

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай

АКАДЭМІі НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2026. Т. 71, № 2

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ

АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2026. Т. 71, № 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

- А. В. Кильчевский** (*заместитель главного редактора*) – Президиум Национальной академии наук
Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- М. Е. Никифоров** (*заместитель главного редактора*) – Научно-практический центр Национальной
академии наук Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь
- Т. В. Смирнова** (*ведущий редактор журнала*) – Издательский дом «Беларуская навука», Минск, Респуб-
лика Беларусь
- З. М. Алешенкова** – Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Респуб-
лика Беларусь
- 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

- В. В. Демидчик** – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Н. И. Дубовец** – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Л. Ф. Кабашникова** – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Э. И. Коломиец** – Государственное научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Республика Беларусь
- Н. А. Ламан** – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- О. М. Масловский** – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- В. Е. Падутов** – Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь
- В. Н. Прохоров** – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича 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

Редакционный совет

- В. Ф. Багинский** – Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины, Гомель, Республика Беларусь
- В. Е. Гайдук** – Брестский государственный университет имени А. С. Пушкина, Брест, Республика Беларусь
- Ю. Ю. Дгебуадзе** – Институт проблем экологии и эволюции имени 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 имени К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
- О. Н. Пугачев** – Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация
- 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. 2026. Т. 71, № 2.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *Т. В. Смирнова*
Компьютерная верстка *М. Э. Маляревич*

Подписано в печать 03.04.2026. Выход в свет 28.04.2026. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 70 экз. Заказ 59.

Цена номера: индивидуальная подписка – 15,86 руб., ведомственная подписка – 35,17 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, 2026

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2026, vol. 71, 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 Biological Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

Editorial Board

Alexander V. Kilchevsky (Associate Editor-in-Chief) – Presidium of the National Academy of Sciences
of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

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

Tatsiana V. Smirnova (*Leading Editor*) – Publishing House “Belaruskaya Navuka”, Minsk, Republic
of Belarus

Zinaida M. Aleshchenkova – Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

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

Nadezhda I. Dubovets – Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

Andrei E. Hancharou – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences
of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Lyudmila F. Kabashnikova – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy
of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Emiliya I. Kolomiets – State Research and Production Association “Chemical Synthesis and Biotechnology”, 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
Oleg M. Maslovskiy – V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany 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
Valery N. Prokhorov – V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Vladimir V. Titok – Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Vladimir I. Torchik – Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Igor D. Volotovskiy – 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
Yuri Yu. Dgebuadze – A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Vasiliy E. Gayduk – A. S. Pushkin Brest State University, Brest, Republic of Belarus
Nikolay A. Kolchanov – Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation
Vladimir V. Kuznetsov – K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Oleg N. Pugachev – Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation
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, 2026, vol. 71, no. 2.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *T. V. Smirnova*

Computer imposition *M. E. Maliarevich*

Sent for press 03.04.2026. Output 28.04.2026. Format 60×84¹/₈. Offset paper.

Digital press. Printed sheets 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 70 copies. Order 59.

Number price: individual subscription – 15.86 byn., departmental subscription – 35.17 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: 40, F. Skorina Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE “Publishing House “Belaruskaya Navuka”,
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series, 2026

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

ЗМЕСТ

Рупасова Ж. А., Привалов Ф. И., Коломиец Э. И., Авраменко С. Н., Павловский Н. Б. Влияние плодородия почвы на биофлавоноидный комплекс плодов <i>Vaccinium corymbosum</i> L. при применении биологических регуляторов роста	95
Шишлова-Соколовская А. М., Неборская В. Е., Урбанович О. Ю. Редактирование генома картофеля с помощью системы CRISPR/Cas9 для нокаута генов <i>StDMR6-1</i> и <i>StCHL1</i> , вовлеченных в устойчивость к фитофторозу	104
Юйсюань Пэн, Бахметова А. Ф., Мыслейка М. А., Демидчик В. В. Противовоспалительные свойства экстрактов растений семейства <i>Rubiaceae</i> (на англ. яз.)	116
Самбук Е. А., Коломиец Э. И. Выделение штаммов бактерий-антагонистов рода <i>Bacillus</i> , перспективных для контроля патогенной микробиоты рыб.....	125
Веремеенко Е. Г., Сянпу Ли, Жизневская А. А., Покрова Е. С., Зинкевич А. Г., Шапиро М. А., Максимова Н. П. Сравнительный анализ протеома в культуре клеток HeLa и HepG2 до и после обработки феназинами	132
Осипкина О. В. Определение вирусной нагрузки TTV в биологическом материале целевых групп пациентов с использованием молекулярно-генетического метода.....	144
Карпаева А. Ю. Оценка экологического состояния озер Белорусского Поозерья с использованием индекса Q фитопланктонного сообщества	157
Лескова О. А., Бондаревич Е. А., Коцюржинская Н. Н., Самойленко Г. Ю., Лесков А. П. Особенности накопления тяжелых металлов в <i>Artemisia gmelinii</i> , произрастающей на территории Забайкальского края	167

CONTENTS

Rupasova Zh. A., Privalov F. I., Kolomiets E. I., Avramenko S. N., Pavlovsky N. B. Influence of soil fertility on the bioflavonoid complex of <i>Vaccinium corymbosum</i> L. fruits when using biological growth regulators	95
Shishlova-Sokolovskaya A. M., Neborskaya V. E., Urbanovich O. Yu. Potato genome editing using the CRISPR/Cas9 system to knock out the <i>StDMR6-1</i> and <i>StCHL1</i> genes involved in late blight resistance.....	104
Yuxuan Peng, Bakhmetova A. F., Mysleika M. A., Demidchik V. V. Anti-inflammatory properties of extracts from plants of the <i>Rubiaceae</i> family.....	116
Sambuk E. A., Kolomiets E. I. Isolation of bacterial antagonistic strains of the genus <i>Bacillus</i> , with potential for the control of fish pathogenic microbiota.....	125
Verameyenka K. G., Xiangpu Li, Zhiznevskaya A. A., Pokrova E. S., Zinkevich A. G., Shapiro M. A., Maximova N. P. Comparative analysis of proteome in HeLa and HepG2 cell cultures before and after treatment with phenazines	132
Osipkina O. V. Determination of TTV viral load in biological material of target patient groups using a molecular genetic method.....	144
Karpaeva A. Yu. Assessment of the ecological state of lakes in the Belarusian Lake Region using the Q index of the phytoplankton community.....	157
Leskova O. A., Bondarevich E. A., Kotsyurzhinskaya N. N., Samoilenko G. Yu., Leskov A. P. Features of heavy metal accumulation in <i>Artemisia gmelinii</i> growing in the Transbaikal Region.....	167

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 634.737:581.5:581.522.4(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-95-103>

Поступила в редакцию 22.10.2025

Received 22.10.2025

Ж. А. Рупасова¹, Ф. И. Привалов¹, Э. И. Коломиец², С. Н. Авраменко¹, Н. Б. Павловский¹¹Центральный ботанический сад Национальной академии наук, Минск, Республика Беларусь²Государственное научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Республика Беларусь**ВЛИЯНИЕ ПЛОДородия ПОЧВЫ НА БИОФЛАВОНОИДНЫЙ КОМПЛЕКС ПЛОДОВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА**

Аннотация. Приведены результаты сравнительного исследования в Южной агроклиматической зоне республики (Ганцевичский р-н Брестской обл.) в рамках двух полевых опытов с низким и высоким уровнем плодородия почвы влияния биологических препаратов ростстимулирующего действия – Оксидата торфа «Голубика» с микроэлементами в концентрации 0,4 % и нового микробного препарата Экоберит в концентрациях 2, 4 и 8 % на формирование биофлавоноидного комплекса плодов голубики высокорослой. Установлено стимулирующее влияние испытываемых агроприемов на накопление в плодах Р-витаминов, содержание которых определялось состоянием агрохимического фона, видом и концентрацией препарата, а также химической природой органических соединений. Показаны основные тенденции в изменении соотношения основных групп биофлавоноидов под действием испытываемых препаратов в зависимости от эдафического фактора. Установлено, что на почве с менее высоким уровнем плодородия наиболее значительное обогащение плодов данными соединениями обеспечивало внесение Оксидата торфа, превосходившее таковое при использовании препарата Экоберита в 2,8–3,7 раза при постепенном усилении накопления Р-витаминов по мере возрастания его концентрации, тогда как на почве с более высоким уровнем плодородия наиболее результативным следовало признать внесение микробного препарата в 8%-й концентрации, превосходившее по эффективности использование Оксидата торфа в 1,2 раза.

Ключевые слова: уровень плодородия почвы, регуляторы роста Экоберит, Оксидат торфа, голубика высокорослая, плоды, биофлавоноиды, антоциановые пигменты, катехины, флавонолы

Для цитирования: Влияние плодородия почвы на биофлавоноидный комплекс плодов *Vaccinium corymbosum* L. при применении биологических регуляторов роста / Ж. А. Рупасова, Ф. И. Привалов, Э. И. Коломиец [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 95–103. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-95-103>

**Zhanna A. Rupasova¹, Fyodor I. Privalov¹, Emilia I. Kolomiets²,
Stanislav N. Avramenko¹, Nikolay B. Pavlovsky¹**

¹Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus²State Scientific and Production Enterprise “Chemical Synthesis and Biotechnology”, Minsk, Republic of Belarus**INFLUENCE OF SOIL FERTILITY ON THE BIOFLAVONOID COMPLEX OF *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. FRUITS WHEN USING BIOLOGICAL GROWTH REGULATORS**

Abstract. The article presents the results of a comparative study conducted in the southern agro-climatic zone of Belarus (Gantsevichsky District, Brest Region), as part of two field experiments with low and high levels of soil fertility. The study examined the effect of biological growth-stimulating agents, such as Blueberry Peat Oxidate with micronutrients at a concentration of 0.4 %, and the new microbial preparation Ecoberit at concentrations of 2, 4, and 8 %, on the formation of the bioflavonoid complex in highbush blueberries. The stimulating effect of the tested agricultural practices on the accumulation of P-vitamins in the plants was established, and the degree of this effect was determined by the state of the agrochemical background, the type and concentration of the preparation, as well as the chemical nature of the organic compounds. The main trends in the changes in the ratio of the main groups of bioflavonoids under the influence of the tested preparations, depending on the edaphic factor, were shown. It was found that in soils with a lower level of fertility, the most significant enrichment of soybean fruits with these bioflavonoids occurred.

Keywords: soil fertility level, Ecoberit growth regulators, Peat Oxidate, highbush blueberries, fruits, bioflavonoids, anthocyanin pigments, catechins, flavonols

For citation: Rupasova Zh. A., Privalov F. I., Kolomiets E. I., Avramenko S. N., Pavlovsky N. B. Influence of soil fertility on the bioflavonoid complex of *Vaccinium corymbosum* L. fruits when using biological growth regulators. *Vestsi Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 95–103 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-95-103>

Введение. После принятия Закона Республики Беларусь «О производстве и обращении органической продукции» от 09.11.2018 № 144-З существенно ужесточились требования к качеству экологически чистой растениеводческой продукции, при производстве которой ограничено использование любых химических средств, в том числе ростстимулирующего действия. В связи с этим при совершенствовании технологии возделывания голубики высокорослой в разных агроклиматических зонах республики значительное внимание ученых Центрального ботанического сада (ЦБС) НАН Беларуси уделяется комплексной оценке эффективности экологически безопасных препаратов в активизации ростовых и биопродукционных процессов у данной культуры. Уже получены положительные результаты при использовании биологических стимуляторов роста Гидрогумата, Альбита, Элегум-комплекса и микробных удобрений Бактопина, АгроМика, МаКлоРа и ПолиФунКура для оптимизации минерального питания голубики [1]. На основании данных исследований выявлены высокоэффективные варианты применения указанных препаратов, показавшие наиболее выраженное позитивное влияние на качественные характеристики ягодной продукции.

В основу данной работы положены результаты исследования влияния биологических препаратов ростстимулирующего действия – Оксидата торфа «Голубика» с микроэлементами и трех концентраций нового микробного препарата Экоберит, разработанного в ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», на содержание в плодах голубики высокорослой сорта Bluecrop основных компонентов биофлавоноидного комплекса, обладающих разносторонним, в том числе Р-витаминным, действием на организм человека в зависимости от состояния агрохимического фона. Первый препарат представляет собой 4%-й водный концентрат биологически активных веществ, содержащихся в природном продукте – торфе. В его состав входят гуминовые и фульвовые кислоты (до 80 %), 16 аминокислот, из которых 9 незаменимых, моно- и полисахариды, фенолы, гемицеллюлоза, макро- и микроэлементы (Ca, Mg, N, P, K, Na, S, Fe, J, Co, Mn, Zn и др.), а также производные витаминов группы В, витамины D, D₃, PP, нафтеновая кислота и хиноны. Микробный препарат Экоберит представляет собой консорциум из штаммов бактерий рода *Vaccillus*, обладающий ростстимулирующей, антимикробной, азотфиксирующей и фосфатмобилизующей активностями.

Материалы и методы исследования. Исследования выполнены в Ганцевичском р-не Брестской обл. в условиях сезона 2025 г. на примере модельного сорта Bluecrop в рамках двух полевых опытов, один из которых проведен в посадках голубики на экспериментальном участке отраслевой лаборатории интродукции и технологии ягодных растений ЦБС НАН Беларуси (ЭБ), а второй – в производственных насаждениях данной культуры на территории расположенного в 10 км севернее Крестьянско-фермерского хозяйства (КФХ) «Ягодное лукошко». В первом эксперименте почва под опытными растениями – торфяно-глебовая, мелиорированная, развитая на слое пушицево-сфагнового верхового торфа, подстилаемом с глубины 50 см рыхлым, разнотельным песком. Торф – среднеразложившийся, с зольностью 15 % и содержанием P₂O₅ – 131 мг/кг, K₂O – 180 мг/кг, Ca – 246 мг/кг, Mg – 32 мг/кг. Реакция почвенного раствора (рН_{H2O}) в пристволевой зоне посадок голубики варьировалась в диапазоне 4,9–6,2, тогда как у мульчирующего слоя (древесные опилки) она составляла 4,9–5,3, а в междурядьях – 4,7–5,1.

Почва на участке КФХ «Ягодное лукошко» – дерново-подзолистая, супесчаная, с содержанием гумуса 3,5 %, P₂O₅ – 285 мг/кг, K₂O – 74 мг/кг, Ca – 982 мг/кг, Mg – 124 мг/кг. Реакция почвенного раствора (рН_{H2O}) в пристволевой зоне посадок голубики соответствовала области более низких и более благоприятных для данной культуры, нежели на предыдущем участке, значений: от 3,8 до 4,9 при рН мульчирующего слоя (древесные опилки) в пределах 4,7–4,8, а в междурядьях – 5,0–5,7. В данном эксперименте были созданы посадки сходных по габитусу одновозрастных генеративных растений модельного сорта голубики, пристволевая полоса которых замульчирована отходами деревообработки (опилки, щепа, кора) слоем толщиной 10 см и шириной 1,2 м, а сами посадки оборудованы капельным орошением, обеспечивающим также подкисление субстрата и дополнительное поступление основных питательных элементов в виде растворов аммиачной селитры, солей калия и фосфора. Это способствовало улучшению агрохимических свойств почвы, обусловившему более высокий уровень плодородия почвы в опытных посадках голубики на территории КФХ, нежели на экспериментальном участке отраслевой лаборатории

ЦБС, что не могло не отразиться на темпах биосинтеза чрезвычайно ценных в физиологическом плане основных групп биофлавоноидов, являющихся общепризнанными антиоксидантами [2], на фоне применения испытываемых регуляторов роста.

Схема опыта на территории ЭБ включала 5 вариантов: 1 – контроль (обработка приствольной зоны растений водой); 2 – внесение 0,4%-го водного раствора Оксидата торфа; 3–5 – внесение водных растворов препарата Экоберит в концентрациях 2, 4 и 8 %. На территории КФХ «Ягодное лукошко» схема опыта включала 4 варианта: 1 – контроль (обработка водой); 2 – внесение 0,4%-го водного раствора Оксидата торфа; 3, 4 – внесение водных растворов препарата Экоберит в концентрациях 4 и 8 %. В обоих экспериментах использование обозначенных препаратов осуществляли путем внесения 1 л приготовленного раствора под каждый куст голубики в начале фазы бутонизации и далее 4 раза с интервалом 15–20 дней до начала созревания плодов. Последнее внесение препаратов проводили за 2 недели до сбора ягод.

В обоих экспериментах в период созревания плодов проводили повариантное определение общепринятыми методами биохимического анализа [3–6] содержания в них собственно антоцианов и суммарного количества антоциановых пигментов, а также катехинов и флавонолов (в пересчете на рутин). Все аналитические определения выполнены в двукратной биологической и трехкратной аналитической повторностях. Данные статистически обработаны с использованием программы Excel [7].

Результаты и их обсуждение. По нашим оценкам, суммарное содержание биофлавоноидов в сухой массе плодов опытных растений изменялось в рамках экспериментов на территории ЭБ и КФХ в диапазонах 6 653–11 020 и 7 260–9 748 мг/100 г соответственно. При этом общее количество антоциановых пигментов варьировалось в диапазонах 4 037–6 580 и 4 701–6 304 мг/100 г, в том числе собственно антоцианов – в интервалах 1 969–3 293 и 2 306–3 347 мг/100 г, а лейкоантоцианов – в пределах 1 487–4 377 и 1 355–3 189 мг/100 г. Интервалы изменения содержания флавонолов соответствовали областям значений 2 163–3 832 и 2 095–3 372 мг/100 г, а катехинов – 421–608 и 464–855 мг/100 г. Значительная ширина приведенных диапазонов варьирования исследуемых показателей в обоих экспериментах свидетельствовала о существенном влиянии на них испытываемых агроприемов.

Для установления степени зависимости общего количества биофлавоноидов и содержания их основных групп в плодах голубики от состояния агрохимического фона в общих для обоих экспериментов вариантах на менее и более плодородной почве определены относительные различия между ними по данным показателям (табл. 1).

