однако наибольшее разнообразие их выявлено именно в геномах фагов [17]. В целом следует отметить, что из фаговых последовательностей в данном регионе наиболее часто представлены последовательности фага phiPSA1, поражающего представителей рода *Pseudomonas* [14]. Регион 2 также содержит последовательности бактериальных белков, в частности гены *attR* и *attL*, принадлежащие *Agrobacterium tumefaciens*. Судя по всему, данные гены были привнесены в геном *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* в результате трансдукции. Аналогично региону 1, в регионе 2 обнаружены также и собственные гены *Pseudomonas* (к примеру, экзонуклеаза, специфичная к одноцепочечной ДНК, ДНК-цитозинметилтрансфераза).

Регион 3 является неполным, состоит из 11 открытых рамок считывания и имеет размер 18,2 Кб (4060912–4060923 – координаты региона в геноме штамма В-162/15). Основными фаговыми генами, обнаруженными в его составе, являются гены фагоподобных белков, белков фага phiPSA1, интеграз фагов, поражающих представителей родов *Pseudomonas* и *Escherichia*, а также белки оболочки хвоста. Кроме того, в составе региона присутствуют бактериальные гены (например, кодирующие транскрипционные регуляторы LysR-семейства), а также гены tPHK.

Заключение. Размер генома бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* В-162/15 составляет 7 109 863 п. о. В составе генома обнаружены 6493 открытые рамки считывания и 66 последовательностей, кодирующих транспортные и рибосомальные РНК. Значительная часть генома ответственна за процессы первичного метаболизма, а также задействована в метаболизме витаминов, кофакторов и пигментов. В составе генома обнаружены также два интактных и один неполный регионы, содержащие фаговые гены. Сравнение геномов штаммов В-162/15 и В-162 (дикий тип) позволило выявить в геноме мутантного штамма В-162/15 16 мутаций, 13 из которых затрагивали белок-кодирующие последовательности, а 3 располагались в межгенных областях генома. Шесть из обнаруженных в кодирующих областях мутаций привели к радикальным заменам в аминокислотной последовательности кодируемых ими белков, тогда как четыре мутации вызвали консервативные изменения в первичной структуре белка. Идентифицированы новые гены, продукты которых потенциально могут принимать участие в обеспечении способности к сверхсинтезу феназиновых соединений. К ним относятся гены, кодирующие железосодержащий редокс-белок, мембран-связанный белок пути метаболизма эйкозаноидов и глутатиона, а также фосфоенолпируватсинтазу. Еще одним потенциальным белком, оказывающим влияние на этот процесс, может оказаться аргинин N-сукцинилтрансфераза.

Список использованных источников

1. Rosenberg, E. It's in Your DNA: from discovery to structure, function and role in evolution, cancer and aging / E. Rosenberg. – [S. n.], Academic Press, 2017. – 218 p.
2. Baral, B. Activation of microbial secondary metabolic pathways: avenues and challenges / B. Baral, A. Akhgari, M. Metsä-Ketelä // KeAi: Synthetic Systems Biotechnol. – 2018. – Vol. 3, N 3. – P. 163–178. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2018.09.001>
3. Engineering *Pseudomonas* for phenazine biosynthesis, regulation, and biotechnological applications: a review / M. Bilal [et al.] // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2017. – Vol. 33, N 191. – 11 p. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2356-9>

4. Поколения методов секвенирования ДНК (обзор) / А. Г. Бородинов [и др.] // Науч. приборостроение. – 2020. – Т. 30, № 4. – С. 3–20.
5. Advances in phenazines over the past decade: review of their pharmacological activities, mechanisms of action, biosynthetic pathways and synthetic strategies / J. Yan [et al.] // *Marine Drugs*. – 2021. – Vol. 19, N 11. – Art. 610. <https://doi.org/10.3390/md19110610>
6. Inhibition of three potato pathogens by phenazine-producing *Pseudomonas* spp. is associated with multiple biocontrol-related traits / A. Biessy [et al.] // *mSphere*. – 2021. – Vol. 6, N 3. – Art. e00427-21. <https://doi.org/10.1128/msphere.00427-21>
7. Phenazine-1-carboxylic acid-producing bacteria enhance the reactivity of iron minerals in dryland and irrigated wheat rhizospheres / M. K. LeTourneau [et al.] // *Environment. Sci. Technol.* – 2019. – Vol. 53, N 24. – P. 14273–14284. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03962>
8. Novel approach of phenazine derivatives isolation from *Pseudomonas* culture medium / M. A. Shapira [et al.] // *Process Biochem.* – 2021. – Vol. 111, pt. 2. – P. 325–331. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.004>
9. Лысак, В. В. Важнейшие группы микроорганизмов / В. В. Лысак, О. В. Фомина. – Минск : БГУ, 2012. – 92 с.
10. Veremeenko, E. G. Activation of the antioxidant complex in *Pseudomonas aurantiaca* – producer of phenazine antibiotics / E. G. Veremeenko, N. P. Maksimova // *Microbiology*. – 2010. – Vol. 79, N 4. – P. 439–444. <http://dx.doi.org/10.1134/S0026261710040041>
11. Абатуров, А. Е. Медикаментозное ограничение доступности ионов железа для патогенных бактерий (часть 1) / А. Е. Абатуров, Т. А. Крючко // *Здоровье ребенка*. – 2018. – Т. 13, № 4. – С. 416–424.
12. Liaudanskaya, A. I. Analysis of genomes changes in *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* strains producing phenazines / A. I. Liaudanskaya, N. P. Maximova, K. G. Verameyenka // *Res. Square*. – 2021. – 17 p. <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-289228/v1>
13. PHAST, PHASTER and PHASTEST: Tools for finding prophage in bacterial genomes / D. Arndt [et al.] // *Brief. Bioinform.* – 2017. – Vol. 20, N 4. – P. 1560–1567. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx121>
14. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools / C. L. Schoch [et al.] // *Database (Oxford)*. – 2020. – Vol. 2020. – Art. baaa062. <http://dx.doi.org/10.1093/database/baaa062>
15. Localization and regulation of the T1 unimolecular spanin / R. Kongari [et al.] // *J. Virol.* – 2018. – Vol. 92, N 22. – Art. e00380-18. <https://doi.org/10.1128/jvi.00380-18>
16. Chevalier, B. S. Homing endonucleases: structural and functional insight into the catalysts of intron/intein mobility / B. S. Chevalier, B. L. Stoddard // *Nucl. Acids Res.* – 2001. – Vol. 29, N 18. – P. 3757–3774. <https://doi.org/10.1093/nar/29.18.3757>
17. Elde, M. Functional characterization of isoschizomeric His-Cys box homing endonucleases from *Naegleria* / M. Elde, N. P. Willassen, S. Johansen // *Eur. J. Biochem.* – 2000. – Vol. 267, N 24. – P. 7257–7265. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01862.x>