Таблица 1. Относительные различия биохимических характеристик плодов голубики высокорослой в вариантах полевого опыта с обработками растений рострегулирующими препаратами на территории ЭБ относительно таковых в КФХ «Ягодное лукошко», %

Table 1. Relative differences in the biochemical characteristics of highbush blueberry fruits in the field trial variants with plant treatments with growth-regulating agents in the EB territory relative to those in the Yagodnoye Lukoshko farm, %

Показатель	Контроль	Оксидат торфа 0,4 %	Экоберит	
			4 %	8 %
Собственно антоцианы	-41,2	-4,5	-11,5	-37,2
Лейкоантоцианы	+52,7	+37,3	+18,7	-5,0
Сумма антоциановых пигментов	-14,1	+19,8	-	-21,7
Катехины	-	-4,1	-36,0	-50,8
Флавонолы	+3,3	+13,6	+31,5	+19,1
Сумма биофлавоноидов	-8,4	+16,0	+4,8	-13,4
Положительные сдвиги	56,0	86,7	55,0	19,1
Отрицательные сдвиги	63,7	8,6	47,5	128,1
Совокупный результат	-7,7	+78,1	+7,5	-109,0
Соотношение положительных/отрицательных сдвигов	0,9	10,1	1,2	0,2

Примечание. Здесь и в табл. 4 прочерк (-) обозначает отсутствие статистически значимых по *t*-критерию Стьюдента различий при $p < 0,05$.

Оказалось, что использование ростовых стимуляторов в опыте, проведенном на территории ЭБ на почве с более низким уровнем плодородия, способствовало во всех или в большинстве вариантов опыта менее активному, чем на более плодородной почве КФХ, накоплению в плодах собственно антоцианов (на 5–41 %), катехинов (на 4–51 %), а в контроле, как и при внесении препарата Экоберит в максимальной концентрации, – также увеличению общего выхода биофлавоноидов на 8–13 %, тогда как использование микробного препарата в 4%-й концентрации, и особенно Оксидата торфа, обуславливало на 5–16 % более значительное, чем в опыте в КФХ, накопление Р-витаминов. Поскольку общее количество последних интегрировало в себе реакцию отдельных компонентов биофлавоноидного комплекса на состояние агрохимического фона, то показанные межвариантные различия по общему содержанию полифенолов были обусловлены соответствующими изменениями темпов биосинтеза антоциановых пигментов, катехинов и флавонолов.

Так, во всех вариантах опыта, проведенного на ЭБ, было установлено ослабление на 5–41 % по сравнению с опытом на КФХ накопления в плодах собственно антоцианов на фоне усиления на 19–53 % такового лейкоантоцианов, что свидетельствовало о замедлении в первом случае процесса их созревания, сопряженного с приобретением ими синей окраски, обусловленной присутствием собственно антоцианов. При этом наиболее значительные контрасты между сравниваемыми экспериментами по содержанию тех и других форм антоциановых пигментов выявлены в контроле. Заметим, что только при использовании 4%-го Экоберита не обнаружено значимого влияния уровня плодородия почвы на общее содержание в плодах антоциановых пигментов, тогда как в опыте на территории ЭБ в контрольном варианте и при использовании максимальной концентрации микробного препарата оно уступало на 14–22 % таковому в КФХ, а при применении Оксидата торфа, напротив, на 20 % превосходило его (табл. 1). Что касается катехинов и флавонолов, то для них также показано заметное влияние эдафического фактора на темпы биосинтеза данных соединений в плодах голубики. Замечено, что на менее плодородной почве использование всех испытываемых препаратов обуславливало снижение по сравнению с таковым на более плодородной почве содержания катехинов на 4–51 %, наиболее существенное – на фоне внесения Экоберита, особенно в максимальной концентрации, при отсутствии достоверных различий в контроле, на фоне противоположных по знаку различий с экспериментом в КФХ по содержанию флавонолов, составлявших 3–32 %.

На наш взгляд, обобщенное представление о степени влияния уровня плодородия почвы на трансформацию биофлавоноидного комплекса плодов голубики по совокупности 6 характеристик под действием испытываемых агроприемов можно составить по результирующему показателю, оцениваемому величиной соотношения суммарных значений положительных и отрицательных различий анализируемых признаков в общих вариантах полевых опытов, проведенных на территории ЭБ и КФХ (табл. 1). Как видим, лишь при внесении 4%-го Экоберита, и особенно Оксидата торфа, степень обогащения плодов Р-витаминами на менее плодородной почве превышала таковую на более плодородной в 1,2–10,1 раза. При этом в контроле и при использовании бактериального препарата в максимальной концентрации наблюдалась противоположная картина. Так, в первом случае суммарная величина положительных сдвигов оказалась практически идентичной таковой отрицательных, что обусловило лишь незначительное преимущество вторых (не более чем в 1,1 раза) и указывало на сравнительно слабое влияние эдафического фактора на накопление полифенолов при отсутствии воздействия регуляторами роста. При внесении же микробного препарата в максимальной концентрации суммарная величина отрицательных различий между экспериментами на территории ЭБ и КФХ по общему содержанию в плодах Р-витаминов в 6,7 раза превышала таковую положительных, что свидетельствовало о значительном ингибирующем влиянии испытываемого агроприема на биосинтез данных соединений на менее плодородной почве.

Разумеется, выявленные разнонаправленные тенденции в изменении содержания основных компонентов биофлавоноидного комплекса в зависимости от уровня плодородия почвы не могли не отразиться на величине их соотношения, определяющего индивидуальное Р-витаминное действие плодов голубики на организм человека. Например, антоцианы способны образовывать

выводимые из организма комплексы с ионами радиоактивных элементов. Катехины обладают мощной Р-витаминной активностью и повышают устойчивость антоцианов, тогда как флавонолы оказывают стабилизирующее влияние на витамин С, что исключительно выгодно в плане продления витаминной ценности растительных продуктов [2].

Как и следовало ожидать, доминирующее положение в составе биофлавоноидного комплекса плодов голубики принадлежало антоциановым пигментам, общая доля которых в экспериментах на территории ЭБ и КФХ варьировалась в сходных диапазонах – 58–61 и 58–65 % соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Долевое участие основных групп биофлавоноидов в составе Р-витаминного комплекса плодов *Vaccinium corymbosum* L. в вариантах полевых опытов, %

Table 2. Share of the main groups of bioflavonoids in the P-vitamin complex of *Vaccinium corymbosum* L. fruits in the variants of field experiments, %

Вариант опыта	Собственно антоцианы	Лейкоантоцианы	Сумма антоциановых пигментов	Флавонолы	Катехины
Эксперимент на территории ЭБ					
Контроль	30	31	61	32	7
Оксидат торфа 0,4 %	20	40	60	34	6
Экоберит 2 %	42	19	61	33	6
Экоберит 4 %	35	25	60	34	6
Экоберит 8 %	24	34	58	37	5
Эксперимент на территории КФХ «Ягодное лукошко»					
Контроль	46	19	65	29	6
Оксидат торфа 0,4 %	24	34	58	35	7
Экоберит 4 %	41	23	64	27	9
Экоберит 8 %	34	31	65	26	9

При этом на долю собственно антоцианов приходилось 20–42 и 24–46 % соответственно при относительной доле лейкоантоцианов 19–40 и 19–34 %, тогда как доля флавонолов варьировалась в диапазонах 32–37 и 26–35 %, а таковая катехинов не превышала 5–7 и 6–9 %. Заметим, что в обоих экспериментах на фоне испытываемых агроприемов наиболее заметные сдвиги данного показателя относительно контроля выявлены в комплексе антоциановых пигментов, причем на фоне применения Оксидата торфа наблюдалось резкое ослабление в нем позиций собственно антоцианов при усилении таковых лейкоантоцианов. Это свидетельствовало о замедлении процесса созревания плодов голубики под действием данного препарата, независимо от уровня плодородия почвы. Заметим, что в обоих экспериментах внесение Экоберита, напротив, способствовало более выраженному, чем в данном варианте, усилению позиций собственно антоцианов при ослаблении таковых лейкоантоцианов. При этом с увеличением концентрации микробного препарата в составе Р-витаминного комплекса плодов наблюдалось снижение долевого участия собственно антоцианов на фоне увеличения такового лейкоантоцианов. Вместе с тем при отсутствии заметных различий между сравниваемыми экспериментами в долевого участия флавонолов и катехинов в контроле и при использовании Оксидата торфа внесение Экоберита приводило к увеличению долевого участия антоциановых пигментов и катехинов при снижении такового флавонолов, более выраженному в опыте на территории КФХ, нежели на ЭБ.

Как видим, на фоне внесения Оксидата торфа уровень плодородия почвы не оказывал значимого влияния на долевого участие катехинов и флавонолов в составе биофлавоноидного комплекса плодов голубики при заметной трансформации антоцианового комплекса, обусловленной замедлением темпов превращения лейкоформ в собственно антоцианы, тогда как использование Экоберита на более плодородной почве способствовало снижению по сравнению с таковым на менее плодородной почве роли флавонолов при заметном усилении таковой катехинов и антоциановых пигментов в основном за счет активизации биосинтеза собственно антоцианов, ослабевавшей по мере увеличения дозы микробного препарата и сопровождавшейся усилением накопления лейкоантоцианов.

На основании результатов биохимического скрининга плодов голубики в рамках полевых экспериментов выявлены варианты с наибольшими и наименьшими значениями анализируемых показателей (табл. 3).

Таблица 3. Варианты полевых опытов с наибольшими (max) и наименьшими (min) характеристиками биофлавоноидного комплекса плодов *V. corymbosum* L.

Table 3. Field experiment variants with the highest (max) and lowest (min) characteristics of the bioflavonoid complex in *V. corymbosum* L. fruits

Показатель	Контроль	Оксидат торфа 0,4 %	Экоберит		
			2 %	4 %	8 %
Эксперимент на территории ЭБ					
Собственно антоцианы	min		max		min
Лейкоантоцианы		max	min		
Сумма антоциановых пигментов	min	max			
Катехины		max			min
Флавонолы	min	max			
Сумма биофлавоноидов	min	max			
Эксперимент на территории КФХ «Ягодное лукошко»					
Собственно антоцианы	max	min	Не определен		
Лейкоантоцианы	min	max	Не определен		
Сумма антоциановых пигментов	min		Не определен		max
Катехины	min		Не определен		max
Флавонолы	min	max	Не определен	min	
Сумма биофлавоноидов	min	max	Не определен		max

Нетрудно убедиться, что в обоих полевых экспериментах наибольшим количеством максимальных значений анализируемых признаков характеризовался вариант с внесением Оксидата торфа, наряду с которым в опыте на территории КФХ сопоставимым с ним числом подобных значений отмечен также вариант с использованием 8%-го Экоберита при их отсутствии на фоне его внесения в 4%-й концентрации. Применение же микробного препарата в максимальной концентрации на почве с более низким уровнем плодородия выявило менее выраженный позитивный эффект, степень проявления которого снижалась по мере уменьшения его концентрации. При этом наибольшее количество минимальных значений исследуемых показателей обнаружено в контроле, что свидетельствовало о стимулирующем в целом влиянии испытываемых препаратов на биосинтез в плодах основных компонентов биофлавоноидного комплекса.

Для количественной оценки в полевых экспериментах влияния на него регуляторов роста определены относительные различия с контролем исследуемых показателей в вариантах с их применением, приведенные в табл. 4. Как видим, различия уровня агрохимического фона отразились не столько на направленности, сколько на степени изменений анализируемых признаков при наличии в большинстве случаев общих закономерностей. Так, независимо от эдафического фактора, использование стимуляторов роста в основном способствовало обогащению плодов голубики основными компонентами биофлавоноидного комплекса, что, на наш взгляд, обусловлено присущей им защитной функцией при экзогенных стрессовых воздействиях на растительный организм [8]. Вместе с тем степень проявления данного эффекта определялась не только состоянием агрохимического фона, но и видом, и дозой препарата, а также химической природой органических соединений.

Заметим, что внесение Оксидата торфа на более плодородной почве способствовало более выраженной, чем на менее плодородной, активизации по сравнению с контролем биосинтеза в плодах катехинов и лейкоформ антоциановых пигментов при менее существенном усилении накопления флавонолов и особенно собственно антоцианов (табл. 4). При этом выразительность изменений в Р-витаминном комплексе плодов на фоне применения Экоберита в значительной степени определялась его концентрацией и состоянием агрохимического фона. Вместе с тем в эксперименте на почве с более низким уровнем плодородия обогащение плодов антоциановыми пигментами, уступавшее по интенсивности в 2,8–3,4 раза таковому при использовании

Таблица 4. Относительные различия с контролем вариантов полевых опытов по характеристикам биофлавоноидного комплекса плодов *V. corymbosum* L., %Table 4. Relative differences with control of field experiment variants in terms of the characteristics of the bioflavonoid complex of *V. corymbosum* L. fruits, %

Показатель	Оксидат торфа 0,4 %	Экоберит		
		2 %	4 %	8 %
Эксперимент на территории ЭБ				
Собственно антоцианы	+11,9	+67,3	+42,9	+4,4
Лейкоантоцианы	+111,6	-28,1	–	+39,4
Сумма антоциановых пигментов	+63,0	+18,4	+21,0	+22,3
Катехины	+34,3	–	–	-7,0
Флавонолы	+77,2	+21,3	+28,3	+42,5
Сумма биофлавоноидов	+65,6	+18,1	+21,9	+26,9
Положительные сдвиги	363,6	125,1	114,1	135,5
Отрицательные сдвиги	Нет	28,1	Нет	7,0
Совокупный результат	363,6	97,0	114,1	128,5
Эксперимент на территории КФХ «Ягодное лукошко»				
Собственно антоцианы	-31,1	Не определен	-5,0	–
Лейкоантоцианы	+135,4	Не определен	+28,9	+124,0
Сумма антоциановых пигментов	+16,9	Не определен	+4,8	+34,1
Катехины	+36,6	Не определен	+50,6	+84,3
Флавонолы	+61,0	Не определен	–	+23,6
Сумма биофлавоноидов	+30,9	Не определен	+6,6	+34,3
Положительные сдвиги	280,8	Не определен	90,9	300,3
Отрицательные сдвиги	31,1	Не определен	5,0	Нет
Совокупный результат	249,7	Не определен	85,9	300,3

Оксидата торфа, слабо зависело от концентрации микробного препарата, однако при его внесении в концентрациях 2 и 4 % в самом комплексе данных пигментов наблюдалось усиление превращения лейкоантоцианов в собственно антоцианы при замедлении данного процесса при использовании максимальной концентрации препарата.

В отличие от данного эксперимента в опыте на более плодородной почве отмечено усиление накопления только лейкоформ антоциановых пигментов, нараставшее с увеличением концентрации Экоберита, причем аналогичная тенденция прослеживалась и в накоплении близких им по химической природе катехинов, что обусловило в 1,4–2,3 раза более выраженное, чем при внесении Оксидата торфа, превышение контрольного уровня их содержания. Что касается флавонолов, то в данном случае активизация их накопления, уступавшая таковой на фоне применения Оксидата торфа в 2,6 раза, имела место лишь при использовании максимальной концентрации микробного препарата. Заметим, что в опыте на менее плодородной почве использование последнего не оказало значимого влияния на темпы биосинтеза катехинов, и лишь на фоне внесения его в 8%-й концентрации наблюдалось незначительное обеднение плодов данными соединениями. При этом использование микробного препарата способствовало хотя и менее выраженной (в 1,8–3,6 раза), чем при внесении Оксидата торфа, но тем не менее весьма заметной активизации биосинтеза флавонолов, усиливавшейся с увеличением его концентрации.

Разумеется, различия темпов биосинтеза основных компонентов Р-витаминного комплекса плодов голубики под действием испытываемых стимуляторов роста в зависимости от состояния агрохимического фона не могли не отразиться на изменении при этом общего выхода биофлавоноидов относительно контроля. Как следует из табл. 4, на менее плодородной почве наибольшее увеличение данного показателя, вдвое превышавшее таковое на более плодородной, выявлено при внесении Оксидата торфа, тогда как применение Экоберита, независимо от эдафического фактора, оказалось наиболее результативным при использовании его максимальной концентрации.

С целью выявления агроприема с наиболее выраженным позитивным влиянием на биофлавоноидный комплекс плодов голубики осуществлено суммирование относительных размеров положительных и отрицательных различий опытных вариантов с контролем по 6 исследуемым

характеристикам данного комплекса, сложение которых с учетом их знака давало представление о совокупном результате в каждом конкретном случае (табл. 4). Установлено, что, независимо от уровня плодородия почвы, испытываемые стимуляторы роста оказывали существенное позитивное влияние на Р-витаминный комплекс плодов по совокупности 6 основных его характеристик. При этом в эксперименте на территории ЭБ на почве с менее высоким уровнем плодородия наиболее значительное обогащение его основными компонентами выявлено на фоне внесения Оксидата торфа, превосходившее таковое при использовании Экоберита в 2,8–3,7 раза при постепенном увеличении общего выхода биофлавоноидов по мере возрастания концентрации микробного препарата. В эксперименте на территории КФХ на почве с более высоким уровнем плодородия самым результативным агроприемом следовало признать внесение микробного препарата в 8%-й концентрации, превосходившее по эффективности использование Оксидата торфа в 1,2 раза.

Заключение. В результате сравнительного исследования в Южной агроклиматической зоне республики (Ганцевичский р-н Брестской обл.) в рамках двух полевых опытов с низким и высоким уровнем плодородия почвы влияния биологических препаратов ростстимулирующего действия – Оксидата торфа «Голубика» с микроэлементами в концентрации 0,4 % и нового микробного препарата Экоберит в концентрациях 2, 4 и 8 % на формирование биофлавоноидного комплекса плодов голубики высокорослой установлено, что все испытываемые агроприемы способствовали значительному их обогащению основными его компонентами, степень которого определялась состоянием агрохимического фона, видом и концентрацией препарата, а также химической природой данных соединений.

Показано, что на фоне внесения Оксидата торфа уровень плодородия почвы не оказывал значимого влияния на долевое участие катехинов и флавонолов в составе биофлавоноидного комплекса плодов при существенной трансформации пула антоциановых пигментов, обусловленной замедлением темпов превращения лейкоформ в собственно антоцианы. Использование же препарата Экоберит на более плодородной почве приводило к снижению по сравнению с установленной на менее плодородной роли флавонолов при заметном усилении таковой катехинов и антоциановых пигментов в основном за счет активизации биосинтеза собственно антоцианов, ослабевавшей по мере увеличения концентрации микробного препарата и сопровождавшейся усилением накопления лейкоантоцианов.