References

1. Rosenberg E. *It's in Your DNA: from discovery to structure, function and role in evolution, cancer and aging*. Academic Press, 2017. 218 p.
2. Baral B., Akhgar A., Metsä-Ketelä M. Activation of microbial secondary metabolic pathways: avenues and challenges. *KeAi: Synthetic and Systems Biotechnology*, 2018, vol. 3, no. 3, pp. 163–178. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2018.09.001>
3. Bilal M., Guo S., Iqbal H. M. N, Hu H., Wang W., Zhang X. Engineering *Pseudomonas* for phenazine biosynthesis, regulation, and biotechnological applications: a review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, vol. 33, no. 191, p. 11. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2356-9>
4. Borodinov A. G., Manoilov V. V., Zarutskii I. V., Petrov A. I., Kurochkin V. E. *Generation of DNA sequencing methods (review)*. *Nauchnoe priborostroenie* [Scientific instrumentation], 2020, vol. 30, no. 4, pp. 3–20 (in Russian).
5. Yan J., Liu W., Cai J., Wang Y., Li D., Hua H., Cao H. Advances in phenazines over the past decade: review of their pharmacological activities, mechanisms of action, biosynthetic pathways and synthetic strategies. *Marine Drugs*, 2021, vol. 19, no. 11, art. 610. <https://doi.org/10.3390/md19110610>
6. Biessy A., Novisack A., St-Onge R., Léger G., Zboralski A., Filion M. Inhibition of three potato pathogens by phenazine-producing *Pseudomonas* spp. is associated with multiple biocontrol-related traits. *mSphere*, 2021, vol. 6, no. 3, art. e00427-21. <https://doi.org/10.1128/msphere.00427-21>
7. LeTourneau M. K., Marshall M. J., Grant M., Freeze P. M., Strawn D. G., Lai B., Dohnalkova A. C., Harsh J. B., Weller D. M., Thomashow L. S. Phenazine-1-carboxylic acid-producing bacteria enhance the reactivity of iron minerals in dryland and irrigated wheat rhizospheres. *Environmental Science and Technology*, 2019, vol. 53, no. 24, pp. 14273–14284. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03962>
8. Shapira M. A., Verameyenka K. G., Liavonchyk K. V., Dobysh A. A., Yantsevich A. V., Maksimova N. P. Novel approach of phenazine derivatives isolation from *Pseudomonas* culture medium. *Process Biochemistry*, 2021, vol. 111, pt. 2, pp. 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.004>
9. Лысак В. В., Фомина О. В. *The most important groups of microorganisms: manual*. Minsk, Belarusian State University, 2012. 92 p. (in Russian).
10. Veremeenko E. G., Maksimova N. P. Activation of the antioxidant complex in *Pseudomonas aurantiaca* – producer of phenazine antibiotics. *Microbiology*, 2010, vol. 79, no. 4, pp. 439–444. <http://doi.org/10.1134/S0026261710040041>
11. Abaturov A. E., Kryuchko T. A. Drug limitation of the availability of iron ions for pathogenic bacteria (Part 1). *Zdorov'e rebenka* [Child health], 2018, vol. 13, no. 4, pp. 416–424 (in Russian).

12. Liaudanskaya A. I., Maximova N. P., Verameyenka K. G. Analysis of genomes changes in *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* strains producing phenazines. *Research Square*, 2021, p. 17. <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-289228/v1>
13. Arndt D., Marcu A., Liang Y., Wishart D. S. PHAST, PHASTER and PHASTEST: Tools for finding prophage in bacterial genomes. *Briefings in Bioinformatics*, 2017, vol. 20, no. 4, pp. 1560–1567. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx121>
14. Schoch C. L., Ciufu S., Domrachev M., Hottot C. L., Kannan S., Khovanskaya S. [et al.]. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*, 2020, vol. 2020, art. baaa062. <http://dx.doi.org/10.1093/database/baaa062>
15. Kongari R., Snowden J., Berry J. D., Young R. Localization and regulation of the T1 unimolecular spanin. *Journal of Virology*, 2018, vol. 92, no. 22, art. e00380-18. <https://doi.org/10.1128/jvi.00380-18>
16. Chevalier B. S., Stoddard B. L. Homing endonucleases: structural and functional insight into the catalysts of intron/intein mobility. *Nucleic Acids Research*, 2001, vol. 29, no. 18, pp. 3757–3774. <https://doi.org/10.1093/nar/29.18.3757>
17. Elde M., Willassen N. P., Johansen S. Functional characterization of isoschizomeric His-Cys box homing endonucleases from *Naegleria*. *European Journal of Biochemistry*, 2000, vol. 267, no. 24, pp. 7257–7265. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01862.x>

Информация об авторах

Веремеенко Екатерина Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: veremeenkoKatya@yandex.ru

Бондарева Кристина Савельевна – магистрант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: VKristinaSav@yandex.ru

Левданская Анастасия Игоревна – ст. преподаватель. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: liaudanskaya@bsu.by

Максимова Наталья Павловна – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nataliamaximova@yahoo.com

Information about the authors

Katsiaryna G. Verameyenka – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veremeenko-Katya@yandex.ru

Krystsina S. Bondarava – Master student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: VKristinaSav@yandex.ru

Anastasia I. Liaudanskaya – Senior Lecturer. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: liaudanskaya@bsu.by

Natalia P. Maximova – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nataliamaximova@yahoo.com

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 58.084.2:581.192
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-163-168>

Поступила в редакцию 06.12.2022
Received 06.12.2022

И. Г. Ермошенко

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Республика Беларусь*

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЭФИРНОГО МАСЛА МОНАРДЫ ДУДЧАТОЙ (*MONARDA FISTULOSA* L.), КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРО-ВОСТОКА БЕЛАРУСИ

Аннотация. Впервые приводятся данные по химическому составу эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.), культивируемой на северо-востоке Беларуси (Витебский район Витебской области). Для получения эфирного масла использовали высушенные листья и соцветия *M. fistulosa* L., которые заготавливали в фазу цветения. Методом хромато-масс-спектрометрии обнаружено более 70 компонентов, из которых идентифицировано 33. Главными компонентами эфирного масла являлись тимол (29,18 % в листьях и 38,4 % в соцветиях), карвакрол (22,83 % в листьях и 21,5 % в соцветиях) и *n*-цимен (17,5 % в листьях и 9,5 % в соцветиях). Основным компонентом эфирных масел являлся тимол, что позволило отнести исследуемые образцы *M. fistulosa* L. к тимольному хемотипу. *M. fistulosa* L. можно рекомендовать для дальнейшего изучения и культивирования в качестве перспективного эфирноноса в условиях северо-востока Беларуси.

Ключевые слова: *Monarda fistulosa* L., эфирное масло, хромато-масс-спектрометрия, химический состав, тимол, карвакрол

Для цитирования: Ермошенко, И. Г. Химический состав эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.), культивируемой в условиях северо-востока Беларуси / И. Г. Ермошенко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 163–168. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-163-168>

Irina G. Ermoshenko

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *MONARDA FISTULOSA* L., CULTIVATED IN THE NORTH-EAST OF BELARUS

Abstract. For the first time the data have been presented on the chemical composition of the essential oil of *Monarda fistulosa* L., cultivated in the north-east of Belarus (Vitebsk region). Dried leaves and inflorescences of *M. fistulosa* L., harvested in the flowering phase, were used to obtain the essential oil. More than 70 components were detected by chromatography-mass spectrometry, of which 33 were identified. The main components of the essential oil are thymol (29.18 % in leaves and 38.4 % in inflorescences), carvacrol (22.83 % in leaves and 21.5 % in inflorescences) and *p*-cymene (17.5 % in leaves and 9.5 % in inflorescences). The main component of essential oils is thymol, which makes it possible to attribute the studied samples of *M. fistulosa* L. to the thymol chemotype. *M. fistulosa* L. can be recommended for further study and cultivation as a promising essential oil plant in the north-east of Belarus.

Keywords: *Monarda fistulosa* L., essential oil, gas chromatography-mass spectrometry, chemical composition, thymol, carvacrol

For citation: Ermoshenko I. G. Chemical composition of the essential oil of *Monarda fistulosa* L., cultivated in the north-east of Belarus. *Vesti Natsyuanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 163–168 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-163-168>

Введение. В настоящее время в мире сохраняется интерес к изучению эфиромасличных растений и их эфирных масел. Особое место среди эфиромасличных растений занимает монарда дудчатая (*Monarda fistulosa* L.) – многолетнее травянистое растение, относящееся к семейству Яснотковые (*Lamiaceae*). Родиной монарды является Северная Америка, где растение произрастает в диком виде, часто как сорняк. Индейцы Северной Америки издавна использовали монарду в качестве лекарственного растения, как антисептическое и ранозаживляющее средство.

В Европу растение было завезено в конце XV в., после открытия Х. Колумбом Америки, а к началу XIX в. уже широко возделывалось там в качестве декоративного, пряно-ароматического и эфиромасличного растения. В странах Европы и в Республике Беларусь встречается только в условиях культуры [1–4].

M. fistulosa L. содержит ценный комплекс биологически активных веществ, включая эфирное масло. В составе эфирного масла содержится более 40 компонентов, главными из которых являются фенольные соединения тимол и карвакрол. В эфирном масле *M. fistulosa* L. обнаружено также высокое содержание *n*-цимола, γ -терпинена, сабинена, цинеола, линалоола, пинена, камфена, мирцена, лимонена, тимохинона. Качественный состав и количественное соотношение компонентов эфирного масла *M. fistulosa* L. во многом зависит от географических, климатических и экологических условий места произрастания и фазы вегетации растения, а также от сроков сбора сырья [1–8].