Установлено, что на почве с менее высоким уровнем плодородия наиболее значительное обогащение плодов биофлавоноидами обеспечивало внесение Оксидата торфа, превосходившее таковое при использовании Экоберита в 2,8–3,7 раза при постепенном усилении накопления Р-витаминов по мере возрастания его концентрации, тогда как на более плодородной почве самым результативным агроприемом следовало признать внесение микробного препарата Экоберит в 8%-й концентрации, превосходившее по эффективности использование Оксидата торфа в 1,2 раза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Эффективность микробных удобрений при возделывании голубики на выработанных торфяниках Беларуси / Ж. А. Рупасова, А. П. Яковлев, В. Н. Решетников [и др.]. – Мн.: Бел. наука, 2020. – 236 с.
2. Карабанов, И. А. Флавоноиды в мире растений / И. А. Карабанов. – Мн.: Ураджай, 1981. – 80 с.
3. Swain, T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents / T. Swain, W. Hillis // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 1959. – Vol. 10, N 1. – P. 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
4. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В. Ю. Андреева, Г. И. Калинин, Н. Э. Коломиец, Н. В. Исайкина // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 19–21.
5. Большой практикум «Биохимия». Лабораторные работы: учеб. пособие / сост.: М. Г. Кусакина, В. И. Суворов, Л. А. Чудинова. – Пермь: Перм. гос. нац. исслед. ун-т, 2012. – 148 с.
6. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош [и др.]; отв. ред. А. И. Ермакова. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. – 430 с.
7. Теория вероятностей и математическая статистика. Математические модели: учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений / В. Д. Мятлев, Л. А. Панченко, Г. Ю. Ризниченко, А. Т. Терехин. – М.: Изд. центр «Академия», 2009. – 320 с.

8. Содержание осмолитов и флавоноидов у растений *Arabidopsis thaliana*, дефектных по жасмонатному сигналингу, при солевом стрессе / Т. А. Ястреб, Ю. Е. Колупаев, А. А. Луговая, А. П. Дмитриев // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – Т. 52, № 2. – С. 223–229.

References

1. Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Reshetnikov V. N., Kolomiets E. I., Aleshchenkova Z. M. *Efficiency of microbial fertilizers in the cultivation of blueberries on depleted peatlands of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2020. 236 p. (in Russian).
2. Karabanov I. A. *Flavonoids in the world of plants*. Minsk, Uradzhai Publ., 1981. 80 p. (in Russian).
3. Swain T., Hillis W. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1959, vol. 10, no. 1, pp. 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
4. Andreeva V. Yu., Kalinkina G. I., Kolomiets N. E., Isaikina N. V. Procedure for determination of antocyanins in the black chokeberries (*Aronia melanocarpa*). *Farmatsiya* [Pharmacy], 2013, no. 3, pp. 19–21 (in Russian).
5. Kusakina M. G., Suvorov V. I., Chudinova L. A. (comp.). *Extensive Practical Course “Biochemistry”*. Laboratory Work. Perm, Perm State national research university, 2012. 148 p. (in Russian).
6. Ermakov A. I., Arasimovich V. V., Yarosh N. P., Smirnova-Ikonnikova M. I., Murri I. K., Lukovnikova G. A. *Methods of Biochemical Research of Plants*. 3rd ed. rev. Leningrad, Agropromizdat. Leningradskoe otделение Publ., 1987. 430 p. (in Russian).
7. Myatlev V. D., Panchenko L. A., Riznichenko G. Yu., Terekhin A. T. *Probability Theory and Mathematical Statistics. Mathematical Models*. Moscow, Publishing center “Academy”, 2009. 320 p. (in Russian).
8. Yastreb T. O., Kolupaev Y. E., Lugovaya A. A., Dmitriev A. P. Content of osmolytes and flavonoids under salt stress in *Arabidopsis thaliana* plants defective in jasmonate signaling. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2016, vol. 52, no. 2, pp. 210–215. <https://doi.org/10.1134/S0003683816020186>

Информация об авторах

Рупасова Жанна Александровна – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: J.Rupasova@cbg.org.by

Привалов Федор Иванович – академик, д-р с.-х. наук, профессор, директор. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: office@cbg.org.by

Коломиец Эмилия Ивановна – академик, д-р биол. наук, профессор, генеральный директор. ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» (ул. Академика Купревича, 2, пом. 7, 220084, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@biotech.bas-net.by

Авраменко Станислав Николаевич – мл. науч. сотрудник, магистрант. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: auramenkastas@gmail.com

Павловский Николай Болеславович – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pavlovskiy@tut.by

Information about the authors

Zhanna A. Rupasova – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: J.Rupasova@cbg.org.by

Fyodor I. Privalov – Academician, D. Sc. (Agr.), Professor, Director. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: office@cbg.org.by

Emilia I. Kolomiets – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, General Director. State Scientific and Production Association “Chemical Synthesis and Biotechnology” (2, office 7, Akademika Kuprevicha Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@biotech.bas-net.by

Stanislav N. Avramenko – Junior Researcher, Undergraduate Student. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: auramenkastas@gmail.com

Nikolai B. Pavlovsky – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pavlovskiy@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.29
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-104-115>

Поступила в редакцию 31.10.2025
Received 31.10.2025

А. М. Шишлова-Соколовская, В. Е. Неборская, О. Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА КАРТОФЕЛЯ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ CRISPR/Cas9 ДЛЯ НОКАУТА ГЕНОВ *StDMR6-1* И *StCHL1*, ВОВЛЕЧЕННЫХ В УСТОЙЧИВОСТЬ К ФИТОФТОРОЗУ

Аннотация. Методом *Agrobacterium*-опосредованной трансформации в геном сортов картофеля белорусской селекции Першацвет, Юлия, Красавик были введены векторные генетические конструкции, несущие в своем составе элементы системы CRISPR/Cas9 для нокаута генов регуляторов защитных реакций *StDMR6-1* и *StCHL1*. Нокаут данных генов (S-генов) является перспективным, актуальным и современным подходом для повышения устойчивости картофеля к фитофторозу. Получено 288 трансгенных растений картофеля T₀ поколения, 161 из которых было проанализировано на наличие мутационных событий инсерционно-делеционного типа с использованием метода секвенирования по Сэнгеру. При этом из 161 трансформанта T₀ поколения 84 имели мутантные последовательности генов *StCHL1* и *StDMR6-1* с частотой встречаемости мутаций от 1 до 97 % при $p < 0,001$ и 99,2 % при $p \geq 0,001$ в зависимости от сорта. В результате эксперимента впервые в Республике Беларусь были получены генетически отредактированные растения картофеля сортов белорусской селекции Юлия, Першацвет, Красавик, несущие мутации генов *StCHL1* и *StDMR6-1*, приводящие к сдвигу рамки считывания и, как следствие, к нокауту генов.

Ключевые слова: CRISPR/Cas9 система, *StDMR6-1*, *StCHL1*, *Solanum tuberosum*

Для цитирования: Шишлова-Соколовская, А. М. Редактирование генома картофеля с помощью системы CRISPR/Cas9 для нокаута генов *StDMR6-1* и *StCHL1*, вовлеченных в устойчивость к фитофторозу / А. М. Шишлова-Соколовская, В. Е. Неборская, О. Ю. Урбанович // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 104–115. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-104-115>

Anastasia M. Shishlova-Sokolovskaya, Valeria E. Neborskaya, Oksana Yu. Urbanovich

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

POTATO GENOME EDITING USING THE CRISPR/Cas9 SYSTEM TO KNOCK OUT THE *StDMR6-1* AND *StCHL1* GENES INVOLVED IN LATE BLIGHT RESISTANCE

Abstract. Using *Agrobacterium*-mediated transformation, vector genetic constructs, carrying CRISPR/Cas9 elements in their composition for the knockout of the *StDMR6-1* and *StCHL1* genes regulating defense responses, were introduced into the genomes of Belarusian potato varieties Pershatsvet, Yuliya and Krasavik. The knockout of these genes (S-genes) is a promising, essential and modern approach for increasing potato resistance to late blight. A total of 288 transgenic T₀ potato plants were obtained, and 161 out of them were analyzed for insertion-deletion mutations using Sanger sequencing. Moreover, out of 161 transformants of the T₀ generation, 84 had mutant sequences of the *StCHL1* and *StDMR6-1* genes with a mutation frequency from 1 to 97 % at $p < 0.001$ and 99.2 % at $p \geq 0.001$, depending on the variety. As a result of the experiment, genetically edited potato plants of the varieties of Belarusian selection Yuliya, Pershatsvet, and Krasavik were obtained for the first time in the Republic of Belarus. These plants carry mutations in the *StCHL1* and *StDMR6-1* genes, leading to a shift in the reading frame and, as a consequence, to gene knockout.

Keywords: CRISPR/Cas9 system, *StDMR6-1*, *StCHL1*, *Solanum tuberosum*

For citation: Shishlova-Sokolovskaya A. M., Neborskaya V. E., Urbanovich O. Yu. Potato genome editing using the CRISPR/Cas9 system to knock out the *StDMR6-1* and *StCHL1* genes involved in late blight resistance. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seryya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 104–115 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-104-115>

Введение. В Республике Беларусь картофель (*Solanum tuberosum*) занимает первое место среди овощных культур и является одним из основных продуктов питания. Его клубни – это хороший источник питательных веществ, таких как углеводы, белки, минералы и витамин С [1, 2]. Однако выращивание картофеля сопряжено с риском развития ряда заболеваний, наиболее опасным из которых является фитофтороз (возбудитель – оомицет *Phytophthora infestans*). Болезнь поражает

листья, стебли и клубни. Она имеет широкое распространение во всех зонах возделывания картофеля и приводит к потерям урожая до 30–50 %. Разработка надежных, экологически безопасных и экономически осуществимых тактик управления проблемой является непосредственной целью многих исследователей. В настоящее время наиболее надежный подход – это интегрированная агротехника картофеля, включающая посадку здорового семенного материала, своевременную уборку внутрихозяйственных источников патогена (клубней, ботвы, сорняков), применение фунгицидов и использование устойчивых сортов. Применение эффективных фунгицидов позволяет возделывать восприимчивые сорта картофеля. Однако большинство препаратов дорогостоящие и оказывают неблагоприятное воздействие на окружающую среду. Использование устойчивых сортов картофеля минимизирует потребление фунгицидов и является одним из эффективных способов борьбы с фитофторозом. Данные сорта картофеля создаются путем интрогрессии генов устойчивости (R-генов) от диких видов *Solanum*. R-гены, как правило, редки и часто преодолеваются эволюцией патогенов [3]. Относительно недавно был описан альтернативный тип устойчивости растений к болезням, основанный на потере функции генов восприимчивости (S-генов), используемых патогеном во время колонизации и заражения. Было показано, что нокаут S-генов может индуцировать неспецифическую устойчивость у растений [4]. Таким образом, создание растений картофеля, несущих генетически редактированные с помощью системы CRISPR/Cas9 гены восприимчивости *StDMR6-1* и *StCHL1*, является перспективным, актуальным и современным подходом для повышения устойчивости картофеля к фитофторозу.

Материалы и методы исследования. На основании степени устойчивости к *P. infestans* и максимальных показателей морфогенетической отзывчивости в культуре *in vitro* в качестве объекта исследований нами было выбрано 3 перспективных сорта картофеля белорусской селекции: Першацвет, Юлия, Красавик. Предметом исследования являлись гены *S. tuberosum CHL1* (Gene ID: 102589204, updated on 2-Nov-2023) и *DMR6-1* (Gene ID:102590513, updated on 6-Nov-2021).

Создание трансгенных/редактированных растений картофеля. Для получения трансгенных растений картофеля мы использовали систему стабильной экспрессии целевых последовательностей на основе Т-ДНК *Agrobacterium tumefaciens*. Векторные генетические конструкции для нокаута генов-мишеней *StDMR6-1* и *StCHL1* были созданы на основе бинарного вектора *pRGEB31* [5]. Культивирование ночной культуры *A. tumefaciens* штамма *LBA4404* проводилось в темноте в течение 24 ч при температуре 25 °С в 20 мл жидкой среды LB с добавлением антибиотиков канамицина и рифампицина в концентрациях 50 мг/л каждого. С помощью полученной агробактериальной суспензии выполнялось инфицирование эксплантов, в качестве которых в нашей работе использовались листья и части стебля 3–4-недельных растений картофеля, выращенных в асептических условиях на белом свете, выровненном по падающим квантам фотосинтетически активной радиации (ФАР), равным 300 ± 50 мкмоль/см²/с, при температуре 24/18 °С с часовым фото периодом 16/8 соответственно. Экспланты размером 0,3–0,5 × 0,3–0,5 см нарезались и помещались в предварительно подготовленную агробактериальную суспензию и кокультивировались в течение 30–40 мин в темноте при температуре 24 °С. Далее экспланты переносились на твердые селективные среды, содержащие соли и витамины по Мурасиге – Скуга, сахарозу и фитогормоны для индукции процессов тканевой дедифференцировки и инициации непрямого морфогенеза (табл. 1), а также антибиотик гиромидин для селекции в концентрации 10 мг/л, и культивировались в пробирках на белом свете, выровненном по падающим квантам ФАР, равным 250 ± 50 мкмоль/см²/с, при температуре 24/18 °С с часовым фото периодом 16/8 соответственно.

Таблица 1. Состав фитогормонов для непрямого морфогенеза картофеля в культуре *in vitro*

Table 1. Composition of phytohormones for indirect potato morphogenesis in *in vitro* culture

Фитогормон	Количество для инициации каллусогенеза/регенерации, мг/л
Кинетин	1/–
Индолилуксусная кислота	–/0,1–0,3
6-бензиламинопурин	2–4/1
1-нафталинуксусная кислота	0,3–1/0,2
Гиббереллиновая кислота	–/0,1–1
2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота	3/–

Укоренение первичных трансформантов с 3–4 настоящими листочками проводилось на ½ среды Мурасиге – Скуга с содержанием сахарозы 10–15 г/л в присутствии селективного агента. Растения, полностью сформировавшие корни и вегетативную массу, были высажены в условия закрытого грунта в супесчаную и легкосуглинистую почву, которая на протяжении вегетации сохраняла рыхлость, имела нейтральную или слабокислую реакцию и содержала не менее 2 % гумуса. Условия культивирования растений были следующие: белый свет, выровненный по падающим квантам ФАР, равным 450 ± 50 мкмоль/см²/с, температура – 24/18 °С с часовым фотопериодом 16/8 соответственно.

Молекулярно-генетический анализ. Геномную ДНК трансгенных растений картофеля поколения T₀, отобранных на селективной среде, и растений дикого типа выделяли с использованием набора реагентов Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Для анализа событий трансгенеза и направленного сайт-специфического мутагенеза применялись следующие методы: ПЦР-анализ и секвенирование по Сэнгеру. При этом использовались синтетические олигонуклеотиды, разработанные и апробированные *in silico* в программе SnapGene Viewer 6.0 и базе данных NCBI (табл. 2).

Таблица 2. Последовательность и температура отжига синтетических олигонуклеотидов, использованных для анализа событий трансгенеза и направленного сайт-специфического мутагенеза в трансгенных растениях картофеля поколения T₀

Table 2. The sequence and annealing temperature of synthetic oligonucleotides used for the analysis of transgenic and site-directed mutagenesis events in the transgenic potato plants of the T₀ generation

Синтетические олигонуклеотиды	Последовательность синтетических олигонуклеотидов, 5'→3'	Температура отжига, °С
U3-F	AGCTTAAGGAATCTTTAAACATACGAACAGAT	59
35-f	TCAACAAAGGGTAATATCCGAAACCTCCTCGGA	66
35-R	AGTCCCCCGTGTCTCTCCAAATGAAATGAAC	65
Tnos-F	CGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTT	59
Tnos-R	GCTATATTTGTTTTCTATCGCGTAT	54
SEQex1DMR6-1-F	TATTGTGAATAAATCTTCAATTCACAAATTAT	54
St-seq/guid1-DRM6/1-R	TATTAATCGAAAAATGATTATTAATTCATGAGT	54
St-seq/guide2-DRM6/1-F	TAAGTAGTACTACCTATTTTAAACCCACC	56
St-seq/guide2-DRM6/1-R	TTAACGAACATCGATGTTTTATTATTATCAT	54
SEQex2CHL1-F	CTTTCATATAAAGAATCAGATCCACATCTCAC	57
St-seq/guide2,3-CHL1-R	GGTACTAAATCTTGCAGAAATCTCATTCTCTC	59

Объем смеси для амплификации одного образца составлял 25 мкл, в смесь входили следующие реагенты: 100–200 нг ДНК, 2,5 мкл 10X Taq Turbo буфера (ЗАО «Евроген», Российская Федерация); 2,5 мкл 0,4 мМ смеси нуклеотидов (dNTP) (ООО «Артбиотех», Республика Беларусь); 2 мкл 25 мМ MgCl₂ (ОДО «Праймтех», Республика Беларусь); 2,5 мкл каждого из праймеров; 0,2 мкл 5 ед. Taq ДНК-полимеразы (ОДО «Праймтех»); 10,7 мкл H₂O. Амплификацию проводили в амплификаторе GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, США) с использованием следующей программы: денатурация – 94 °С – 4 мин; отжиг праймеров – 35 циклов: 94 °С – 30 с, 56 °С – 45 с, 72 °С – 1 мин; ренатурация – 72 °С – 7 мин, 4 °С – ∞ мин (в зависимости от нуклеотидной последовательности и размера амплифицируемого фрагмента температура отжига олигонуклеотидов и время элонгации варьируют). Синтетические олигонуклеотиды SEQex1DMR6-1-F, St-seq/guid1-DRM6/1-R, St-seq/guide2-DRM6/1-F, St-seq/guide2-DRM6/1-R, SEQex2CHL1-F, St-seq/guide2,3-CHL1-R использовались для амплификации протоспейсерных областей в генах мишенях перед секвенированием. Продукт реакции разделяли в 1%-ом агарозном геле с бромистым этидием в электрическом поле с помощью камеры для горизонтального электрофореза Sub-Cell GT (Bio-Rad, США). Фрагмент после электрофореза визуализировали с помощью системы Gel Doc 2000 (Bio-Rad). После этого необходимые для дальнейшей работы продукты амплификации выделяли из 1%-го агарозного геля с помощью набора реагентов Gene Jet™ Gel Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific) по методике изготовителя. С выделенным из геля продуктом ставили секвенирующую ПЦР с наборами реагентов BrilliantDye™ Terminator Cycle

Sequencing Kit v.3.1 (NimaGen, Нідерланды) і AMGene Dye v3.1 (Рэспубліка Беларусь) і сінтэтычнымі олигонуклеотидамі, прадставленымі ў табл. 2, на генетычным аналізатаре Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems). Аналіз атрычаных нуклеотыдных паслядоўнасцей выконваўся з дапамогай праграмы SnapGene Viewer 6.0, базы даных NCBI і онлайн-інструментаў аналізу даных ICE CRISPR Analysis Tool v3.0 і TIDE.

Результаты і іх абсуджэнне. Большасць патогенаў для падаўлення ці обхода імунітэта раслін і для ўстаноўлення сумеснага ўзаемадзеяння з хазіяном у працэсе эвалюцыі прыобрэлі прыпасаванне, пазваляючае патогену ствараць пінатэльныя структуры, такія як гаусторыі, ўнутры клеткі хазіяна для палучэння пінатэльных рэчываў [6]. Усе гены раслін, спосабствуючыя інфіцаванню і падтрыманню сумеснасці патогена з хазіяном, на сённяшні дзень, як правіла, вызначаюцца як гены воспрімчывасці (S). Мутацыі ў S-генах могуць вызываць устойлівасць к патогенам у раслін із-за адсутнасці сістэмы прыпасавання сумеснага ўзаемадзеяння «хазіян-патоген», так як парушаюцца механізмы прэ-пронікнення (распазнаванне хазіяна і пранікненне) ці спецыфічныя механізмы пост-пронікнення (палучэнне пінатэльных рэчываў). Іспальзование S-генаў ў якасці альтэрнатывы можа забяспечыць адносна шырокі спектр устойлівасці у раслін, вызываючы доўгую і канстытутыўную заахату. Была паказана, што к такім генам адносяцца гены картофеля *CHLI* і *DMR6-1* і для палучэння раслін з мутацыямі ў генах воспрімчывасці можа быць іспальзована тэхналогія геномнага рэдактавання на аснове сістэмы CRISPR/Cas9. Ген *CHLI* кодоруе брасіностероід-чувствітэльны фактар транскрыпцыі хазіяна CIB1/HBI1-like 1, ад якога залежыць узровень экспрэсіі бэлкаў сямейства BSL (BR11-SUPPRESSOR1-like). BSL-бэлки явяюцца фактарамі воспрімчывасці раслін к заражэнню фітафторозам і, следаватэльна, пры экспрэсіі ў геноме *S. tuberosum* гена *CHLI* усаіліваецца калонізацыя *P. infestans* і парушаецца працэс нармальнага апоптоза, пазваляючы фітафтору неагранаанна размнажацца, што прыводыць к заражэнню і гібелі раслін [7, 8]. Ген *DMR6-1* такжэ класіфіцуецца як ген воспрімчывасці (S), які важны для ўспешнага заражэння патогенам. Потэра функцыі гена *DMR6-1* забяспечывае шырокі спектр устойлівасці к бэлезням у тамааў і павышэнную ўстойлівасць к *P. infestans* у картофеля. Ген *DMR6-1 S. tuberosum* кодоруе 2-оксоглутарат (2OG) і Fe(II)-завісамую аксігеназу, якая абладает актывнасцю 5-гідроксилазы саліцылавой кіслаты (SA) і, такім абразам, сніжае актывны пул SA [9]. Пры нокауте даных генаў раслін прыобрэталі ўстойлівасць к фітафторозу бэз якіх-ліба фенатыпічэскіх змяненняў [10–12]. Для стабільнай інтэграцыі сістэмы CRISPR/Cas9 ў раслінны геном мы іспальзовалі *Agrobacterium*-апасрадаваную трансфармацыю ліставых дыскаў і частэй сцябла 3–4-недэльных раслін картофеля, вырашаных ў асептычэскіх ўмовах. Даным мэтадам было палучана 288 первічных трансфармантаў T₀ пакалення сортаў картофеля бэларускай сэлэкцыі Пэршацвэт, Красавік, Юлія (табл. 3).

Табліца 3. Частота *Agrobacterium*-апасрадаванай трансфармацыі ліставых дыскаў і частэй сцябла картофеля сортаў бэларускай сэлэкцыі

Table 3. Frequency of the *Agrobacterium*-mediated transformation of the potato leaf discs and stem parts of Belarusian breeding varieties

Сорт	Кол-во эксплантов, шт.	Кол-во регенерантов/трансформантов, шт.	Частота регенерации, %	Частота трансформации, %
Пэршацвэт	408	200/114	49,02	27,94
Красавік	358	134/63	37,43	17,60
Юлія	439	243/111	55,35	25,28

Как видно из данных, прадставленых ў табл. 3, частота рэгенерации і трансфармацыі варыравала ў залежнасці ад сорта і складала 37,43–55,35 і 17,60–27,94 % адпаведна. Максімальнымі паказатэлямі абладал сорт Пэршацвэт: частота рэгенерации – 49,02 %, частота трансфармацыі – 27,94 %.

Молекулярна-генетычэскі аналіз первічных трансфармантаў картофеля T₀ пакалення выявіў прысутствіе ў іх геноме інсерцыі экспрэсійнага кассэты із бінарнага вектара *pRGEB31*, саадржаючай *OsU3*-праматар для малых РНК, спейсерную паслядоўнасць, RNA scaffold, тэрмінатар транскрыпцыі для РНК-полімеразаы ІІІ, CaMV 35S-праматар і нопаілінасінтазны тэрмінатар (*T-nos*) (рыс. 1).

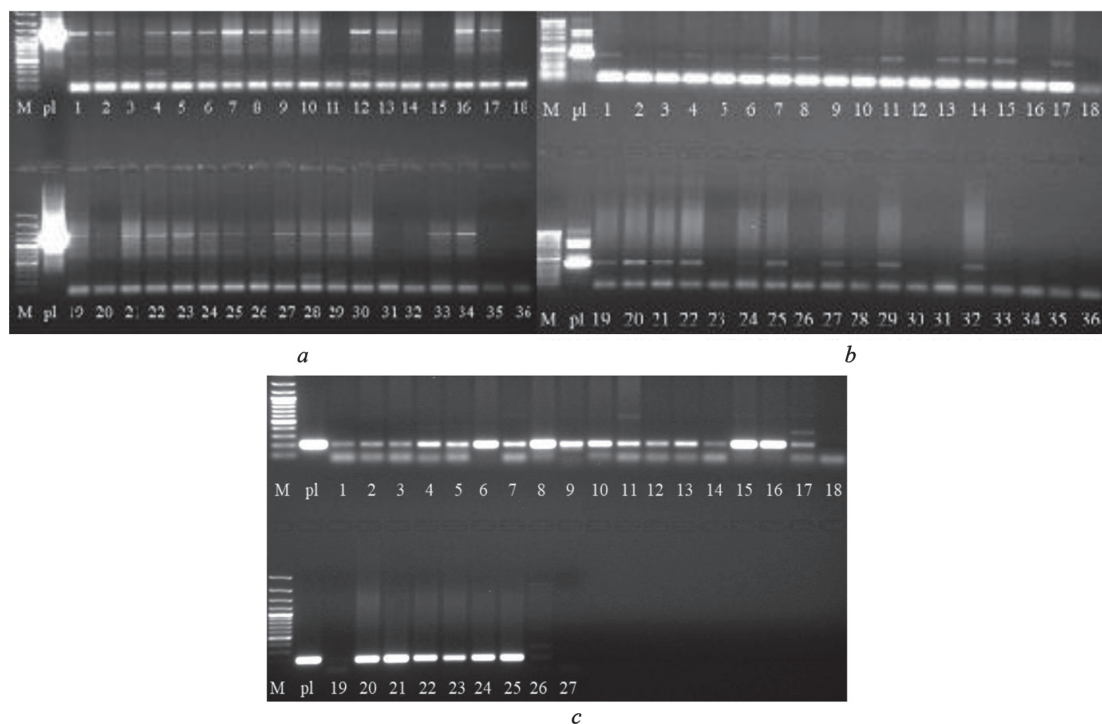


Рис. 1. *a*) электрофореграмма ПЦР-продукта (1 398 п. н.) геномной ДНК трансгенных растений картофеля T_0 поколения с праймерами U3-F и 35-R: М – маркер молекулярного веса Gene Ruler 100 bpPlus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), pl – положительный контроль (ДНК плазмиды *pRGEB31*), 1–34 – ДНК первичных трансформантов картофеля, 35 – ДНК растения картофеля дикого типа, 36 – отрицательный контроль; *b*) электрофореграмма ПЦР-продукта (346 п. н.) геномной ДНК трансгенных растений картофеля T_0 поколения с праймерами 35-f и 35-R: М – маркер молекулярного веса DNA Ladder MP 100 bp (ОДО «Праймтех»), pl – положительный контроль (ДНК плазмиды *pRGEB31*), 1–17, 19–33 – ДНК первичных трансформантов картофеля, 34, 35 – ДНК растений картофеля дикого типа, 36 – отрицательный контроль; *c*) электрофореграмма ПЦР-продукта (203 п. н.) геномной ДНК трансгенных растений картофеля T_0 поколения с праймерами Tnos-F и Tnos-R: М – маркер молекулярного веса Gene Ruler 100 bpPlus DNA Ladder, pl – положительный контроль (ДНК плазмиды *pRGEB31*), 1–17, 19–26 – ДНК первичных трансформантов картофеля, 18 – ДНК растения картофеля дикого типа, 27 – отрицательный контроль

Fig. 1. *a*) electropherogram of the PCR product (1,398 bp) of the genomic DNA of the transgenic potato plants of the T_0 generation with U3-F and 35-R primers: M – the molecular weight marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific), pl – positive control (*pRGEB31* plasmid DNA), 1–34 – DNA of primary potato transformants, 35 – DNA of the wild-type potato plant, 36 – negative control; *b*) electropherogram of the PCR product (346 bp) of the genomic DNA of the transgenic potato plants of the T_0 generation with 35-f and 35-R primers: M – the molecular weight marker (100 bp DNA Ladder, Primetech, Belarus), pl – positive control (*pRGEB31* plasmid DNA), 1–17 and 19–33 – DNA of primary potato transformants, 34, 35 – DNA of wild-type potato plants, 36 – negative control; *c*) electropherogram of the PCR product (203 bp) of the genomic DNA of the transgenic potato plants of the T_0 generation with Tnos-F and Tnos-R primers: M – the molecular weight marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific), pl – positive control (*pRGEB31* plasmid DNA), 1–17 and 19–26 – DNA of primary potato transformants, 18 – DNA of wild-type potato plants, 27 – negative control

Из данных, представленных на электрофореграммах (рис. 1), видно, что 83 % первичных трансформантов картофеля являются трансгенными и несут вставку экспрессионной кассеты с регуляторными элементами и элементами системы CRISPR/Cas9, а остальные 17 % не имеют инсерции Т-ДНК, что может быть связано как с устойчивостью к антибиотику в культуре *in vitro* картофеля за счет самоклональной изменчивости, так и с процессом трансгенеза [13, 14].

Для эффективного и точного редактирования генома требуется быстрый, качественно-количественный и недорогой анализ оценки нокаутных генотипов. Результаты эксперимента по редактированию с помощью системы CRISPR/Cas9 непредсказуемы и приводят к образованию гетерогенной популяции клеток, и не сразу понятно, произошло редактирование или нет и следует ли продолжать эксперимент. Для этого разработаны различные методы для идентификации нока-

утных последовательностей целевых локусов. Одним из таких методов является анализ секвеннограмм на наличие соматических мутационных событий в растительном геноме, индуцированных системами CRISPR/Cas, с помощью онлайн-инструментов ICE CRISPR Analysis Tool и TIDE. Алгоритмы ICE CRISPR Analysis Tool и TIDE являются точными, воспроизводимыми и надежными, их можно использовать для точного определения спектра и частоты целевых мутаций, генерируемых в пуле клеток с помощью инструментов редактирования генома, таких как CRISPR/Cas9, TALEN и ZFN. Кроме этого, онлайн-инструменты позволяют обнаруживать мутационные события без ограничения их размера, индуцированные различными системами CRISPR/Cas с одной или несколькими направляющими РНК, точно определять положение вставленных и удаленных оснований в ДНК как из клонированных, так и из объемных популяций клеток и проводить анализ в экспериментах, потенциально использующих любую конфигурацию последовательностей донорской ДНК, систем CRISPR/Cas и эндогенных путей репарации ДНК [15–17].

События направленного мутагенеза в геноме сортов картофеля белорусской селекции Красавик, Першацвет, Юлия, индуцированные системой CRISPR/Cas9, изучались в функционально значимых областях гена *StDMR6-1* в положениях 11–357 п. о. 1-го экзона и 6 023–6 403 п. о. 4-го экзона и гена *StCHL1* в положении 1 081–1 627 п. о. 4-го экзона. Оценка мутаций инсерционно-делеционного типа в гетерогенных популяциях клеток была выполнена на случайной выборке, состоящей из 161 трансгенного растения картофеля T₀ поколения, с помощью онлайн-инструментов, описанных выше.

Анализ спектра мутационных событий пула нуклеотидных последовательностей ДНК трансгенных растений *S. tuberosum* сортов Першацвет и Юлия в функционально значимых областях гена *StDMR6-1* с помощью онлайн-инструмента анализа данных ICE CRISPR Analysis Tool показал частоту мутации инсерционно-делеционного типа 66 и 85 % соответственно (рис. 2).

Из данных, представленных на рис. 2, а, видно, что в геноме картофеля сорта Першацвет 1 % нокаутных изменений – это инсерция 10 п. о., остальные 65 % имеют делеционный характер от 1 до 30 п. о. (из них 49 % приходится на делецию в 1 п. о.). Анализ мутационных событий в геноме картофеля сорта Юлия выявил, что 77 % являются инсерцией в 1 п. о., а оставшиеся 8 % – делецией от 8 до 28 п. о. (рис. 2, б). При этом видно, что частота мутации инсерционно-делеционного типа для сорта Першацвет составляет 66 % от общего числа проанализированных геномов при $R^2 = 0,71$, для сорта Юлия – 85 % от общего числа проанализированных геномов при $R^2 = 0,85$. При этом 64 % (сорт Першацвет) и 85 % (сорт Юлия) мутаций приводят к сдвигу рамки считывания в последовательности гена и, как следствие, образованию стоп-кодонов, что влечет за собой изменение функциональной активности гена-мишени.

При использовании веб-инструмента TIDE для анализа секвеннограмм была показана аналогичная картина результатов анализа данных для гена *StDMR6-1*, как и при использовании онлайн-инструмента ICE CRISPR Analysis Tool (рис. 3).



Рис. 2. Анализ присутствия мутационных событий в гене *StDMR6-1*, индуцированных системой CRISPR/Cas9, в геномах трансгенных растений *S. tuberosum* сортов белорусской селекции Першацвет (а) и Юлия (б) с помощью онлайн-инструмента анализа данных ICE CRISPR Analysis Tool

Fig. 2. Analysis of the presence of mutational events in the *StDMR6-1* gene induced by CRISPR/Cas9 system in the genomes of the transgenic *S. tuberosum* plants of the Belarusian breeding varieties Pershatsvet (a) and Yuliya (b) using the ICE CRISPR Analysis Tool for online data analysis

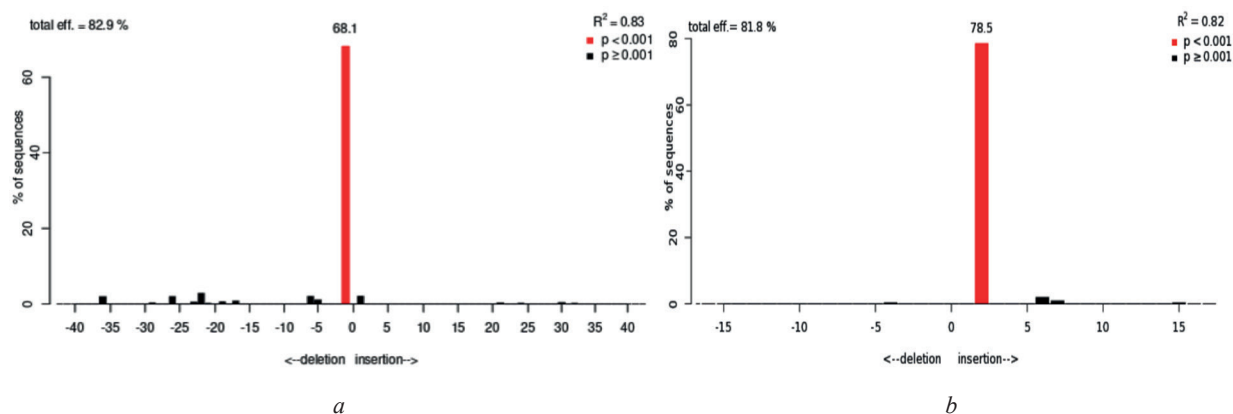


Рис. 3. Анализ присутствия мутационных событий в гене *StDMR6-1*, индуцированных системой CRISPR/Cas9, в геномах трансгенных растений *S. tuberosum* сортов белорусской селекции Першацвет (а) и Юлия (б) с помощью онлайн-инструмента анализа данных TIDE

Fig. 3. Analysis of the presence of mutational events in the *StDMR6-1* gene induced by CRISPR/Cas9 system in the genomes of the transgenic *S. tuberosum* plants of the Belarusian breeding varieties Pershatsvet (a) and Yuliya (b) using the online data analysis tool TIDE

Как видно из данных, отображенных на рис. 3, в ампликонах гена-мишени *StDMR6-1* сорта Першацвет в положении 11–357 п. о. 1-го экзона наиболее распространенной мутацией являлась делеция –1 позиции (68,1 %), остальные 14,8 % также приходились в основном на делеции при $p \geq 0,001$. В геноме сорта Юлия в положении 132–154 п. о. 1-го экзона мутацией с наибольшей частотой встречаемости была инсерция в положении +1 с частотой 78,5 % при $p < 0,001$, а остальные 3,3 % также являлись инсерцией в 6–7 п. о. при $p \geq 0,001$. При этом из анализируемых данных видно, что общая эффективность для сорта Першацвет составляла 82,9 % при $R^2 = 0,83$, для сорта Юлия – 81,8 % при $R^2 = 0,82$ от общего числа проанализированных геномов. Выявленные мутационные события в геномах трансформантов T_0 поколения картофеля сортов Першацвет и Юлия являются причиной изменения транскрипции гена-мишени за счет сдвига рамки считывания, приводящей к образованию стоп-кодонов.

Следовательно, подобно общему проценту мутационных событий, сравнение результатов анализа данных секвеннограмм, полученных с помощью веб-инструментов ICE CRISPR Analysis Tool и TIDE, показало близкое совпадение по частоте мутаций, а именно, вариация для сорта Першацвет составила 2,1 %, вариация для сорта Юлия – 6,5%. При этом разница в общей эффективности нокаутов при использовании всех веб-инструментов для сорта Першацвет не превысила 16,9 %, а для сорта Юлия – 3,2 %.