Высокое содержание в эфирном масле *M. fistulosa* L. тимола и карвакрола, соединений с высокой антимикробной активностью, обуславливает его противомикробные и противовирусные свойства, а также высокую антифунгальную и антигельминтную активность. Согласно литературным данным, эфирное масло монарды проявляет также антиоксидантное, антирадикальное, антисклеротическое, антианемическое, антиканцерогенное, антистрессовое, противовоспалительное, ранозаживляющее, иммуномодулирующее, адаптогенное, радиопротекторное действие [1, 2, 7, 9, 10].

Установлено, что количество эфирного масла у *M. fistulosa* L. меняется в зависимости от фазы вегетации, достигая максимума в период цветения. Наибольшее его количество содержится в соцветиях и листьях, наименьшее – в стеблях, поэтому количество эфирного масла в сырье обуславливается долей листьев и соцветий, которые являются более ценной его частью. Согласно исследованиям Н. В. Коршачкиной, которая изучала биологические особенности роста и развития видов рода *Monarda* L. в условиях Нечерноземной зоны Российской Федерации, наибольшее содержание эфирного масла в листьях растения наблюдается в фазе начала цветения, затем оно начинает уменьшаться. В соцветиях содержание эфирного масла сохраняется высоким до фазы массового цветения, но со временем постепенно снижается [11].

Химический состав эфирного масла *M. fistulosa* L. хорошо известен, но на территории Республики Беларусь изучались растения, культивируемые только в условиях центральной агроклиматической зоны Беларуси. Данных о химическом составе эфирных масел *M. fistulosa* L., культивируемой на северо-востоке Беларуси, нет.

Целью данной работы являлось изучение химического состава эфирных масел, полученных из листьев и соцветий *M. fistulosa* L., интродуцированной в условиях северо-востока Беларуси (Витебский район Витебской области).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлось сырье *M. fistulosa* L., выращенное в ботаническом саду УО ВГМУ в пос. Улановичи Витебского района. Сырье заготавливали в фазу цветения, затем подвергали естественной сушке в тени и до начала его изучения хранили в бумажных пакетах в сухом прохладном месте.

Для определения химического состава из сырья путем экстрагирования диэтиловым эфиром извлекали фракцию липофильных веществ, содержащую эфирное масло. Затем полученную фракцию исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на газовом хроматографе Hewlett Packard 5890/II с квадрупольным масс-спектрометром (HP MSD 5971A) в качестве детектора. Анализ проводился с использованием 30-метровой кварцевой колонки HP-5 с внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 μ м. Неподвижная фаза: сополимер 5 %-дифенил–95 %-диметилсилоксан. Процентный состав компонентов эфирных масел вычисляли по площадям хроматографических пиков без использования корректирующих коэффициентов. Для идентификации компонентов эфирного масла проводили сравнение времени удерживания и полных масс-спектров с данными библиотеки масс-спектрометрических данных Wiley275 (275 000 масс-спектров) и каталогов. Масс-спектр исследуемого вещества считали идентифицированным при совпадении с библиотечным масс-спектром при коэффициенте подобия, превышающем 80 %.

Результаты и их обсуждение. Проведенный хромато-масс-спектрометрический анализ эфирных масел из листьев и соцветий *M. fistulosa* L. позволил обнаружить более 70 компонентов, из которых было идентифицировано 33. Состав и процентное содержание идентифицированных компонентов эфирного масла *M. fistulosa* L. представлены в таблице, общий вид хроматограмм эфирных масел – на рисунке.

**Компонентный состав эфирного масла *Monarda fistulosa* L.
Component composition of the essential oil of *Monarda fistulosa* L.**

Соединение	Листья, %	Соцветия, %
α -Терпинен	3,75	
Лимонен	1,49	
Сабинен	1,02	
γ -Терпинен	1,25	0,7
<i>n</i> -Цимен	17,5	9,5
α -Кубебен	0,17	
<i>цис</i> -Сабинен гидрат	3,14	
α -Копаен	0,36	
β -Бурбонен	0,61	
L-Линалоол	0,12	
<i>транс</i> -Сабинен	0,61	
<i>транс</i> -Сабинен гидрат		1,08
Борнил ацетат	0,17	
β -Кариофиллен	2,46	1,3
Метилкарвакрол	2,52	
Терпинен-4-ол	0,42	
α -Гумулен	0,27	
<i>транс</i> - β -Фарнезен	0,14	
Гермакрен-D	3,61	
α -Селинен	0,24	
β -Кубебен	0,33	0,9
2,5-Циклогексадиен-1,4-дион	6,72	
<i>p</i> -Цимен-8-ол	0,07	
α -Калакорен	0,07	
Оксид кариофиллена	0,21	
Тимол	29,81	38,4
Карвакрол	22,83	21,5
Пентакозан		1
Гептакозан		4,1
Гексакозан		2,23
<i>n</i> -Докозан		6,84
Геникозан		3,15
Пентатриаконтан		5,01

В эфирном масле, полученном из листьев *M. fistulosa* L., обнаружено свыше 50 компонентов, из которых идентифицировано 26. Основными компонентами являлись тимол (29,81 %) и карвакрол (22,83 %). Кроме того, в значительных количествах содержались *n*-цимен (17,5 %), 2,5-циклогексадиен-1,4-дион (6,72 %), α -терпинен (3,75 %), гермакрен-D (3,61 %), *цис*-сабинен гидрат (3,14 %), метилкарвакрол (2,52 %), β -кариофиллен (2,46 %), лимонен (1,49 %), γ -терпинен (1,25 %), сабинен (1,02 %). Другие компоненты были обнаружены в незначительных количествах (менее 1 %).

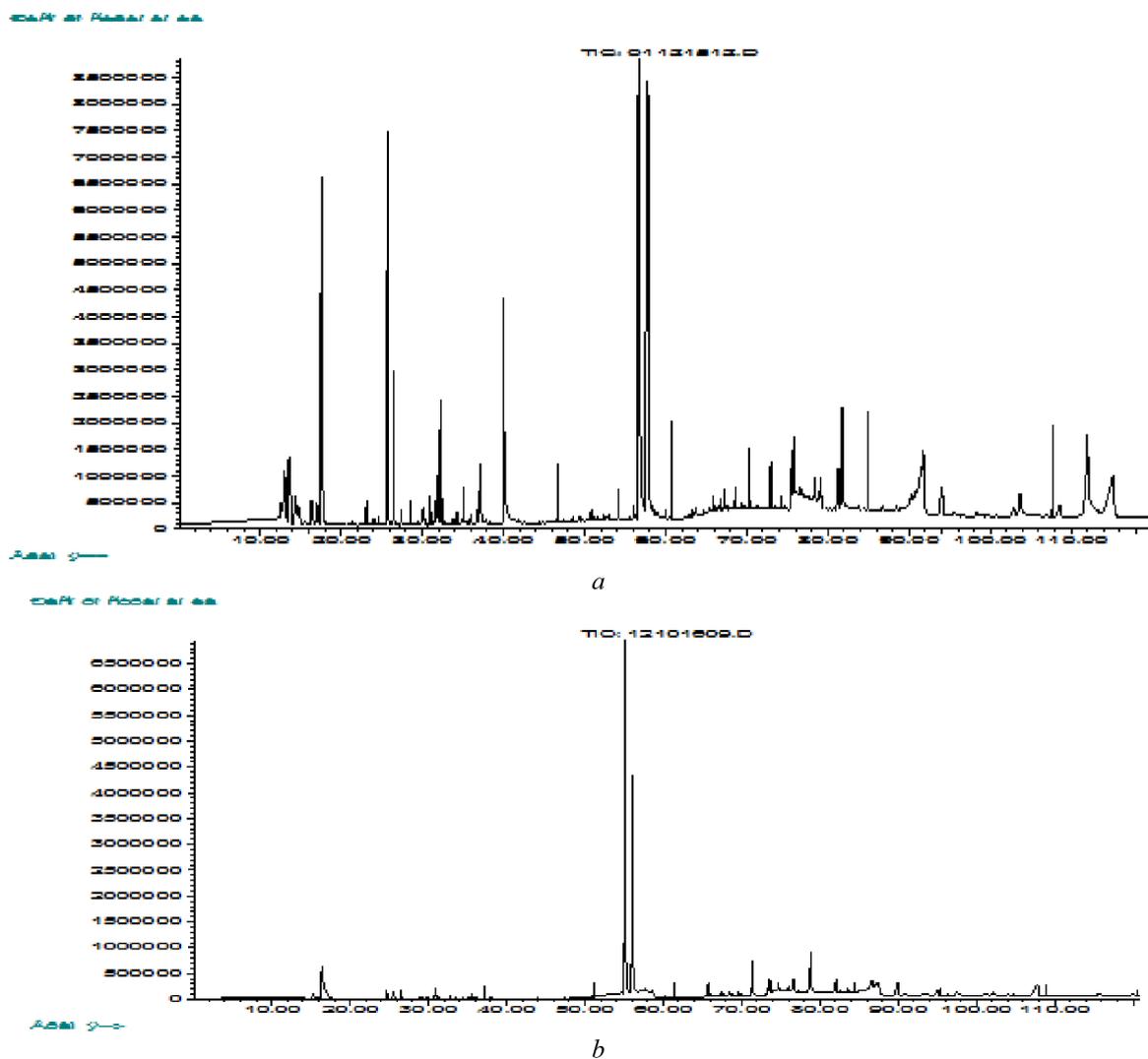
В эфирном масле, полученном из соцветий *M. fistulosa* L., обнаружено 27 компонентов, из которых идентифицировано 13. Основными компонентами также являлись тимол (38,4 %) и карвакрол (21,5 %). В значительных количествах содержались *n*-цимен (9,5 %), *n*-докозан (6,84 %),

пентатриаконтан (5,01 %), гептакозан (4,1 %), геникозан (3,15 %), гексакозан (2,23 %), β -кариофиллен (1,3 %), *транс*-сабинен гидрат (1,08 %), пентакозан (1 %). Содержание остальных компонентов не превышало 1 %.

Сравнивая исследуемые образцы, можно сделать вывод, что наиболее богатым компонентным составом обладает эфирное масло, полученное из листьев *M. fistulosa* L. Анализ данных показывает, что исследуемые образцы эфирных масел имеют ряд общих компонентов (тимол, карвакрол, *n*-цимен, γ -терпинен, *транс*-сабинен гидрат, β -кариофиллен, β -кубебен).

В обоих исследуемых образцах доминирующим компонентом являлся тимол, причем в эфирном масле, полученном из соцветий, его в 1,28 раза больше. Содержание карвакрола примерно одинаково, незначительно выше оно (на 1 %) в эфирном масле, полученном из листьев. Преобладание тимола в эфирном масле позволило отнести исследуемые образцы *M. fistulosa* L. к тимольному хемотипу.

Следует отметить, что в изученных образцах эфирного масла после тимола и карвакрола в достаточно высокой концентрации содержится *n*-цимен (17,5 % в листьях и 9,5 % в соцветиях). Этот компонент часто встречается в эфирных маслах растений семейства *Lamiaceae*, сопутству-



Общий вид хроматограмм образцов эфирных масел, полученных из листьев (a) и соцветий (b) *Monarda fistulosa* L.

General view of the chromatograms of essential oils samples obtained from leaves (a) and inflorescences (b) of *Monarda fistulosa* L.

ет γ -терпинену и является предшественником тимола и карвакрола. Установлено, что высокое содержание *n*-цимена в эфирном масле монарды ухудшает его аромат и снижает его бактерицидную активность [1].

Эфирное масло, полученное из соцветий, содержит много алканов (*n*-докозан, геникозан, пентакозан, гексакозан, гептакозан, пентатриаконтан), которые отсутствуют в эфирном масле, полученном из листьев. Согласно литературным данным, углеводороды, в отличие от обладающих высокой биологической активностью производных монотерпенов, фенолов, спиртов, альдегидов, кетонов, сложных эфиров, являются наименее биологически активными компонентами эфирных масел [12].

В результате химического исследования образцов эфирного масла *M. fistulosa* L. нами не обнаружены ранее отмеченные в литературе как составляющие эфирного масла этого вида такие соединения, как *n*-цимол, цинеол, пинен, камфен, мирцен, тимохинон.

Заключение. Впервые определен химический состав эфирных масел, полученных из листьев и соцветий *M. fistulosa* L., интродуцированной в условиях северо-востока Беларуси (Витебский район Витебской области). В составе эфирных масел обнаружено более 70 компонентов, 33 из которых идентифицированы. Основным компонентом эфирных масел являлся тимол, что позволило отнести исследуемые образцы *M. fistulosa* L. к тимольному хемотипу.

На наш взгляд, в качестве сырья для получения эфирного масла *M. fistulosa* L. целесообразно использовать листья и соцветия.

Североамериканский вид *M. fistulosa* L. можно рекомендовать для дальнейшего изучения и культивирования в качестве перспективного эфирноса в условиях северо-востока Беларуси.

Благодарность. Работа выполнена в рамках ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда» (подпрограмма 10.2 «Биоразнообразие, биоресурсы и экология», задание 06.02, 2021–2025 гг.). Автор выражает благодарность доктору фармацевтических наук, профессору Г. Н. Бузук и А. Г. Бузук за помощь, оказанную при выполнении данной работы.

Acknowledgements. The research was funded by State Program of Scientific Research “Natural resources and the environment” (subprogram 10.2 “Biodiversity, biological resources, ecology”, grant 06.02, 2021–2025). The author is very grateful to the Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor G. N. Buzuk and A. G. Buzuk for the help provided in the performance of this work.

Список использованных источников

1. Федотов, С. В. Эфирные масла монард видов *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes Ex Lag., их хемотипы и биологическая активность / С. В. Федотов // Сб. науч. тр. Гос. Никит. бот. сада. – 2015. – № 141. – С. 131–147.
2. Бедуленко, М. А. Интродукция, экологический аспект и современные направления изучения и применения лекарственного, пряно-ароматического и эфирномасличного растения *Monarda fistulosa* L. (обзор) / М. А. Бедуленко // Тр. БГУ. Сер. Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 52–60.
3. Исследование компонентного состава эфирного масла растений рода *Monarda* (*Lamiaceae*), культивируемых в условиях северо-западного региона / О. Е. Вишневецкая [и др.] // Аграр. Россия. – 2006. – № 6. – С. 60–62.
4. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda Didyma* L., культивируемых в условиях Западной Сибири / Р. В. Опарин [и др.] // Химия раст. сырья. – 2000. – № 3. – С. 19–24.
5. Зависимость состава эфирного масла *Monarda didyma* L. (*Lamiaceae*) от возраста растений и характера сырья / М. А. Мяделец [и др.] // Химия раст. сырья. – 2014. – № 1. – С. 215–219.
6. Компонентный состав эфирного масла *Monarda fistulosa*, произрастающей в Республике Беларусь / Н. А. Коваленко [и др.] // Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях : сб. материалов Всерос. симп., Клязьма, 23–27 апр. 2007 г. / РАН ; редкол.: А. Ю. Цивадзе [и др.]. – М., 2007. – С. 186.
7. Мащенко, З. Е. Фитохимическое исследование и стандартизация тимолсодержащих растений семейства Яснотковых : автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / З. Е. Мащенко ; Самар. гос. мед. ун-т. – Пермь, 2004. – 23 с.
8. Цибина, А. С. Фармакогностическое исследование травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.02 / А. С. Цибина. – Самара, 2020. – 209 л.
9. Монарда – ценный источник биологически активных соединений / В. А. Харченко [и др.] // Овощи России. – 2015. – № 1 (26). – С. 31–35.
10. Marchese A. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature [review] / A. Marchese [et al.] // Food Chem. – 2016. – Vol. 210. – P. 402–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>
11. Корчашкина, Н. В. Биологические особенности роста и развития видов рода Монарда (*Monarda* L.) в условиях Нечерноземной зоны Российской Федерации : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.01.13 / Н. В. Корчашкина ; ГНУ ВИЛАР РАСХН. – М., 2009. – 24 л.
12. Николаевский, В. В. Ароматерапия : справочник / В. В. Николаевский. – М. : Медицина, 2000. – 336 с.