В результате использования алгоритмов веб-инструментов ICE CRISPR Analysis Tool и TIDE для анализа секвеннограмм методом разложения было выявлено, что из 161 трансформанта картофеля сортов белорусской селекции Першацвет, Красавик, Юлия T_0 поколения 84 имели мутантные последовательности в генах мишенях *StCHL1* и *StDMR6-1*. Так, среди образцов сорта Першацвет события генетического редактирования выявлены у 45 образцов. Из них 8 образцов несли мутации в генах *StCHL1* и *StDMR6-1* одновременно, 36 – в гене *StDMR6-1*, 1 – в гене *StCHL1*. Среди образцов, созданных на основе сорта Юлия, в 4 выявлены мутации в генах *StCHL1* и *StDMR6-1* одновременно, в 29 – в гене *StDMR6-1*, в 3 – в гене *StCHL1*. Для сорта Красавик удалось получить 3 генетически отредактированных растения: 2 – с мутациями в генах *StCHL1* и *StDMR6-1* одновременно и 1 – с отредактированным геном *StCHL1*. При этом эффективность мутагенеза в генах-мишенях, рассчитанная от общего числа проанализированных геномов, составила 52,17 % с частотой встречаемости индуцированных белком Cas9 мутационных событий от 1 до 99,2 %. Средняя эффективность инделирования в отдельных генотипах сортов картофеля белорусской селекции Першацвет, Красавик, Юлия равнялась 70,84 %. В геноме сорта Красавик индуцировать мутации (делеции размером 25–38 п. о.) посредством эндонуклеазы Cas9 удалось с частотой, не превышающей 5 %, при $R^2 = 0,92$ (рис. 4–6).

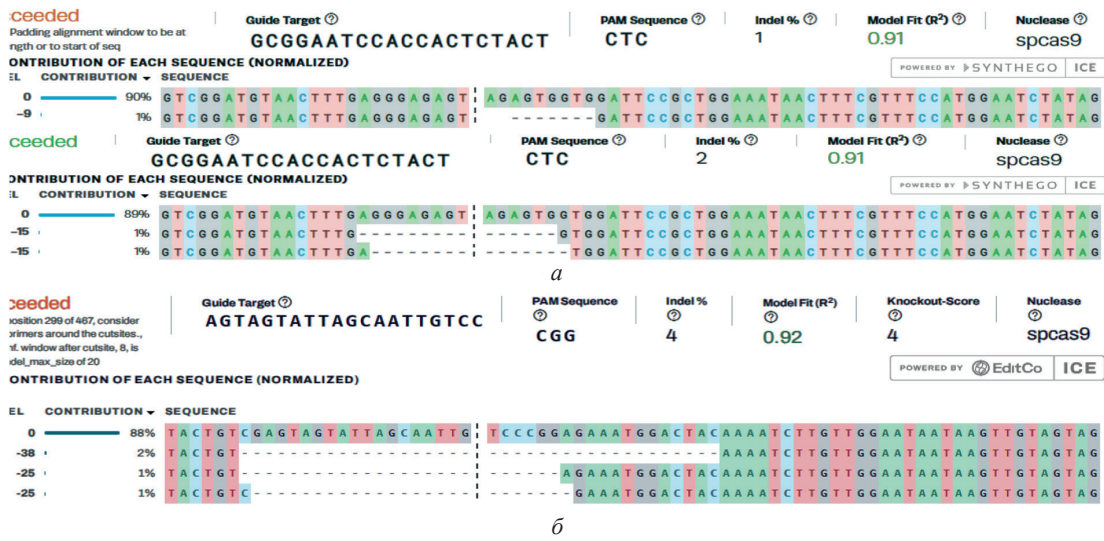


Рис. 4. Анализ присутствия мутационных событий в гене *StDMR6-1*, индуцированных системой CRISPR/Cas9, в геноме трансгенных растений *S. tuberosum* сортов белорусской селекции Першацвет (а), Красавик (б) с помощью онлайн-инструмента анализа данных ICE CRISPR Analysis Tool
 Fig. 4. Analysis of the presence of mutational events in the *StDMR6-1* gene induced by CRISPR/Cas9 system in the genome of the transgenic *S. tuberosum* plants of the Belarusian breeding varieties Pershatsvet (a) and Krasavik (b) using the ICE CRISPR Analysis Tool for online data analysis

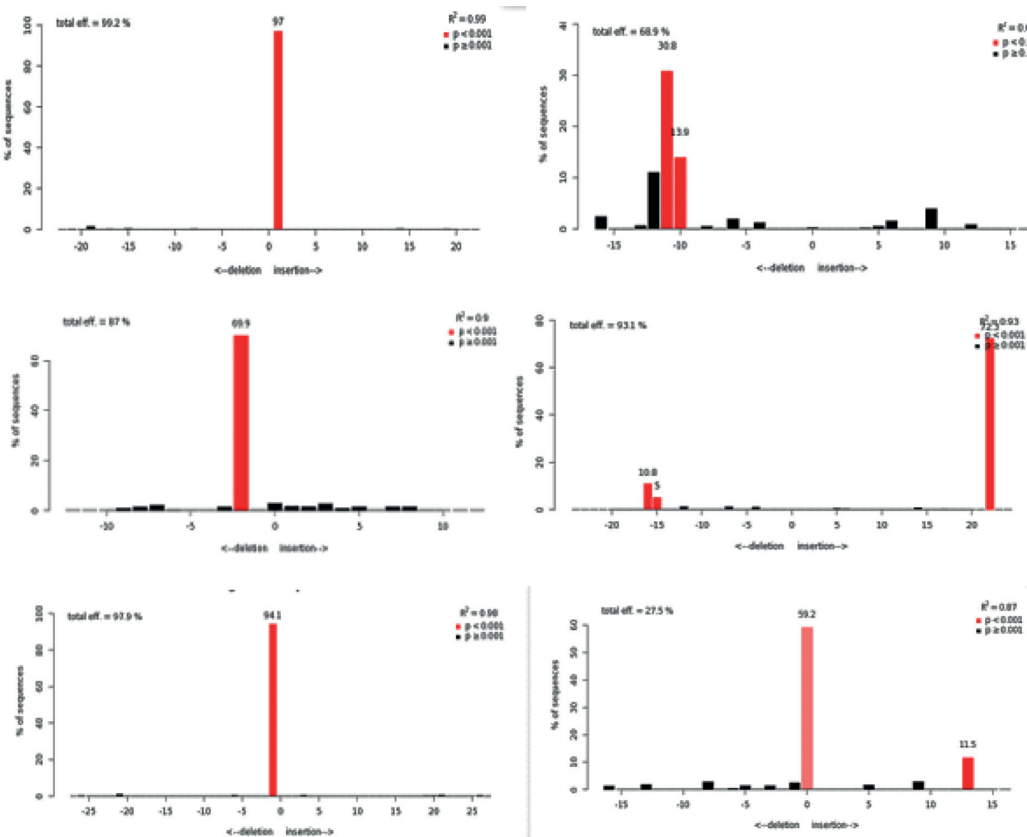


Рис. 5. Анализ присутствия мутационных событий с различной частотой в генах *StCHL1* и *StDMR6-1*, индуцированных системой CRISPR/Cas9, в геномах трансгенных растений *S. tuberosum* сорта белорусской селекции Юлия с помощью онлайн-инструмента анализа данных TIDE
 Fig. 5. Analysis of the presence of mutational events with varying frequency in the *StCHL1* and *StDMR6-1* genes induced by CRISPR/Cas9 system in the genomes of the transgenic *S. tuberosum* plants of the Belarusian breeding variety Yuliya using the online data analysis tool TIDE

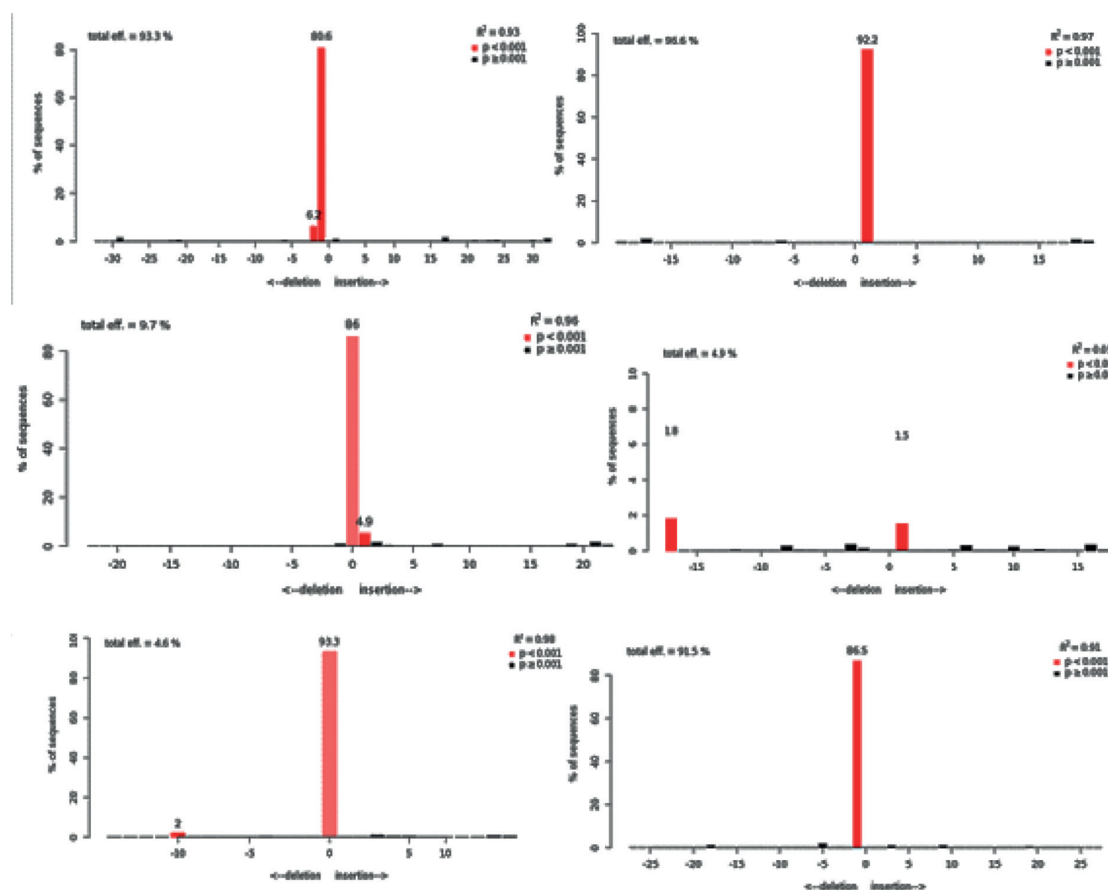


Рис. 6. Анализ присутствия мутационных событий различной частоты в генах *StCHL1* и *StDMR6-1*, индуцированных системой CRISPR/Cas9, в разных протоспейсерах в геномах трансгенных растений *S. tuberosum* сорта белорусской селекции Першацвет с помощью онлайн-инструмента анализа данных TIDE

Fig. 6. Analysis of the presence of mutational events with varying frequency in the *StCHL1* and *StDMR6-1* genes induced using CRISPR/Cas9 system in various protospacers in the genomes of the transgenic *S. tuberosum* plants of the Belarusian breeding variety Pershatsvet using the online data analysis tool TIDE

У остальной части трансформантов не было обнаружено мутированных последовательностей в целевых генах, что может быть связано как с процессами репарации внесенных разрывов эндонуклеазой Cas9 в нити ДНК, так и с нарушением функциональной активности системы CRISPR/Cas9 в геноме этих растений [18, 19]. Также на эффективность может влиять не только уровень нарабатываемого продукта в клетке (в нашем случае белка Cas9 и гидРНК), но и способ доставки и место встраивания элементов системы CRISPR/Cas9 в реципиентном геноме [20–22].

На основе отдельных фаз процессов взаимодействия хозяина и патогена выделяют три основных механизма, посредством которых S-гены способствуют восприимчивости и развитию инфекции: базовая совместимость, облегчающая распознавание хозяина и проникновение, механизм негативной регуляции иммунной сигнализации и механизм, обеспечивающий устойчивую совместимость, удовлетворяющую метаболические или структурные потребности, способствующие пролиферации патогена. Все это указывает на то, что растение содержит компоненты, которые используются нитчатыми патогенами в качестве важных сигналов развития патогенности, а растительные гены, участвующие в синтезе таких соединений, способствуют восприимчивости и могут рассматриваться как S-гены [23, 24]. В работе в качестве генов восприимчивости нами были выбраны гены картофеля *StCHL1* и *StDMR6-1*, при нокауте которых растение приобретает конститутивную неспецифическую устойчивость к патогенам. При этом понимание результатов редактирования, которые вызывает направленный сайт-специфический мутагенез, имеет решающее значение, особенно при индуцировании мутационных событий инсерционно-делеционного типа посредством негомологичного соединения концов (NHEJ), направленных

на разрушение функции гена. Для анализа результатов редактирования реципиентного генома картофеля, а именно выбранных нами в качестве мишеней генов *CHLI* и *DMR6-1*, мы использовали 2 широко распространенных метода (TIDE, ICE CRISPR Analysis Tool), и при сравнительном анализе данных было показано, что размер и точность инделирования, выявленного веб-инструментом TIDE, коррелируют с инделированием, полученным Synthego, при $R^2 = 0,69$ и выше. Из данных, представленных на рис. 4–6, видно, что нокаут различных функционально значимых кодирующих последовательностей генов *StCHLI* и *StDMR6-1* удалось индуцировать с различной частотой мутаций инсерционно-делеционного типа от 1 до 99,2 %, при этом основным типом мутации являлись как инсерции в 1 п. о., так и делеции в 1 п. о. Эффективность направленного мутагенеза генома картофеля, а именно генов-мишеней *StCHLI* и *StDMR6-1*, составляла 52,17 %.

Заключение. В результате *Agrobacterium*-опосредованной трансформации сортов картофеля белорусской селекции Юлия, Першацвет, Красавик векторными генетическими конструкциями, несущими в своем составе систему CRISPR/Cas9 для нокаута различных функционально значимых кодирующих последовательностей генов *StCHLI* и *StDMR6-1*, было получено 288 трансгенных растений T_0 поколения. Из 288 трансгенных растений картофеля T_0 поколения 161 растение было проанализировано на наличие мутационных событий инсерционно-делеционного типа, индуцированных системой CRISPR/Cas9, с использованием данных, полученных методом секвенирования по Сэнгеру. При этом из 161 трансформанта T_0 поколения 84 имели мутантные последовательности генов *StCHLI* и *StDMR6-1* с частотой встречаемости мутаций от 1 до 97 % при $p < 0,001$ и 99,2 % при $p \geq 0,001$ в зависимости от сорта.

Таким образом, с помощью системы CRISPR/Cas9 впервые в Республике Беларусь получены генетически отредактированные растения картофеля сортов белорусской селекции Юлия, Першацвет, Красавик, несущие мутации в генах *StCHLI* и *StDMR6-1*, приводящие к сдвигу рамки считывания и, как следствие, к нокауту генов. Данные растения в дальнейшем планируется оценить на устойчивость к фитофторе.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках отдельного проекта фундаментальных и прикладных исследований НАН Беларуси «Создать растения картофеля, несущие генетически отредактированные с помощью системы CRISPR/Cas9 гены регуляторы защитных реакций *StDMR6-1* и *StCHLI*, для повышения устойчивости к фитофторозу» и при поддержке гранта БРФФИ № B23-062.

Acknowledgments. The work was carried out within the framework of a separate project of fundamental and applied research of the National Academy of Sciences of Belarus “To create potato plants carrying genetically edited using the CRISPR/Cas9 system genes regulating defense reactions, *StDMR6-1* and *StCHLI*, to increase resistance to late blight” and with the support of the BRFFR grant No. B23-062.

Список использованных источников

1. Potato. Nutrition and Food Security / P. Raigond, B. Singh, S. Dutt, S. K. Chakrabarti – Singapore: Springer, 2020. – 287 p.
2. The Potato of the Future: Opportunities and Challenges in Sustainable Agri-food Systems / A. Devaux, J.-P. Goffart, P. Kromann [et al.] // Potato Research. – 2021. – Vol. 64, N 4. – P. 681–720. <https://doi.org/10.1007/s11540-021-09501-4>
3. Fry, W. *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer / W. Fry // Molecular Plant Pathology. – 2008. – Vol. 9, N 3. – P. 385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>
4. Silencing of six susceptibility genes results in potato late blight resistance / K. Sun, A.-M. A. Wolters, J. H. Vossen [et al.] // Transgenic Research. – 2016. – Vol. 25, N 5. – P. 731–742. <https://doi.org/10.1007/s11248-016-9964-2>
5. Шишлова-Соколовская, А. М. Создание векторных конструкций, несущих CRISPR/Cas9 систему, для направленного мутагенеза генов *CHLI* и *DMR6-1 Solanum tuberosum* / А. М. Шишлова-Соколовская, О. Ю. Урбанович // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси; редкол.: А. В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Мн., 2025. – Т. 38. – С. 24–35.
6. Jones, J. D. G. The plant immune system / J. D. G. Jones, J. L. Dangl // Nature. – 2006. – Vol. 444, N 7117. – P. 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
7. AVR2 Targets BSL Family Members, Which Act as Susceptibility Factors to Suppress Host Immunity / D. Turnbull, H. Wang, S. Breen [et al.] // Plant Physiology. – 2019. – Vol. 180, N 1. – P. 571–581. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01143>
8. RXLR Effector AVR2 Up-Regulates a Brassinosteroid-Responsive bHLH Transcription Factor to Suppress Immunity / D. Turnbull, L. Yang, S. Naqvi [et al.] // Plant Physiology. – 2017. – Vol. 174, N 1. – P. 356–369. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01804>