References

1. Fedotov S. V. Essential oils of monard species *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes Ex Lag., their chemotypes and biological activity. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* [Collection of scientific papers of the State Nikitski Botanical Garden], 2015, no. 141, pp. 131–147 (in Russian).
2. Bedulenko M. A. Introduction, ecological aspect and modern trends in the study and application of the medicinal, spicy-aromatic and essential oil plant *Monarda fistulosa* L. (review). *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funktsionirovaniya biosistem = Proceedings of the Belarusian State University. Series of Physiological, Biochemical and Molecular Biology Sciences*, 2013, vol. 8, no. 2, pp. 52–60 (in Russian).
3. Vishnevskaya O. E., Shavarda A. L., Solov'eva A. E., Zvereva O. A. Investigation of the component composition of the essential oil of plants of the genus *Monarda* (*Lamiaceae*) cultivated in the conditions of the northwestern region. *Agrarnaya Rossiya* [Agricultural Russia], 2006, no. 6, pp. 60–62 (in Russian).
4. Oparin R. V., Pokrovskii L. M., Vysochina G. I., Tkachev A. V. Study of the chemical composition of the essential oil of *Monarda fistulosa* L. and *Monarda Didyma* L. cultivated in Western Siberia. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2000, no. 3, pp. 19–24 (in Russian).
5. Myadelets M. A., Domrachev D. V., Kriklivaya A. N., Vysochina G. I. Dependence of the composition of the essential oil of *Monarda didyma* L. (*Lamiaceae*) on the age of plants and the nature of materials. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2014, no. 1, pp. 215–219 (in Russian).
6. Kovalenko N. A., Supichenko G. N., Leont'ev V. N., Shutova A. G., Anosova N. A. Component composition of the essential oil of *Monarda fistulosa* growing in the Republic of Belarus. *Khromatografiya v khimicheskoy analize i fiziko-khimicheskikh issledovaniyakh: sbornik materialov Vserossiiskogo simpoziuma (Klyaz'ma, 23–27 aprelya 2007 goda)* [Chromatography in chemical analysis and physicochemical research: collection of materials of the All-Russian symposium (Klyazma, April 23–27, 2007)]. Moscow, 2007, p. 186 (in Russian).
7. Mashchenko Z. E. *Phytochemical study and standardization of thymol-containing plants of the Lamiaceae family*. Abstract of Ph. D. diss. Perm, 2004. 23 p. (in Russian).
8. Tsibina A. S. *Pharmacognostic study of the herb Monarda fistulosa* L. Ph. D. Thesis. Samara, 2020. 209 p. (in Russian).
9. Kharchenko V. A., Bespal'ko L. V., Gins V. K., Gins M. S., Baikov A. A. *Monarda* is a valuable source of biologically active compounds. *Ovoshchi Rossii* [Russian vegetables], 2015, no. 1 (26), pp. 31–35 (in Russian).
10. Marchese A., Orhan I. E., Daglia M., Barbieri R., Di Lorenzo A., Nabavi S. F., Gortzi O., Izadi M., Nabavi S. M. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature [review]. *Food Chemistry*, 2016, vol. 210, pp. 402–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>
11. Korchashkina N. V. *Biological features of growth and development of species of the genus Monarda (Monarda L.) in the Non-Chernozem zone of the Russian Federation*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2009. 24 p. (in Russian).
12. Nikolaevskii V. V. *Aromatherapy: A Handbook*. Moscow, Meditsina Publ., 2000. 336 p. (in Russian).

Информация об авторе

Ермошенко Ирина Григорьевна – ст. преподаватель. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: irina.ermosenko81@mail.ru

Information about the author

Irina G. Ermoshenko – Senior Lecturer. Vitebsk State Order of Friendship of Peoples' Medical University (27, Frunze Ave., 210023, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: irina.ermosenko81@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 592:502.4(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-169-176>

Поступила в редакцию 10.10.2022

Received 10.10.2022

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

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

МАКРОЗООБЕНТОС РОДНИКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ТЕРРИТОРИИ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация. Установлена таксономическая структура макрозообентоса 11 родников Гродненской области. Выявлено 53 низших определяемых таксона (НОТ), относящихся к 4 типам водных беспозвоночных животных: Platyhelminthes – 1 НОТ, Mollusca – 10, Annelida – 5, Arthropoda – 37 НОТ. Среднее количество выявленных представителей макрозообентоса в роднике составило 14–15 видов. Среди идентифицированных животных 23 вида отмечены впервые для родников Гродненской области. Фауна изученных в родниках Гродненской области водных беспозвоночных животных относительно богата и представлена редкими и охраняемыми не только в Беларуси, но и в Европе видами. Родники являются особым типом естественных водоемов, так как они населены специфической фауной, являющейся одним из важных компонентов общего биологического разнообразия водоемов Беларуси. Ядро фауны родников Гродненской области составляют виды, проявляющие кренофильные, реофильные и оксифильные свойства. Некоторые из этих животных являются очевидными реликтами ледниковой эпохи, но пути проникновения этих видов в современную фауну Беларуси до конца не выяснены.

Ключевые слова: родниковые комплексы, холодные источники, макрозообентос, видовой состав, фауна

Для цитирования: Макрозообентос родниковых комплексов на территории Гродненской области / В. М. Байчоров [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 169–176. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-169-176>

**Vladimir M. Baitchorov, Michael D. Moroz, Yuri G. Hihiniak, Irina Yu. Giginyak,
Alena A. Kulikova, Jahor V. Korzun**

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

MACROZOOBENTHOS OF SPRING COMPLEXES ON THE TERRITORY OF THE GRODNO REGION

Abstract. The taxonomic structure of the macrozoobenthos of 11 springs of the Grodno region has been established. There were identified 53 lower definable taxon (LDT) belonging to 4 types of aquatic invertebrates: Platyhelminthes – 1 LDT, Mollusca – 10, Annelida – 5, Arthropoda – 37 LDT. Among the identified animals, 23 species were first noted for the springs of the Grodno region. The fauna of the studied aquatic invertebrates of the springs of the Grodno region represented by rare and protected species of animals not only in Belarus, but also in Europe. Springs are a special type of natural reservoirs, which are inhabited by a specific fauna – one of the important components of the overall biological diversity of water bodies in Belarus. The most species of the fauna of the studied springs is formed by species exhibiting cryophilic properties, some of these animals are obvious relics of the Ice Age. The ways of penetration of these species into the modern fauna of Belarus are also not yet fully understood.

Keywords: spring complexes, cold sources, macrozoobenthos, species composition, fauna

For citation: Baitchorov V. M., Moroz M. D., Hihiniak Yu. G., Giginyak I. Yu., Kulikova A. A., Korzun Ja. V. Macrozoobenthos of spring complexes on the territory of the Grodno region. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 169–176 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-2-169-176>

Введение. Родники (источники или ключи) представляют собой естественные выходы подземных вод на земную поверхность и, как правило, являются истоками ручьев и рек, образующих разнообразные гидрологические комплексы. Родники имеют большое значение в питании водных объектов, поддержании водного баланса и сохранении стабильности окружающих их наземных биоценозов, часто являются одним из центральных компонентов окружающих ландшафтов.

Существенное отличие родников от рек и озер состоит в том, что минерализация подземных вод имеет больший диапазон изменений – 150–700 мг/л, а температура воды в большинстве источников в течение года изменяется в пределах от 3 до 12 °С.

Большая часть территории Гродненской области относится к бассейну р. Неман, где расположены Неманская низина и самое низкое место в Беларуси (высота над уровнем моря 80 м).

На сегодняшний день водные беспозвоночные в родниках Гродненской области, как и в других регионах Беларуси, изучены слабо.

Материалы и методы исследования. Сборы и наблюдения, послужившие материалом для данного сообщения, были выполнены в октябре и ноябре 2021 г. Взятие проб осуществлялось при помощи стандартного гидробиологического сачка (25×25 см, 500 µm) методом траления по всей акватории родника. Для получения репрезентативных данных по видовому составу фауны макрозообентоса на каменистых грунтах и в местах развития макрофитов производили выемку камней и коряг и последующий осмотр и сбор выявленных животных. Полученный материал фиксировали 70 %-ным раствором этилового спирта. Полный разбор проб и проведение видовой идентификации материала проводили в лабораторных условиях.

При описании таксономического богатства макрозообентоса использовали термин НОТ – низший определяемый таксон [1].

Всего в Гродненской области было изучено 11 родников. Географическое положение и координаты родников:

1 – окрестности (окр.) населенного пункта (н. п.) Каменка (Гродненский р-н), координаты: 53°35'14.6", 23°46'37";

2 – окр. н. п. Плебанишки (Гродненский р-н), координаты: 53°52'02.2", 23°52'06.6";

3 – окр. н. п. Привалки (Гродненский р-н), координаты: 53°50'57.5", 23°51'57.6";

4 – окр. н. п. Привалки (Гродненский р-н), координаты: 53°56'44.2", 23°55'40.3";

5 – окр. н. п. Привалки (Гродненский р-н), координаты: 53°55'49.7", 23°56'07.9";

6 – окр. н. п. Студенец, (Волковысский р-н), координаты: 53°17'47.1", 24°24'35.0";

7 – окр. н. п. Подрось (Волковысский р-н), координаты: 53°13'55.7", 24°26'11.5";

8 – окр. н. п. Острино (Щучинский р-н), координаты: 53°44'40.6", 24°31'29.6";

9 – окр. н. п. Пиловня (Щучинский р-н), координаты: 53°50'52.0", 24°27'29.9";

10 – окр. н. п. Мотча (Новогрудский р-н), координаты: 53°36'08.3", 25°54'17.1";

11 – окр. н. п. Вселюб (Новогрудский р-н), координаты: 53°42'59.7", 25°47'48.8".

За время исследований макрозообентоса было собрано и идентифицировано 3167 экз. животных, находящихся на личиночной и имагинальной стадиях развития.

Результаты и их обсуждение. В изученных родниках выявлено 53 НОТ представителей макрозообентоса, относящихся к 4 типам водных беспозвоночных животных: Platyhelminthes – 1 НОТ, Mollusca – 10, Annelida – 5, Arthropoda – 37 НОТ (см. таблицу).

До вида было определено 32 таксономических элемента.

Таксономический состав животных в изученных родниках Гродненской области в целом представлен достаточно обычным набором видов, характерных для родников других областей Беларуси.

Наибольшее количество представителей макрозообентоса (22 (41,5 % от всех выявленных беспозвоночных) НОТ) было зарегистрировано в роднике в окр. н. п. Острино (Щучинский р-н), наименьшее (6 (0,11 %) НОТ) – в источнике в окр. н. п. Студенец (Волковысский р-н) (рис. 1).

Среднее количество выявленных представителей макрозообентоса в родниках составило 14–15 видов животных.

Наибольшая численность представителей макрозообентоса была зарегистрирована в роднике в окр. н. п. Вселюб (Новогрудский р-н) – 679 экземпляров (рис. 2) (21,4 % от всех выявленных животных в изученных родниках) и в окр. н. п. Подрось (Волковысский р-н) – 580 экз. (18,3 %).

Наименьшее количество отмечено в источнике в окр. н. п. Студенец (Волковысский р-н) – 29 экз. (0,9 % от выявленных гидробионтов) (рис. 2).

Видовой состав и распределение макрозообентоса в родниковых комплексах Гродненской области
Species composition and distribution of macrozoobenthos in the springs of the Grodno region

№ п/п	Таксон, вид	Родник*											Всего, экз.
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Тип Platyhelminthes													
	Класс Rhabditophora Отр. Tricladida Сем. Planariidae												
1	<i>Crenobia alpina</i> (Dana, 1766)							54					54
Тип Mollusca													
	Класс Gastropoda Отр. Architaenioglossa Сем. Valvatidae												
1	<i>Valvata cristata</i> (O. F. Müller, 1774)							91			1		92
2	<i>Valvata piscinalis</i> (O. F. Müller, 1774) Отр. Neotaenioglossa Сем. Amnicolidae											1	1
3	<i>Marstoniopsis scholtzi</i> (A. Schmidt, 1856) Отр. Pulmonata Сем. Lymnaeidae							1					1
4	<i>Galba truncatula</i> (O. F. Müller, 1774)				3			2	3			11	19
5	<i>Lymnaeidae gen. spp.</i>								2				2
6	<i>Radix sp.</i> Сем. Planorbidae	1											1
7	<i>Bathyomphalus contortus</i> (Linnaeus, 1758) Класс Bivalvia Отр. Veneroidea Сем. Sphaeriidae							13					13
8	<i>Pisidium personatum</i> Malm, 1855	6			26				18		2	208	260
9	<i>Pisidium sp.</i>	3						3					6
10	<i>Sphaerium corneum</i> (Linnaeus, 1758)	53											53
Тип Annelida													
	Класс Oligochaeta Отр. Haplotaxida Сем. Tubificidae												
1	<i>Oligochaeta gen. spp.</i> Класс Hirudiniida Отр. Rhynchobdellida Сем. Glossiphoniidae	33	4	2	8	2	17	4	3		1	121	195
2	<i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)	2						1					3
3	<i>Glossiphonia concolor</i> (Apathy, 1888) Отр. Arhynchobdellida Сем. Erpobdellidae	2						1					3
4	<i>Erpobdella lineata</i> (O. F. Müller, 1774)							1					1
5	<i>Erpobdella octoculata</i> (Linnaeus, 1758)	4						4					8
Тип Arthropoda													
	Класс Crustacea Отр. Isopoda Сем. Asellidae												
1	<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758) Сем. Ligiidae	1			2	8	1	326	2	26			366
2	<i>Ligidium hypnorum</i> Cuvier, 1792 Отр. Amphipoda Сем. Gammaridae							22	1				23
3	<i>Synurella ambulans</i> (O. F. Müller, 1846) Класс Arachnidae Отр. Trombidiformes							54	4	3			61

Окончание таблицы

№ п/п	Таксон, вид	Родник*											Всего, экз.	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
4	<i>Hydracarina</i> gen. spp. Класс Insecta Отр. Plecoptera Сем. Nemouridae							2						2
5	<i>Nemurella pictetii</i> (Klapálek, 1900) Сем. Leuctridae	2	8	23		1			38	126	18	27		243
6	<i>Leuctra hippopus</i> Kempny, 1899 Отр. Ephemeroptera Сем. Baetidae		3	33			1				8			45
7	<i>Baetis niger</i> (Linnaeus, 1761) Отр. Trichoptera Сем. Polycentropodinae			2										2
8	<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834) Сем. Psychomyiidae		7	3	2	3			6	4	8			33
9	<i>Lype reducta</i> (Hagen, 1868) Сем. Brachycentridae			1										1
10	<i>Brachycentrus subnubilus</i> Curtis, 1834 Сем. Limnephilidae								32		76			108
11	<i>Anabolia</i> sp.	2												2
12	<i>Chaetopteryx</i> sp.			12	3				6					21
13	<i>Drusus annulatus</i> (Stephens, 1837)			2							27			29
14	<i>Halesus digitatus</i> (Schrank, 1781)		1	3					2		5	33		44
15	<i>Glyphotaelius pellucidus</i> (Retzius, 1783)		7	6					2					15
16	<i>Limnephilus rhombicus</i> (Linnaeus, 1758)											2		2
17	<i>Potamophylax rotundipennis</i> (Brauer, 1857)		10											10
18	<i>Limnephilidae</i> gen. spp. Сем. Sericostomatidae									7		12		19
19	<i>Notidobia ciliaris</i> (Linnaeus, 1761)								2					2
20	<i>Sericostoma personatum</i> (Kirby et Spence, 1826) Сем. Hydroptilidae		3	11							34			48
21	<i>Agraylea multipunctata</i> Curtis, 1834										16			16
22	<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873 Сем. Beraeidae	1												1
23	<i>Beraea pullata</i> Curtis, 1834 Отр. Coleoptera Сем. Dytiscidae			2	2				1		11			16
24	<i>Agabus guttatus</i> (Paykull, 1798)					1					1			2
25	<i>Dytiscidae</i> sp. Сем. Scirtidae	1	3	2		7			2	4				19
26	<i>Elodes</i> sp. Отр. Diptera		10	23	23	3	1		6		112	3		181
27	<i>Ceratopogonidae</i> gen. spp.		5		3				1			1		10
28	<i>Chironomidae</i> gen. spp.	129	112	8	41	37	8		213	153	12	257		970
29	<i>Culicidae</i> gen. spp.							1						1
30	<i>Dixidae</i> gen. spp.		1											1
31	<i>Limoniidae</i> gen. spp.		1	1	2					6	2	3		15
32	<i>Psychodidae</i> gen. spp.		2	3		3					6			14
33	<i>Ptychopteridae</i> gen. sp.		1		30				57		11			99
34	<i>Simuliidae</i> gen. spp.			5	2									7
35	<i>Stratiomyiidae</i> gen. spp.	1	1								1			3
36	<i>Tabanidae</i> gen. spp.	1		1	8	1	1		1	1	4			18
37	<i>Tipulidae</i> gen. spp.								6					6
Число экземпляров		242	179	143	155	66	29	580	408	330	356	679		3167
Число видов, таксонов		16	17	19	14	10	6	16	22	9	20	12		53

* Здесь и на рис. 1, 2 географическое расположение и координаты изученных родников указаны в тексте.