9. Vlot, A. C. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease / A. C. Vlot, D. A. Dempsey, D. F. Klessig // *Annual Review of Phytopathology*. – 2009. – Vol. 47. – P. 177–206. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
10. Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes / N. P. Kieu, M. Lenman, E. S. Wang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11, N 1. – Art. 4487. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83972-w>
11. CRISPR/Cas9 genome editing of potato *StDMR6-1* results in plants less affected by different stress conditions / M. Karlsson, N. P. Kieu, M. Lenman [et al.] // *Horticulture Research*. – 2024. – Vol. 11, N 7. – Art. uhae130. <https://doi.org/10.1093/hr/uhae130>
12. CRISPR/Cas9 editing of *Downy mildew resistant 6 (DMR6-1)* in grapevine leads to reduced susceptibility to *Plasmopara viticola* / S. Djennane, S. Gersch, F. Le-Bohec [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. – 2024. – Vol. 75, N 7. – P. 2100–2112. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad487>
13. Маренкова, Т. В. Мозаичный характер экспрессии трансгенов у растений / Т. В. Маренкова, Д. Б. Логинова, Е. В. Дейнеко // *Генетика*. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 293–306.
14. Маренкова, Т. В. Особенности экспрессии чужеродных генов в сложноорганизованных инсерциях у трансгенных растений табака с мозаичным характером проявления гена *nrpII* / Т. В. Маренкова, В. В. Кузнецов, Е. В. Дейнеко // *Генетика*. – 2021. – Т. 57, № 3. – С. 321–331.
15. Inference of CRISPR Edits from Sanger Trace Data / D. Conant, T. Hsiau, N. Rossi [et al.] // *The CRISPR Journal*. – 2022. – Vol. 5, N 1. – P. 123–130. <https://doi.org/10.1089/crispr.2021.0113>
16. Easy quantitative assessment of genome editing by sequence trace decomposition / E. K. Brinkman, T. Chen, M. Amendola, B. Steensel // *Nucleic Acids Research*. – 2014. – Vol. 42, N 22. – P. e168. <https://doi.org/10.1093/nar/gku936>
17. Brinkman, E. K. Rapid Quantitative Evaluation of CRISPR Genome Editing by TIDE and TIDER / E. K. Brinkman, B. van Steensel // *CRISPR Gene Editing*. – 2019. – Vol. 1961. – P. 29–44. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9170-9_3
18. A Robust CRISPR/Cas9 System for Convenient, High-Efficiency Multiplex Genome Editing in Monocot and Dicot Plants / X. Ma, Q. Zhang, Q. Zhu [et al.] // *Molecular Plant*. – 2015. – Vol. 8, N 8. – P. 1274–1284. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.04.007>
19. Mikami, M. Parameters affecting frequency of CRISPR/Cas9 mediated targeted mutagenesis in rice / M. Mikami, S. Toki, M. Endo // *Plant Cell Reports*. – 2015. – Vol. 34, N 10. – P. 1807–1815. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1826-5>
20. Xie, K. RNA-Guided Genome Editing in Plants Using a CRISPR–Cas System / K. Xie, Y. Yang // *Molecular Plant*. – 2013. – Vol. 6, N 6. – P. 1975–1983. <https://doi.org/10.1093/mp/sst119>
21. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system / Z. Feng, B. Zhang, W. Ding [et al.] // *Cell Research*. – 2013. – Vol. 23, N 10. – P. 1229–1232. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.114>
22. Schöb, H. Silencing of transgenes introduced into leaves by agroinfiltration: a simple, rapid method for investigating sequence requirements for gene silencing / H. Schöb, C. Kunc, F. Meins // *Molecular and General Genetics MGG*. – 1997. – Vol. 256, N 5. – P. 581–585. <https://doi.org/10.1007/s004380050604>
23. Yi, M. Communication Between Filamentous Pathogens and Plants at the Biotrophic Interface / M. Yi, B. Valent // *Annual Review of Phytopathology*. – 2013. – Vol. 51. – P. 587–611. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172916>
24. Salicylic acid 3-hydroxylase regulates *Arabidopsis* leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism / K. Zhang, R. Halitschke, C. Yin [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – Vol. 110, N 36. – P. 14807–14812. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302702110>

References

1. Raigond P., Singh B., Dutt S., Chakrabarti S. K. *Potato. Nutrition and Food Security*. Singapore, Springer, 2020. 287 p.
2. Devaux A., Goffart J.-P., Kromann P., Andrade-Piedra J., Polar V., Hareau G. The Potato of the Future: Opportunities and Challenges in Sustainable Agri-food. *Potato Research*, 2021, vol. 64, no. 4, pp. 681–720. <https://doi.org/10.1007/s11540-021-09501-4>
3. Fry W. *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 2008, vol. 9, no. 3, pp. 385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>
4. Sun K., Wolters A.-M. A., Vossen J. H., Rouwet M. E., Looen A. E. H. M., Jacobsen E. Visser R. G. F., Bai Y. Silencing of six susceptibility genes results in potato late blight resistance. *Transgenic Research*, 2016, vol. 25, no. 5, pp. 731–742. <https://doi.org/10.1007/s11248-016-9964-2>
5. Shishlova-Sokolovskaya A. M., Urbanovich O. Yu. Designing vector constructs carrying CRISPR/Cas9 for the directed mutagenesis of the *Solanum tuberosum* *CHL1* and *DMR6-1* genes. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika: sbornik nauchnykh trudov* [Molecular and applied genetics: collection of scientific papers]. Minsk, 2025, vol. 38, pp. 24–35 (in Russian).
6. Jones J. D. G., Dangl J. L. The plant immune system. *Nature*, 2006, vol. 444, no. 7117, pp. 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
7. Turnbull D., Wang H., Breen S., Malec M., Naqvi S., Yang L., Welsh L., Hemsley P., Zhendong T., Brunner F., Gilroy E. M., Birch P. R. J. AVR2 Targets BSL Family Members, Which Act as Susceptibility Factors to Suppress Host Immunity. *Plant Physiology*, 2019, vol. 180, no. 1, pp. 571–581. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01143>
8. Turnbull D., Yang L., Naqvi S., Breen S., Welsh L., Stepchens J., Morris J., Boevink P. C., Hedley P. E., Zhan J., Birch P. R. J., Gilroy E. M. RXLR Effector AVR2 Up-Regulates a Brassinosteroid-Responsive bHLH Transcription Factor to Suppress Immunity. *Plant Physiology*, 2017, vol. 174, no. 1, pp. 356–369. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01804>

9. Vlot A. C., Dempsey D. A., Klessig D. F. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. *Annual Review of Phytopathology*, 2009, vol. 47, pp. 177–206. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
10. Kieu N. P., Lenman M., Wang E. S., Petersen B. L., Andreasson E. Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, no. 1, art. 4487. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83972-w>
11. Karlsson M., Kieu N. P., Lenman M., Marttila S., Resjo S., Zahid M. A., Andreasson E. CRISPR/Cas9 genome editing of potato *StDMR6-1* results in plants less affected by different stress conditions. *Horticulture Research*, 2024, vol. 11, no. 7, art. uhae130. <https://doi.org/10.1093/hr/uhae130>
12. Djennane S., Gersch S., Le-Bohec F., Piron M.-Ch., Baltenweck R., Lemaire O., Merdinoglu D., Hugueneu Ph., Nogue F., Mestre P. CRISPR/Cas9 editing of *Downy mildew resistant 6 (DMR6-1)* in grapevine leads to reduced susceptibility to *Plasmopara viticola*. *Journal of Experimental Botany*, 2024, vol. 75, no. 7, pp. 2100–2112. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad487>
13. Marenkova T. V., Loginova D. B., Deineko E. V. Mosaic patterns of transgene expression in plants. *Russian Journal of Genetics*, 2012, vol. 48, no. 3, pp. 249–260. <https://doi.org/10.1134/S1022795412030088>
14. Marenkova T. V., Kuznetsov V. V., Deineko E. V. Features of expression of foreign genes in complex insertions in transgenic tobacco plants with a mosaic pattern of nptII gene expression. *Russian Journal of Genetics*, 2021, vol. 57, no. 3, pp. 319–328. <https://doi.org/10.1134/S1022795421030108>
15. Conant D., Hsiao T., Rossi N., Oki J., Maures T., Waite K., Yang J., Joshi S., Kelso R., Holden K., Enzmann B. L., Stoner R. Inference of CRISPR Edits from Sanger Trace Data. *The CRISPR Journal*, 2022, vol. 5, no. 1, pp. 123–130. <https://doi.org/10.1089/crispr.2021.0113>
16. Brinkman E. K., Chen T., Amendola M., Steensel B. Easy quantitative assessment of genome editing by sequence trace decomposition. *Nucleic Acids Research*, 2014, vol. 42, no. 22, p. e168. <https://doi.org/10.1093/nar/gku936>
17. Brinkman E. K., van Steensel B. Rapid Quantitative Evaluation of CRISPR Genome Editing by TIDE and TIDER. *CRISPR Gene Editing*, 2019, vol. 1961, pp. 29–44. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9170-9_3
18. Ma X., Zhang Q., Zhu Q., Liu W., Chen Y., Qiu R., Wang B., Yang Z., Li H., Lin Y., Xie Y., Shen R., Chen S., Wang Z., Chen Y., Guo J., Chen L., Zhao X., Dong Z., Liu Y.-G. A Robust CRISPR/Cas9 System for Convenient, High-Efficiency Multiplex Genome Editing in Monocot and Dicot Plants. *Molecular Plant*, 2015, vol. 8, no. 8, pp. 1274–1284. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.04.007>
19. Mikami M., Toki S., Endo M. Parameters affecting frequency of CRISPR/Cas9 mediated targeted mutagenesis in rice. *Plant Cell Reports*, 2015, vol. 34, no. 10, pp. 1807–1815. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1826-5>
20. Xie K., Yang Y. RNA-Guided Genome Editing in Plants Using a CRISPR–Cas System. *Molecular Plant*, 2013, vol. 6, no. 6, pp. 1975–1983. <https://doi.org/10.1093/mp/sst119>
21. Feng Z., Zhang B., Ding W., Lio X., Yang D.-L., Wei P., Cao F., Zhu S., Zhang F., Mao Y., Zhu J.-K. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Research*, 2013, vol. 23, no. 10, pp. 1229–1232. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.114>
22. Schöb H., Kunc C., Meins F. Silencing of transgenes introduced into leaves by agroinfiltration: a simple, rapid method for investigating sequence requirements for gene silencing. *Molecular and General Genetics MGG*, 1997, vol. 256, no. 5, pp. 581–585. <https://doi.org/10.1007/s004380050604>
23. Yi M., Valent B. Communication Between Filamentous Pathogens and Plants at the Biotrophic Interface. *Annual Review of Phytopathology*, 2013, vol. 51, pp. 587–611. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172916>
24. Zhang K., Halitschke R., Yin C., Lio C.-J., Gan S. S. Salicylic acid 3-hydroxylase regulates *Arabidopsis* leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, vol. 110, no. 36, pp. 14807–14812. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302702110>

Информация об авторах

Шишлова-Соколовская Анастасия Михайловна – ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: s_anastasia78@mail.ru

Неборская Валерия Евгеньевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Tereshko@igc.by

Урбанович Оксана Юрьевна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: O.Urbanovich@igc.by

Information about the authors

Anastasia M. Shishlova-Sokolovskaya – Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s_anastasia78@mail.ru

Valeria E. Neborskaya – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Tereshko@igc.by

Oksana Yu. Urbanovich – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: O.Urbanovich@igc.b

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

UDC 582.89:615.322

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-116-124>

Received 04.03.2026

Yuxuan Peng¹, Aryna F. Bakhmetava², Marharyta A. Mysleika³, Vadim V. Demidchik²

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

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

³University of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF EXTRACTS FROM PLANTS OF THE RUBIACEAE FAMILY

Abstract. *Rubiaceae* species are widely distributed, mainly concentrated in tropical regions. They contain various alkaloids, flavonoids, and other active compounds that have significant therapeutic effects on many diseases. In this study a meta-analysis of the existing experimental data on the therapeutic effects of *Rubiaceae* was conducted using Cochrane, PubMed, Google Scholar, and Web of Science databases for report retrieval. The search contained “*Gardenia*”, “*Hedyotis*”, “*Morinda*”, “*Nauclea*”, and “*Paederia*” species of *Rubiaceae*, which were used in animal inflammation models. A total of 348 papers were analyzed, duplicate studies were removed, data reliability and adequate sample sizes were filtered. Proinflammatory cytokines (PCs), and the expression of inflammatory gene *NF-κB* were used to evaluate the inflammatory levels in two animal models, the *Rubiaceae*-treated (RT) and Inflammation Model (IM). Subgroup analysis was used to explore: 1) the anti-inflammatory effects of different genera; 2) the anti-inflammatory effects of different extracts. The results from meta-analysis show that *Rubiaceae* extracts exert significant anti-inflammatory effects in animal models, with the RT group exhibiting lower levels of PCs (IL-1β, IL-6, TNF-α) and *NF-κB* expression than the IM group ($p < 0.05$). Subgroup analysis found that *Gardenia*, *Hedyotis*, and *Morinda* all significantly reduced IL-1β and TNF-α levels, while only *Morinda* had a notable inhibitory effect on IL-6; aqueous, ethanol, and terpenoid extracts all showed significant anti-inflammatory activity. Substantial heterogeneity was observed, which subgroup and meta-regression analyses identified as being primarily due to intergeneric differences. Begg’s and Egger’s tests indicated the presence of publication bias across the included studies. Further *in vivo* and *in vitro* experiments are therefore required to verify the anti-inflammatory effects of various medicinal plants of the *Rubiaceae* family.

Keywords: *Rubiaceae*, anti-inflammatory, *Gardenia*, *Hedyotis*, *Morinda*, *Nauclea*, *Paederia*

For citation: Yuxuan Peng, Bakhmetava A. F., Mysleika M. A., Demidchik V. V. Anti-inflammatory properties of extracts from plants of the *Rubiaceae* family. *Vesti Natsyonal’noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 116–124 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-116-124>

Юйсюань Пэн¹, А. Ф. Бахметова², М. А. Мыслейка³, В. В. Демидчик²

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

³Университет Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА RUBIACEAE

Аннотация. Виды семейства Мареновые (*Rubiaceae*) широко распространены преимущественно в тропических регионах. Они содержат различные алкалоиды, флавоноиды и другие активные соединения, обладающие выраженным терапевтическим действием в отношении широкого спектра заболеваний. В данном исследовании был проведен мета-анализ экспериментальных данных о терапевтических эффектах представителей *Rubiaceae* на основе информации из баз данных Cochrane, PubMed, Google Scholar и Web of Science. Поиск включал виды родов *Gardenia*, *Hedyotis*, *Morinda*, *Nauclea* и *Paederia*. Всего было проанализировано 348 работ, удалены дублирующие исследования, проведена фильтрация достоверности данных и наличия адекватных размеров выборок. Показано, что оценка уровня воспаления в большинстве работ проводилась на двух группах животных (группе, обработанной препаратами *Rubiaceae*, и модельной группе) с использованием тестов на присутствие провоспалительных цитокинов и экспрессию воспалительного гена *NF-κB*. Внутригрупповой анализ был направлен на изучение: 1) противовоспалительного действия растений различных родов семейства Мареновые; 2) противовоспалительного действия различных экстрактов. Результаты метаанализа показали, что экстракты растений семейства *Rubiaceae* оказывают выраженное противовоспалительное действие на животных моделях: в группе, обработанной ими, наблюдались более низкие уровни провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6, TNF-α) и экспрессии *NF-κB* по сравнению с модельной

группой воспаления ($p < 0,05$). Внутригрупповой анализ выявил, что экстракты растений родов *Gardenia*, *Hedyotis* и *Morinda* достоверно снижали уровни IL-1 β и TNF- α , тогда как только растения рода *Morinda* оказывали выраженное ингибирующее действие по отношению к IL-6; водные, этанольные и терпеноидные экстракты демонстрировали значительную противовоспалительную активность. Установлено, что гетерогенность, обнаруженная в результате внутригруппового анализа и метарегрессии, в основном обусловлена межвидовыми различиями. Тесты Бегга и Эггера указали на наличие публикационной смещенности в отобранных исследованиях. Проведенное исследование показало, что необходимы дальнейшие эксперименты *in vivo* и *in vitro* для подтверждения противовоспалительного действия различных лекарственных растений семейства *Rubiaceae*.

Ключевые слова: *Rubiaceae*, противовоспалительное действие, *Gardenia*, *Hedyotis*, *Morinda*, *Nauclea*, *Paederia*

Для цитирования: Противовоспалительные свойства экстрактов растений семейства *Rubiaceae* / Юйсюань Пэн, А. Ф. Бахметова, М. А. Мыслейка, В. В. Демидчик // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 116–124. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-116-124>

Introduction. The *Rubiaceae* family belongs to *Angiospermae*, *Magnoliopsida*, and *Gentianales*. The *Rubiaceae* is widely distributed, mainly concentrated in tropical regions. The *Rubiaceae* is a large plant family, ranking fourth in species diversity among angiosperms. It includes approximately 637 genera and 13,500 species [1]. The plants from *Rubiaceae* family were often used as herbs because they include iridoids, indole alkaloids, anthraquinones, terpenoids, flavonoids, and other phenolic derivatives, as well as secondary metabolite alkaloids with rich biological activity. These organic compounds have important pharmacological effects and are used in research on the treatment of various diseases [1–3]. Among them, iridoids have been proven to have strong anti-inflammatory activity. Iridoids belong to the monoterpene components of terpenoids, with typical binary rings, ene bonds, and ether bonds, often connected to sugars to form cycloene ether terpenoid glycoside structures [4]. Iridoids are commonly found in *Rubiaceae* family, including *Hedyotis*, *Gardenia*, *Morinda*, *Paederia*, *Lasianthus*, and other genera [1, 4, 5]. There are various types of iridoid compounds with complex structures, including ordinary, cracked ring, dimer, and other types [1, 2]. It was found that the iridoids compound geniposide extracted from *Gardenia* can alleviate LPS induced cellular inflammatory damage by inhibiting the expression of the *NF- κ B* pathway [6]. It was used to treat skin inflammation, cardiovascular inflammation, enteritis, and improve non-alcoholic fatty liver disease by enhancing animal antioxidant ability [7–10]. Moreover, glycosides from *Paederia* have been found to inhibit the production of nitric oxide (NO) by inhibiting the *NF- κ B* pathway, reducing the expression of Proinflammatory Cytokines (PCs), and alleviating the cyto-inflammation caused by lipopolysaccharide (LPS) [11].

In this study, extracts from five very important genera of *Rubiaceae*, *Gardenia*, *Hedyotis*, *Morinda*, *Nauclea*, and *Paederia*, were included in the meta-analysis to explore the mechanisms of action of *Rubiaceae* compounds in treating different animal inflammatory diseases.

Materials and research methods. *Inclusion criteria.* The following inclusion criteria were applied: 1) research on evaluating inflammation in experimental animals; 2) research results published in English; 3) research results with clear animal numbers, mean values, and standard deviations. Previously, this approach has been used in studies investigating the effects of plant-derived medicines on hypoglycemia [12], silver nanoparticles on inflammatory diseases [13], and flavonoids as antidiabetic and anti-inflammatory agents [14].