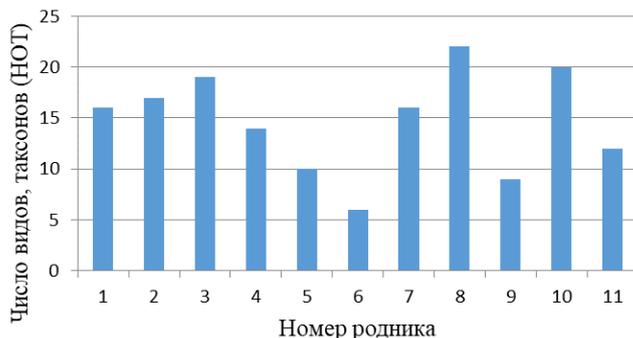


Рис. 1. Число НОТ представителей макрозообентоса, выявленных в родниковых комплексах Гродненской области
 Fig. 1. Number of the LDT representatives of macrozoobenthos identified in the spring complexes of the Grodno region

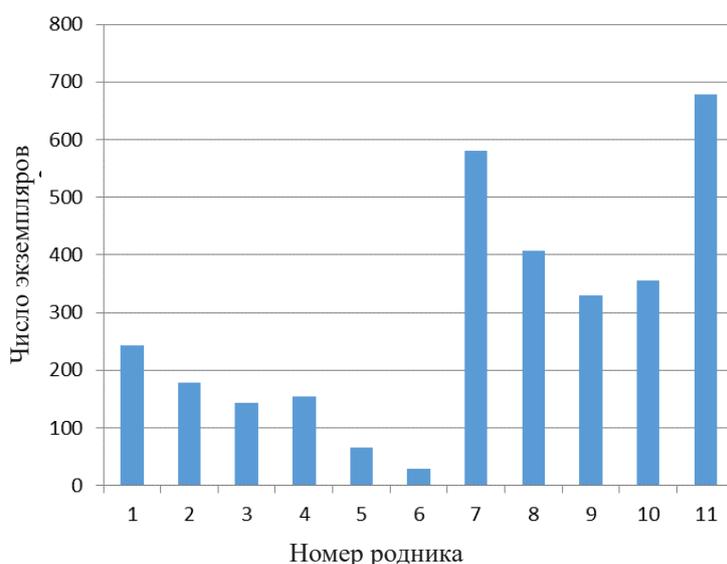


Рис. 2. Численность представителей макрозообентоса в родниковых комплексах Гродненской области
 Fig. 2. Number of the representatives of macrozoobenthos in the spring complexes of the Grodno region

Средняя численность представителей макрозообентоса в изученных родниках Гродненской области составила 288 экз.

Наиболее многочисленной таксономической группой животных в изученных родниках оказались представители насекомых (Insecta) – 33 НОТ (62,2 % от всех коллектированных представителей макрозообентоса). Представители этой таксономической группы преобладали и по численности – 90,6 % от всех коллектированных гидробионтов.

Относительно высокое таксономическое разнообразие выявленных водных насекомых отмечено у представителей из отрядов Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera, являющихся индикаторами чистых вод. Их количество достигало 33,9 % от общего числа выявленных НОТ в изученных родниках.

Среди выявленных в родниках Гродненской области представителей макрозообентоса впервые отмечены 23 вида [2]: *Valvata cristata* (O. F. Müller, 1774); *V. piscinalis* (O. F. Müller, 1774); *Marstoniopsis scholtzi* (A. Schmidt, 1856); *Bathymphalus contortus* (Linnaeus, 1758); *Sphaerium corneum* (Linnaeus 1758); *Glossiphonia complanata* (Linnaeus, 1758); *G. concolor* (Apathy, 1888); *Erpobdella lineata* (O. F. Müller, 1774); *E. octoculata* (Linnaeus, 1758); *Leuctra hippopus* Kempny, 1899; *Baetis niger* (Linnaeus, 1761); *Lype reducta* (Hagen, 1868); *Brachycentrus subnubilus* Curtis, 1834; *Drusus annulatus* (Stephens, 1837); *Halesus digitatus* (Schrank, 1781); *Glyphotaenius pellucidus* (Retzius, 1783); *Potamophylax rotundipennis* (Brauer, 1857); *Notidobia ciliaris* (Linnaeus, 1761); *Sericostoma per-*

sonatum (Kirby et Spence, 1826); *Agraylea multipunctata* Curtis, 1834; *Ithytrichia lamellarus* Eaton, 1873; *Beraea pullata* Curtis, 1834; *Agabus guttatus* (Paykull, 1798).

Типичными обитателями родников Гродненской области, как и родников на территории Беларуси в целом, являются моллюск *Pisidium personatum* Malm, 1855 и личинки веснянки *Nemurella pictetii* (Klapálek, 1900). Эти и некоторые другие кренофильные виды, часто имея высокую численность и встречаемость, образуют ядро фауны родниковых комплексов.

Выявлены виды, обитающие в горных районах или имеющие ареалы с арктическим распространением в Европе. К ним относятся планария *Crenobia alpina* (Dana, 1766) и жук-плавунец *Agabus guttatus* (Paykull, 1798) [3–5]. Эти виды в Беларуси встречаются только в родниках.

Важной природоохранной особенностью изученных родников Гродненской области является обитание там охраняемых видов водных беспозвоночных животных, например бокоплава *Synurella ambulans* (F. Müller, 1846). Этот вид включен в Приложение к Красной книге Беларуси [6] как требующий дополнительного изучения и внимания в целях профилактической охраны (категория охраны DD). Синурелла является древне-пресноводным видом, пережившим ледниковую эпоху благодаря проникновению в подземные воды. В Евразии все виды этого рода не заходят выше 55° с. ш. [7]. *Synurella ambulans* охраняется также в Чехии (категория охраны VU) [8].

Охраняемыми видами в некоторых странах Западной Европы оказались *Crenobia alpina* (Dana, 1766); *Synurella ambulans* (F. Müller, 1846); *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834) 1994); *Brachycentrus subnubilus* Curtis, 1834, (Klima, 1998), в Венгрии (категория охраны VU) – Malicky, 1994; *Notidobia ciliaris* (Linnaeus, 1761); *Sericostoma personatum* (Spence, 1826); *Beraea pullata* (Curtis, 1834) [9–13].

Заключение. Установлены таксономическая структура и видовое разнообразие представителей макрозообентоса 11 родников Гродненской области.

Выявлено 53 НОТ (низших определяемых таксонов), относящихся к 4 типам водных беспозвоночных животных: Platyhelminthes – 1 НОТ, Mollusca – 10, Annelida – 5, Arthropoda – 37 НОТ. Среди идентифицированных животных 23 вида отмечены впервые для родников Гродненской области.

Наибольшее количество НОТ макрозообентоса выявлено в роднике в окрестности н. п. Острино (Щучинский р-н), наименьшее – в н. п. Студенец (Волковысский р-н). Среднее количество представителей макрозообентоса в роднике составило 14–15 видов животных.

Наибольшая численность представителей макрозообентоса зарегистрирована в роднике в окрестностях н. п. Вселюб (Новогрудский р-н), наименьшая – в н. п. Студенец. Средняя численность представителей макрозообентоса в изученных родниках Гродненской области составила 288 экз.

Наиболее многочисленной таксономической группой животных в изученных источниках оказались представители насекомых (Insecta) – 62,2 % от всех коллектированных представителей макрозообентоса. Их численность достигала 90,6 % от всех собранных гидробионтов.

Отмечено относительно высокое таксономическое разнообразие среди представителей Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera, являющихся индикаторами чистых вод. Их количество достигало 33,9 % от общего числа выявленных НОТ.

Фауна изученных в родниках Гродненской области водных беспозвоночных животных относительно богата и представлена редкими и охраняемыми не только в Беларуси, но и в Европе видами.

Родники являются особым типом естественных водоемов, они населены специфической фауной – одним из важных компонентов общего биологического разнообразия водоемов Беларуси.

Ядро фауны изученных родников образуют виды, проявляющие кренофильные, реофильные и оксифильные свойства, некоторые из этих животных являются очевидными реликтами ледниковой эпохи. Пути проникновения этих видов в современную фауну Беларуси еще до конца не выяснены.

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке Государственной научно-технической программы «Зеленые технологии ресурсопользования и экобезопасности» подпрограммы «Устойчивое использование природных ресурсов и охрана окружающей среды с учетом изменения климата». Проект: «Изучить биологическое и ландшафтное разнообразие уникальных родниковых экосистем Беларуси, определить гидрохимические характеристики, историко-культурное значение и разработать научные и технико-экономические обоснования объявления родников памятниками природы (Могилевская, Гродненская, Витебская области)».

Acknowledgements. The study was supported by the State Scientific and Technical Program “Green technologies for resource use and environmental safety” of the subprogram “Sustainable use of natural resources and environmental protection with regard to climate changes”. Project: “Study the biological and landscape diversity of the unique spring ecosystems of Belarus, determine the hydrochemical characteristics, historical and cultural significance, and develop scientific and feasibility studies for declaring springs as natural monuments (Mogilev, Grodno, Vitebsk regions)”.

Список использованных источников

1. Баканов, А. И. Использование характеристик разнообразия зообентоса для мониторинга состояния пресноводных экосистем / А. И. Баканов // Мониторинг биоразнообразия / под общ. ред. В. Е. Соколова [и др.]. – М., 1997. – С. 278–282.
2. Мороз, М. Д. Фауна водных беспозвоночных родниковых комплексов Гродненской области / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Вест. БДПУ. Сер. 3. Фізика. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2018. – № 3. – С. 14–18.
3. Reynoldson, T. B. A key to the British species of freshwater triclads / T. B. Reynoldson // Sci. Publ. Freshwater Biol. Assoc. – 1967. – N 23. – 28 p.
4. Фауна СССР / гл. ред. Е. Н. Павловский. – М.; Л.: АН СССР, 1953. – Т. 4 : Насекомые жесткокрылые. Плавунцы и вертячки / Ф. А. Зайцев. – 376 с.
5. Кирейчук, А. Г. Семейство Dytiscidae (Плавунцы) (имаго, куколки) // Определитель пресноводных беспозвоночных России / А. Г. Кирейчук. – СПб., 2001. – Т. 5. – С. 79–369.
6. Дедю, И. И. Амфиподы пресных и солоноватых вод юго-запада СССР / И. И. Дедю. – Кишинев : Штиинца, 1980. – 224 с.
7. Красная книга Республики Беларусь. Животные / гл. ред. И. М. Кочановский. – Минск : Бел. энцыкл. імя П. Броўкі, 2015. – 320 с.
8. Ďuriš, S., Amphipoda (různonožci) / S. Ďuriš, I. Horka // Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí / eds. J. Farač, D. Král, M. Škorpík. – Praha, 2005. – P. 122–124.
9. Kubiček, F. Tricladida (trojvětvevní) / F. Kubiček, V. Opravilova // Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí / eds. J. Farač, D. Král, M. Škorpík. – Praha, 2005. – P. 45–48.
10. Malicky, H. Rote Liste der gefährdeten Köcherfliegen (Trichoptera) Österreichs / H. Malicky // Rote Liste gefährdeter Tiere Österreichs / Bundesministeriums für Gesundheit und Umweltschutz ; ed. J. Gepp. – Wien, 1994. – P. 149–150.
11. Klima, F. Rote Liste der Köcherfliegen (Trichoptera) / F. Klima // Rote Liste Gefährdeter Tiere Deutschlands / ed. P. Boye. – Wahlstedt, 1998. – P. 112–118. – (Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz ; Vol. 55).
12. Ephemeroptera, Odonata, Plecoptera, Trichoptera / G. Kjørstad [et al.] // Norwegian Red List for Species / eds. : J. A. Kalas [et al.]. – Artstabanen, 2010. – P. 227–240.
13. Szczęsny, B. Trichoptera Chruściki / B. Szczęsny // Czerwona lista zwierząt ginących i zagrożonych w Polsce / red. Z. Głowaciński. – Kraków, 2002. – P. 76–79.

References

1. Bakanov A. I. Using the characteristics of zoobenthos diversity to monitor the state of freshwater ecosystems. *Monitoring bioraznობrazija* [Biodiversity monitoring]. Moscow, 1997, pp. 278–282 (in Russian).
2. Moroz M. D., Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Fauna of aquatic invertebrate spring complexes in the Grodno region. *Vesti Belaruskaga dzyarzhavnaga pedagogichnaga universiteta. Seryya 3. Fizika. Matematyka. Infarmatyka. Biyalogiya. Geagrafiya* [News of the Belarusian State Pedagogical University. Series 3. Physics. Mathematics. Informatics. Biology. Geography], 2018, no. 3, pp. 14–18 (in Russian).
3. Reynoldson T. B. A key to the British species of freshwater triclads. *Scientific publications Freshwater Biological Association*, 1967, no. 23. 28 p.
4. Zaitsev F. A. *Fauna of the USSR. Insects are Coleoptera. Swimmers and spinners. Vol. 4.* Moscow, Leningrad, Academy of Sciences of the USSR, 1953. 376 p. (in Russian).
5. Kireichuk A. G. Family Dytiscidae (Flowerfish) (adults, pupae). *Determinant to freshwater invertebrates of Russia*. Saint Petersburg, Nauka Publ., 2001, vol. 5, pp. 79–369 (in Russian).
6. Dedyu I. I. *Amphipods of fresh and brackish waters of the south-west of the USSR*. Kishinau, Shtiintsa Publ., 1980. 224 p. (in Russian).
7. *Red Book of the Republic of Belarus. Animals*. Minsk, Belarusian encyclopedia named after P. Brouka, 2015. 320 p. (in Russian).
8. Ďuriš S., Horka I. Amphipoda (různonožci). *Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí*. Praha, 2005, pp. 122–124.

9. Kubiček F., Opravilova V. Tricladida (trojvětěvni). *Červený seznam ohrožených druhů České republiky*. Bezobratlí. Praha, 2005, pp. 45–48.
10. Malicky H. Rote Liste der gefährdeten Köcherfliegen (Trichoptera) Österreichs. *Rote Liste gefährdeter Tiere Österreichs*. Wien, 1994, pp. 149–150.
11. Klima F. Rote Liste der Köcherfliegen (Trichoptera). *Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz. Rote Liste gefährdeter Tiere Deutschlands. Vol. 55*. Wahlstedt, 1998, pp. 112–118.
12. Kjørstad G., Andersen T., Brittain J., Olsvik H. Ephemeroptera, Odonata, Plecoptera, Trichoptera. *Norwegian Red List for Species*. Artstabanen, 2010, pp. 227–240.
13. Szczęsny B. Trichoptera Chruściki. *Czerwona lista zwierząt ginących i zagrożonych w Polsce*. Kraków, 2002, pp. 76–79.

Информация об авторах

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

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

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

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

Куликова Елена Александровна – ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Elen.Kulikova@gmail.com

Корзун Егор Викторович – ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natrx109@gmail.com

Information about the authors

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

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

Yuri G. Hihiniak – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: antarctida_2010@mail.ru

Irina Yu. Giginyak – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: i.giginyak@gmail.com

Alena A. Kulikova – Senior Researcher. Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Elen.Kulikova@gmail.com

Jahor V. Korzun – Senior Researcher. Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natrx109@gmail.com