Exclusion criteria. Typical criteria that were previously designed elsewhere [12–14] were used, including the following: 1) conference abstracts, comments, editorials, and letters; 2) treatment of human patients, *in vitro*, or other unrelated research; 3) researches without English full text; 4) studies that cannot obtain/extract data; 5) studies with sample size less than 5; 6) research without clear drug extraction methods; 7) studies that have been withdrawn.

Reports search. The following steps were carried out: 1) retrieving keywords in various databases, classifying and organizing qualified reports, and deleting duplicate reports; 2) analyzing the topic and abstract of the reports, and excluding reports that do not meet the research criteria according to the standards; 3) studying independently screened, extracted, and collected reports according to the inclusion and exclusion criteria mentioned above, while recording the number and reasons for the excluded reports.

Quality assessment. Review Manager 5.4 (Cochrane Collaboration, UK) was used to evaluate the quality of selected reports. The evaluation process includes: 1) random sequence generation (selection bias); 2) allocation concealment (selection bias); 3) blinding of participants and personnel (performance bias);

4) blinding of outcome assessment (detection bias); 5) incomplete outcome data (attrition bias); 6) selective reporting (reporting bias); 7) other bias.

Statistical analysis. Origin 2019b (OriginLab Corporation, USA) was used to extract data from bar charts in various reports (Mean and SD). Review Manager 5.4 and Stata SE 17 (StataCorp LLC, USA) were used for meta-analysis. A random-effects model was used during meta-analysis when $I^2 > 50\%$ (indicating high heterogeneity). Otherwise, a fixed-effects model was used. For subgroup analysis, each subgroup included at least 2 reports. Meta-regression with 95% CIs was performed for all subgroup analyses. Begg's and Egger's tests were applied to assess publication bias when the number of included reports was ≥ 10 .

Results. Reports screening and study characteristics. By searching for keywords *Gardenia* or *Hedyotis* or *Morinda* or *Nauclea* or *Paederia*, and “Inflammation” or “Inflammatory” in the title and abstract. By reading the title and abstract, 32 references were remained (Fig. 1). After full-text screening, 13 reports were excluded due to unclear extract ($n = 1$), insufficient evaluation indicators ($n = 7$), unclear number of animal samples ($n = 3$), lack of inflammation evaluation ($n = 1$), and incomplete animal individual samples ($n = 1$). (Fig. 1). Finally, 19 studies were selected that were suitable for this study and were organized according to the characteristics of the reports (Table 1).

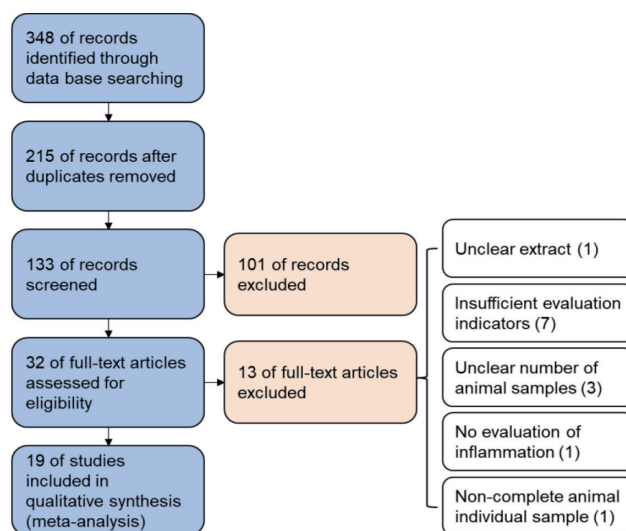


Fig. 1. Scheme of literature screening procedures for preliminary data analysis

Table 1. Basic characteristics of the included studies

Genera, Author, Year	Animal, <i>n</i> (RT/IM)	Inflammation model	Extracts	Outcomes	
				Proinflammatory cytokines	Genes/Proteins
<i>Gardenia</i> , Chen X.-Y. [et al.], 2022 [15]	R, 19/19	Dermatitis	Terpenoids	TNF- α , IL-1 β , IL-6	–
<i>Gardenia</i> , Cheng S. [et al.], 2019 [16]	M, 10/10	Cardiovascular inflammation	Terpenoids	TNF- α	MAPK
<i>Gardenia</i> , Cui Y. [et al.], 2019 [17]	R, 10/10	Enteritis	Aqueous extracts	TNF- α , IL-2	<i>NF-κB</i>
<i>Gardenia</i> , Deng R. [et al.], 2018 [6]	R, 12/12	Arthritis	Terpenoids	IL-1 β , IL-17	<i>NF-κB</i> , MAPK
<i>Gardenia</i> , Li H. [et al.], 2022 [18]	M, 5/5	Cardiovascular inflammation	Terpenoids	IL-1 β , IL-18	AMPK, ACC, NLRP3
<i>Gardenia</i> , Sun Q. [et al.], 2023 [19]	R, 30/30	Cardiovascular inflammation	Terpenoids	TNF- α , IL-6, IL-1 β	<i>NF-κB</i> , iNOS
<i>Hedyotis</i> , Dai M. [et al.], 2017 [20]	M, 26/26	Hepatitis	Aqueous extracts	TNF- α , IL-1 β , IL-6	–
<i>Hedyotis</i> , Li Y. [et al.], 2022 [21]	M, 6/6	Nephritis	Aqueous extracts	TNF- α , IL-6, IL-17, MCP-1	STAT
<i>Hedyotis</i> , Liu R. [et al.], 2018 [22]	M, 15/15	Pneumonia	Ethanol extracts	TNF- α , IL-1 β	<i>NF-κB</i>

End of the Table 1

Genera, Author, Year	Animal, n (RT/IM)	Inflammation model	Extracts	Outcomes	
				Proinflammatory cytokines	Genes/Proteins
<i>Hedyotis</i> , Wang L.-F. [et al.], 2021 [23]	R, 10/10	Arthritis	Aqueous extracts	TNF- α , IL-1 β , IL-18	Caspase-1, NLRP3
<i>Hedyotis</i> , Ye J.-H. [et al.], 2015 [24]	M, 8/8	Nephritis	Aqueous extracts	TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1	–
<i>Morinda</i> , Krishnakumar N. M. [et al.], 2022 [25]	M, 6/6	Systemic inflammation	Ethanol extracts	TNF- α , IL-1 β , IL-6	<i>NF-κB</i> , iNOS, COX-2
<i>Morinda</i> , Liang J. [et al.], 2020 [26]	M, 6/6	Enteritis	Ethanol extracts	TNF- α , IL-6, IL-17	–
<i>Morinda</i> , Wan Osman W. N. [et al.], 2017 [27]	R, 6/6	Arthritis	Ethanol extracts	TNF- α , IL-1 β	–
<i>Morinda</i> , Zhang Q. [et al.], 2020 [28]	R, 10/10	Arthritis	Terpenoids	IL-1 β , IL-6, IL-17	–
<i>Nauclea</i> , Xu H. [et al.], 2022 [29]	M, 18/18	Pneumonia	Aqueous extracts	TNF- α , IL-1 β , IL-6	–
<i>Paederia</i> , Borgohain M. P. [et al.], 2017 [30]	R, 6/6	Nephritis	Ethanol extracts	TNF- α , IL-1 β , IL-6	<i>NF-κB</i>
<i>Paederia</i> , Hou Sh.-X. [et al.], 2014 [31]	R, 10/10	Nephritis	Terpenoids	TNF- α	–
<i>Paederia</i> , Zhu W. [et al.], 2012 [32]	R, 10/10	Nephritis	Terpenoids	MCP-1	<i>NF-κB</i>

Note. RT/IM – *Rubiaceae*-treated group/Inflammation model group; R – rats; M – mice; TNF – tumor necrosis factor; IL – interleukin; MCP – monocyte chemoattractant protein; MAPK – mitogen-activated protein kinase; AMPK – adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase; *NF- κ B* – nuclear factor kappa-B; NLRP – nucleotide binding domain and oligomerization domain (NOD)-like receptor thermal protein; STAT – Signal transducer and activator of transcription; Caspase – cysteinyl aspartate specific proteinase; COX – cyclooxygenase.

Risk of bias. After bias risk assessment of the 19 included studies, the main sources of bias were detection bias (100 % unclear risk of bias; Fig. 2), as none of the studies mentioned whether double-blind design was adopted. In addition, there was unclear risk of performance bias (10.53 %) and reporting bias (68.42 %; Fig. 2).

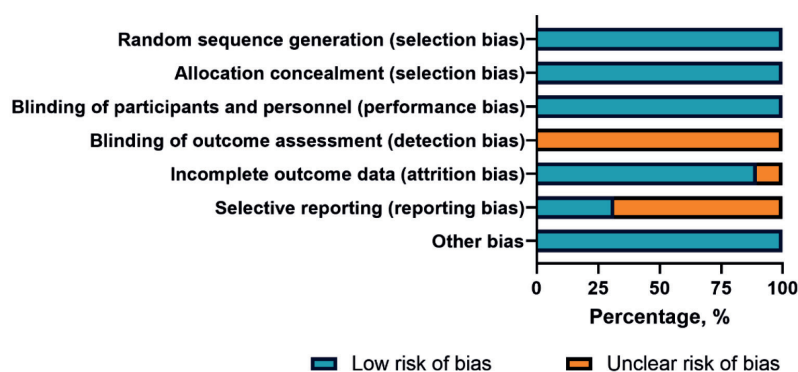


Fig. 2. Risk of bias (random sequence generation – selection bias due to inadequate generation of a randomized sequence; allocation concealment – selection bias due to inadequate concealment of allocations prior to assignment; blinding of participants and personnel – performance bias due to knowledge of the allocated interventions by participants and personnel during the study; blinding of outcome assessment – detection bias due to knowledge of the allocated interventions by outcome assessors; incomplete outcome data – attrition bias due to amount, nature or handling of incomplete outcome data; selective reporting – reporting bias due to selective outcome reporting; other bias – bias due to problems not covered)

Meta-analysis for outcomes. After screening the common detection indicators across included studies, only the pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α were evaluated for anti-inflammatory activity in 5 or more studies, with 13 studies for IL-1 β , 10 for IL-6, and 15 for TNF- α . Therefore, meta-analysis was performed only for these indicators, and forest plots were constructed (Fig. 3). The vertical

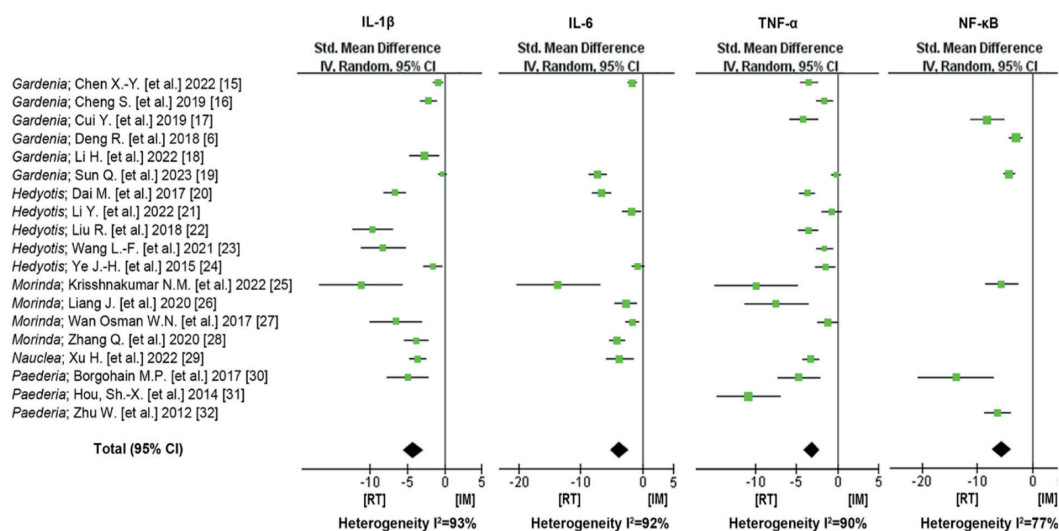


Fig. 3. Forest plot used for meta-analysis (effect of size estimates are depicted by filled squares, with horizontal whiskers corresponding to 95 % CIs. The filled diamond indicates the overall mean effect size)

line at 0 indicates no difference between the RT group and the IM group. Each green square represents the standardized mean difference (SMD) of an individual study, the horizontal line represents its 95 % confidence interval (CI), and the diamond at the bottom indicates the pooled effect size and 95 % CI. When the 95 % CI of an individual study lies entirely to the left of 0 (negative region) and does not cross the vertical line, the level of the indicator in the RT group is significantly lower than that in the IM group ($p < 0.05$). If the 95 % CI lies entirely to the right (positive region) without crossing the line, the level in the RT group is significantly higher than that in the IM group ($p < 0.05$). If the 95 % CI crosses the vertical line, the difference between the two groups is not statistically significant. As shown in Fig. 3, no significant differences in pro-inflammatory cytokine levels between the RT and IM groups were observed in some studies, including Sun Q. et al. (2023) [19] for IL-1 β and TNF- α , Ye J.-H. et al. (2015) [24] for IL-6, and Li Y. et al. (2022) [21] and Wan Osman W. N. et al. (2017) [27] for TNF- α . However, the overall pooled effects (diamonds) were all located to the left of the vertical line, indicating that pro-inflammatory cytokine levels were significantly lower in the RT group than in the IM group ($p < 0.05$). While a total of 6 studies detected the expression of nuclear transcription factor *NF- κ B*, the results showed that the expression of *NF- κ B* in the RT group was significantly lower than IM group ($p < 0.05$). As the meta-analysis results for all four indicators showed substantial between-study heterogeneity ($I^2 > 50\%$), a random-effects model was employed for the pooled analysis. To explore the potential sources of this heterogeneity, subgroup analyses were subsequently performed.

Subgroup analysis and meta-regression test. Subgroup analyses were performed to evaluate the anti-inflammatory activity of different genera within the *Rubiaceae* family and to investigate the effects of different extraction methods on anti-inflammatory efficacy, with the aim of exploring potential sources of between-study heterogeneity. Due to the availability of sufficient data, only IL-1 β , IL-6, and TNF- α were included in the subgroup analysis.

Analysis of anti-inflammatory effects of different plants was carried out. Subgroup analysis was performed to explore the anti-inflammatory effects of different *Rubiaceae* genera. The results showed that *Gardenia*, *Hedyotis*, and *Morinda* all significantly reduced IL-1 β levels ($p < 0.05$; Fig. 4). Similarly, *Gardenia*, *Hedyotis*, and *Morinda* all significantly decreased TNF- α levels ($p < 0.05$; Fig. 4). For IL-6, subgroup analysis revealed that only the *Morinda* subgroup showed a significant reduction ($p < 0.05$), whereas *Gardenia* and *Hedyotis* did not exhibit a significant effect ($p > 0.05$; Fig. 4). This finding differs from the overall pooled analysis results. After subgroup analysis, the between-study heterogeneity for IL-6 and TNF- α was reduced to $I^2 < 50\%$ (IL-6: $I^2 = 0\%$; TNF- α : $I^2 = 30.9\%$; Fig. 4). Meta-regression analysis showed that the p -values for both IL-1 β and TNF- α were < 0.05 (IL-1 β : $p = 0.037$; TNF- α : $p = 0.033$; Fig. 4), suggesting that intergeneric differences may be one of the key sources of the observed heterogeneity.

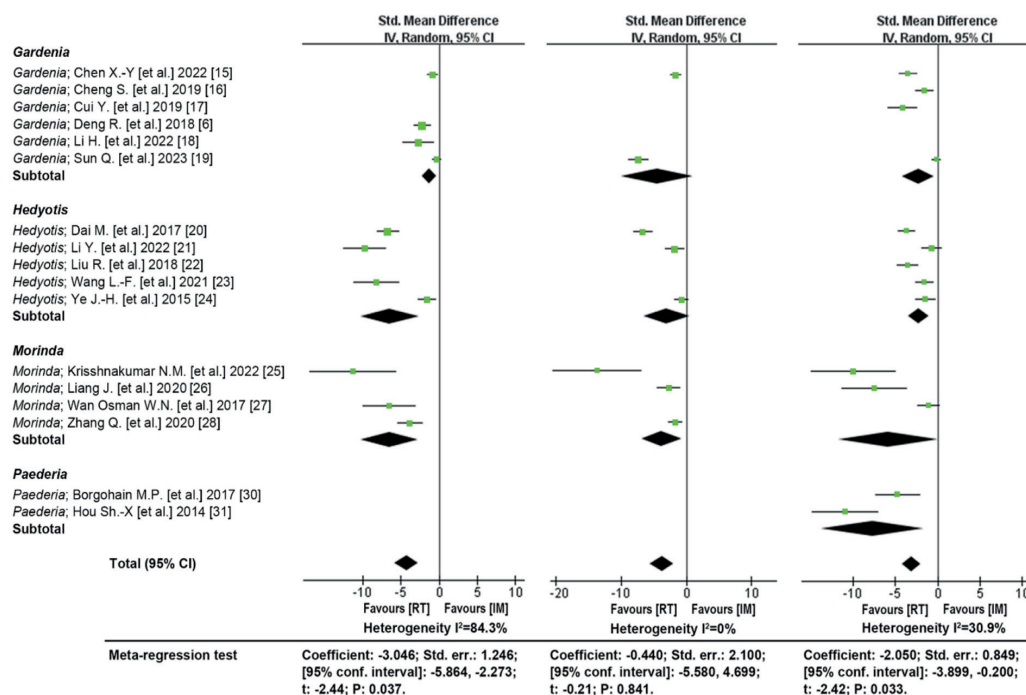


Fig. 4. Subgroup analysis of effects of different genera

An analysis of the anti-inflammatory effects of different extracts was carried out. Subgroup analysis was performed according to different extract types, including aqueous extracts, ethanol extracts, and terpenoid compound extracts. The results showed that all three types of extracts in the RT group significantly reduced the levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in animals ($p < 0.05$; Fig. 5). Within the subgroups, the between-study heterogeneity for IL-6 and TNF- α was reduced (IL-6: $I^2 = 0\%$; TNF- α : $I^2 = 27.8\%$; Fig. 5). However, meta-regression analysis revealed no statistically significant association between extract type and effect size for any of the three indicators ($p > 0.05$; Fig. 5). These findings suggest that extract type may contribute to the observed heterogeneity, although this could also be attributable to random variation.

Publication bias. The Begg’s test and Egger’s test were used to analyze IL-1 β , IL-6, and TNF- α data to determine publication bias. The analysis results of IL-1 β showed significant publication bias (Begg’s

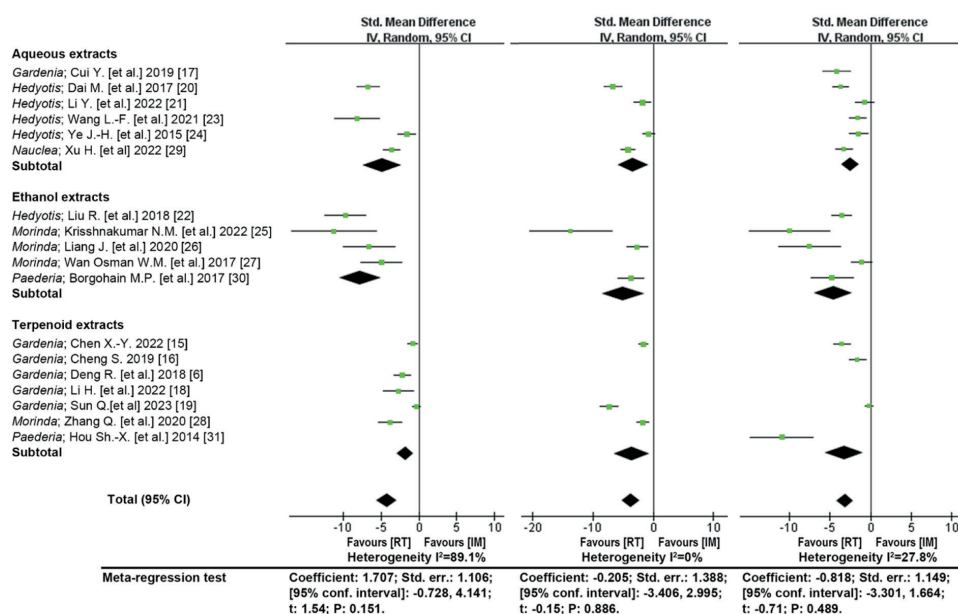


Fig. 5. Subgroup analysis of effects of different extracts

Table 2. Publication bias test results

Outcome indicators	<i>p</i> -value of Begg's test	<i>p</i> -value of Egger's test
IL-1 β	<0.001	0.033
IL-6	0.069	0.032
TNF- α	0.001	0.138

Note. When the *p*-value is no more than 0.05, it suggests that the analyzed data has a pronounced publication bias within the 95 % CI.

$p \leq 0.05$; Egger's $p \leq 0.05$; Table 2). The Begg's test showed that there was no publication bias in IL-6 ($p > 0.05$; Table 2), while there was publication bias in TNF- α ($p \leq 0.05$; Table 2). The Egger's test showed that IL-6 ($p \leq 0.05$; Table 2) had publication bias, while TNF- α ($p > 0.05$; Table 2) did not have publication bias. Overall, there was a publication bias in the study of animal inflammation models treated with *Rubiaceae*.

Discussion. *Rubiaceae* plays an important role in regulating inflammatory factors and cellular immune signaling pathways. PCs and intracellular inflammatory pathways were analyzed in this study. PCs are a type of cytokine that promotes immune responses in the body during the inflammatory process [33]. Under normal immune function, their levels can directly reflect the level of animal inflammation [33]. PCs are involved in regulating vascular endothelial permeability, promoting endothelial surface adhesion, and recruiting white blood cells, lymphocytes, and monocytes [33]. While they also promote the development of inflammation and tissue damage, leading to pathological changes [34, 35]. Three types of PCs, IL-1 β , IL-6, and TNF- α , were included in the meta-analysis in this study. IL-1 β , IL-6, and TNF- α are involved in the development of various inflammatory diseases. Among them, IL-1 not only directly promotes cellular inflammatory response, but also induces the secretion of IL-6, and TNF- α to enhance inflammatory response [33–35]. The excessive development of inflammation undoubtedly brings damage and dysfunction to organisms, especially in inflammation caused by excessive immunity, such as rheumatoid arthritis, lupus erythematosus and delayed allergic reactions [35].

Among the 19 studies included, 6 were included in the meta-analysis. The results showed that *Rubiaceae* can inhibit the expression of *NF- κ B* (Fig. 3). *NF- κ B* is a key signaling pathway that regulates cellular inflammation. PCs can activate the Toll-like receptors on cells and activate the *NF- κ B* signaling pathway through phosphorylation of *I κ B* [36]. The activation of *NF- κ B* can induce cellular inflammation and apoptosis [36]. In chronic inflammation, overexpression of *NF- κ B* is an important cause of sustained cellular inflammation [36]. The anti-inflammatory mechanism of *Rubiaceae* compounds is complex, and more experiments on molecular mechanisms underlying this mechanism are needed to explore its therapeutic potential for treatment of specific inflammatory disorders.

This study mainly includes research on animal experiments, and most of the included reports do not mention laboratory double-blind settings, so it has a high risk of detection bias. In the process of conducting meta-analysis on various data, heterogeneity remained at a high level. Therefore, the study conducted subgroup analysis by genera, extracts, and treated diseases, and conducted meta-regression analysis. However, only in genera subgroups, meta-regression analysis shows that genera differences may be one of the sources of heterogeneity. Moreover, after grouping by extracts, the heterogeneity did not change. The subgroups contain aqueous extracts, ethanol extracts, and terpenoids. Terpenoids are easily soluble in water, ethanol, and methanol, so they are also abundant in both aqueous and ethanol extracts [5], which indirectly indicates that iridoids are important substances for *Rubiaceae* to exert anti-inflammatory effects. Due to the lack of quantitative analysis of all organic compounds in each report, the reference of drug dosage cannot be accurately included in the meta-analysis, which may be one of the sources of heterogeneity.

Conclusion. Nineteen studies were finally included in this meta-analysis from an initial 348 relevant reports, indicate that most published research lacks standardized experimental design and complete quantitative data eligible for meta-analysis. *Rubiaceae* plants exert significant anti-inflammatory efficacy in animal models of cardiovascular, digestive, urinary and respiratory inflammatory diseases, primarily by regulating the expression of key PCs (IL-1 β , IL-6, TNF- α) and inhibiting the *NF- κ B* signaling pathway. Subgroup analyses and meta-regression indicated that high heterogeneity mainly stems from intergeneric differences. Eligible reports on *Nauclea* and *Paederia* available for this study are limited, and combined with the pre-

sence of publication bias revealed by Begg's and Egger's tests, these all demonstrate that the anti-inflammatory activity of *Rubiaceae* plants requires further verification through more rigorous animal experiments.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. This research is supported by the following funds: Natural Science Foundation of Hainan, China (No. 324QN284); Grants of BFFR B24-060-1 (State Registration Number 20242032) and B25KI-086 (State Registration Number 20250436).

References

- Martins D., Nunez C. V. Secondary Metabolites from *Rubiaceae* Species. *Molecules*, 2015, vol. 20, no. 7, pp. 13422–13495. <http://doi.org/10.3390/molecules200713422>
- Jaafar A., Zulkipli M. A., Hatta F. H. M., Jahidin A. H., Nasir N. A. A., Hasan M. H. Therapeutic potentials of iridoids derived from *Rubiaceae* against *in vitro* and *in vivo* inflammation: A scoping review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2024, vol. 32, no. 1, art. 101876. <http://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101876>
- Chen R., He J., Tong X., Tang L., Liu M. The *Hedyotis diffusa* Willd. (*Rubiaceae*): A Review on Phytochemistry, Pharmacology, Quality Control and Pharmacokinetics. *Molecules*, 2016, vol. 21, no. 6, art. 710. <http://doi.org/10.3390/molecules21060710>
- Kou Y., Li Z., Yang T., Shen X., Wang X., Li H., Zhou K., Li L., Xia Z., Zheng X., Zhao Y. Therapeutic potential of plant iridoids in depression: a review. *Pharmaceutical Biology*, 2022, vol. 60, no. 1, pp. 2167–2181. <http://doi.org/10.1080/13880209.2022.2136206>
- Wang C., Gong X., Bo A., Zhang L., Zhang M., Zang E., Zhang Ch., Li M. Iridoids: Research Advances in Their Phytochemistry, Biological Activities, and Pharmacokinetics. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 2, art. 287. <http://doi.org/10.3390/molecules25020287>
- Deng R., Li F., Wu H., Wang W.-Y., Dai L., Zhang Z.-R., Fu J. Anti-inflammatory mechanism of geniposide: inhibiting the hyperpermeability of fibroblast-like synoviocytes via the RhoA/p38MAPK/NF- κ B/F-actin signal pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, vol. 9, no. 1, art. 105. <http://doi.org/10.3389/fphar.2018.00105>
- Gao S., Feng Q. The Beneficial Effects of Geniposide on Glucose and Lipid Metabolism: A Review. *Drug Design, Development and Therapy*, 2022, vol. 16, no. 1, pp. 3365–3383. <http://doi.org/10.2147/ddt.S378976>
- Li N., Li L., Wu H., Zhou H., Antioxidative Property and Molecular Mechanisms Underlying Geniposide-Mediated Therapeutic Effects in Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, no. 1, art. 7480512. <http://doi.org/10.1155/2019/7480512>
- Shen B., Feng H., Cheng J., Li Z., Jin M., Zhao L., Wang Q., Qin H., Liu G. Geniposide alleviates non-alcohol fatty liver disease via regulating Nrf2/AMPK/mTOR signalling pathways. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, vol. 24, no. 9, pp. 5097–5108. <http://doi.org/10.1111/jcmm.15139>
- Zhuge X., Jin X., Ji T., Li R., Xue L., Yu W., Quan Z., Tong H., Xu F. Geniposide ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis via KEAP1-Nrf2 signaling pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, vol. 314, no. 1, art. 116626. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116626>
- Xu Y., Zeng J., Wang L., Xu J., He X., Wang Y. Anti-inflammatory iridoid glycosides from *Paederia scandens* (Lour.) Merrill. *Phytochemistry*, 2023, vol. 212, no. 1, art. 113705. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2023.113705>
- Chen X., Jiang W., Liu Y. Anti-inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 2022, vol. 60, no. 1, pp. 294–299. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2030760>
- Carvalho-Silva J. M., dos Reis A. C. Anti-inflammatory action of silver nanoparticles *in vivo*: systematic review and meta-analysis. *Heliyon*, 2024, vol. 10, no. 14, p. e34564. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34564>
- Shamsudin N. F., Ahmed Q. U., Mahmood S., Shah S. A. A., Sarian M. N., Khatik M. M. A. K., Khatib A., Sabere A. S. M., Yusoff Y. M., Latip J. Flavonoids as Antidiabetic and Anti-Inflammatory Agents: A Review on Structural Activity Relationship-Based Studies and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 20, art. 12605. <https://doi.org/10.3390/ijms232012605>
- Chen X.-Y., Jiang W.-W., Liu Y.-L., Ma Zh.-X., Dai J.-Q. Anti-inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 2022, vol. 60, no. 1, pp. 294–299. <http://doi.org/10.1080/13880209.2022.2030760>
- Cheng S., Zhou F., Xu Y., Liu X., Zhang Y., Gu M., Su Z., Zhao D., Zhang L., Jia Y. Geniposide regulates the miR-101/MKP-1/p38 pathway and alleviates atherosclerosis inflammatory injury in *ApoE^{-/-}* mice. *Immunobiology*, 2019, vol. 224, no. 2, pp. 296–306. <http://doi.org/10.1016/j.imbio.2018.12.005>
- Cui Y., Wang Q., Wang M., Jia J., Wu R. *Gardenia* Decoction Prevent Intestinal Mucosal Injury by Inhibiting Pro-inflammatory Cytokines and NF- κ B Signaling. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, vol. 10, no. 1, art. 180. <http://doi.org/10.3389/fphar.2019.00180>
- Li H., Yang D.-H., Zhang Y., Zheng F., Gao F., Sun J., Shi G. Geniposide suppresses NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via the AMPK signaling pathway to mitigate myocardial ischemia/reperfusion injury. *Chinese Medicine*, 2022, vol. 17, no. 1, art. 73. <http://doi.org/10.1186/s13020-022-00616-5>
- Sun Q., Zhang X., Fan J., Zhang L., Ji H., Xue J., Zhang C., Chen R., Zhao J., Chen J., Liu X., Song D. Geniposide protected against cerebral ischemic injury through the anti-inflammatory effect via the NF- κ B signaling pathway. *Translational Neuroscience*, 2023, vol. 14, no. 1, art. 20220273. <http://doi.org/10.1515/tnsci-2022-0273>
- Dai M., Wang F., Zou Z., Xiao G., Chen H., Yang H. Metabolic regulations of a decoction of *Hedyotis diffusa* in acute liver injury of mouse models. *Chinese Medicine*, 2017, vol. 12, no. 1, art. 35. <http://doi.org/10.1186/s13020-017-0159-4>
- Li Y., Ding T., Chen J., Ji J., Wang W., Ding B., Ge W., Fan, Y., Xu, L. The protective capability of *Hedyotis diffusa* Willd on lupus nephritis by attenuating the IL-17 expression in MRL/lpr mice. *Frontiers in Immunology*, 2022, vol. 13, no. 1, art. 943827. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2022.943827>

22. Liu R., Wang P., Wu C., Chen J., Li Ch., Xie Y., Wang Q., Liu J., He H., Zhu J. Therapeutic effects of *Hedyotis diffusa* Willd in a COPD mouse model challenged with LPS and smoke. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018, vol. 15, no. 4, pp. 3385–3391. <http://doi.org/10.3892/etm.2018.5851>
23. Wang L.-F., OuYang F., Ma Y., Sun R., Tan S.-W., Xiao L., Yang Q.-W. Effect of *Hedyotis diffusa* Willd extract on gouty arthritis in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2021, vol. 20, no. 1, pp. 129–134. <http://doi.org/10.4314/tjpr.v20i1.19>
24. Ye J.-H., Liu M.-H., Zhang X.-L., He J.-Y. Chemical Profiles and Protective Effect of *Hedyotis diffusa* Willd in Lipopolysaccharide-Induced Renal Inflammation Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, vol. 16, no. 11, pp. 27252–27269. <http://doi.org/10.3390/ijms161126021>
25. Krishnakumar N. M., Manikantan K., Suja S. N. R., Latha P. G., Ceasar S. A. *Morinda umbellata* active fraction inhibits lipopolysaccharide induced proinflammatory cytokines by downregulating *NF-κB* activation. *Toxicology Research*, 2022, vol. 11, no. 5, pp. 841–851. <http://doi.org/10.1093/toxres/tfac063>
26. Liang J., Liang J., Hao H., Lin H., Wang P., Wu Y., Jiang X., Fu Ch., Li Q., Ding P., Liu H., Xiong Q., Lai X., Zhou L., Chan Sh., Hou Sh. The Extracts of *Morinda officinalis* and Its Hairy Roots Attenuate Dextran Sodium Sulfate-Induced Chronic Ulcerative Colitis in Mice by Regulating Inflammation and Lymphocyte Apoptosis. *Frontiers in Immunology*, 2020, vol. 11, no. 1, art. 2092. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02092>
27. Wan Osman W. N., Lau S. F., Mohamed S. Scopoletin-standardized *Morinda elliptica* leaf extract suppressed inflammation and cartilage degradation to alleviate osteoarthritis: A preclinical study. *Phytotherapy Research*, 2017, vol. 31, no. 12, pp. 1954–1961. <http://doi.org/10.1002/ptr.5949>
28. Zhang Q., Zhang J.-H., He Y.-Q., Zhang Q.-L., Zhu B., Shen Y., Liu M.-Q., Zhu L.-L., Xin H.-L., Qin L.-P., Zhang Q.-Y. Iridoid glycosides from *Morinda officinalis* How. exert anti-inflammatory and anti-arthritic effects through inactivating MAPK and *NF-κB* signaling pathways. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2020, vol. 20, no. 1, art. 172. <http://doi.org/10.1186/s12906-020-02895-7>
29. Xu H., Xu S., Li L., Wu Y., Mai Sh., Xie Y., Tan Y., Li A., Xue F., He X., Li Y. Integrated metabolomics, network pharmacology and biological verification to reveal the mechanisms of *Nauclea officinalis* treatment of LPS-induced acute lung injury. *Chinese Medicine*, 2022, vol. 17, no. 1, art. 131. <http://doi.org/10.1186/s13020-022-00685-6>
30. Borgohain M. P., Chowdhury L., Ahmed S., Bolshette N., Devasani K., Das T. J., Mohapatra A., Lahkar M. Renoprotective and antioxidative effects of methanolic *Paederia foetida* leaf extract on experimental diabetic nephropathy in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, vol. 198, no. 1, pp. 451–459. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.035>
31. Hou Sh.-X., Zhu W.-J., Pang M.-Q., Jeffrey J., Zhou L.-L. Protective effect of iridoid glycosides from *Paederia scandens* (LOUR.) MERRILL (Rubiaceae) on uric acid nephropathy rats induced by yeast and potassium oxonate. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, vol. 64, no. 1, pp. 57–64. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.022>
32. Zhu W., Pang M., Dong L., Huang X., Wang S., Zhou L. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of iridoid glycosides from *Paederia scandens* (LOUR.) MERRILL (Rubiaceae) on uric acid nephropathy rats. *Life Sciences*, 2012, vol. 91, no. 11–12, pp. 369–376. <http://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.08.013>
33. Dinarello Ch. A. Proinflammatory cytokines. *Chest*, 2000, vol. 118, no. 2, pp. 503–508. <https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>
34. Dinarello Ch. A., van der Meer J. W. M. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. *Semin Immunol*, 2013, vol. 25, no. 6, pp. 469–484. <http://doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.008>
35. Kim E. Y., Moudgil K. D. Regulation of autoimmune inflammation by pro-inflammatory cytokines. *Immunology letters*, 2008, vol. 120, no. 1–2, pp. 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2008.07.008>
36. Nennig S. E., Schank J. R. The role of NFκB in drug addiction: beyond inflammation. *Alcohol and Alcoholism*, 2017, vol. 25, no. 2, pp. 172–179. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agw098>

Information about the authors

Yuxuan Peng – Postgraduate Student. Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Faculty of Biology, Belarusian State University (10, Kurchatova Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). Email: archer6947@outlook.com. <https://orcid.org/0000-0002-8448-4991>

Aryna F. Bakhmetava – 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: bahmetovaarina@gmail.com

Marharyta A. Myslejka – Master's Student. University of the National Academy of Sciences of Belarus (10, per. Kalinina, 220049, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: margaritamyslejko@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0005-9487-7202>

Vadim V. Demidchik – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: demidchik@botany.by. <https://orcid.org/0000-0003-3765-8386>

Информация об авторах

Юйсюань Пэн – аспирант. Кафедра клеточной биологии растений и биоинженерии биологического факультета Белорусского государственного университета (ул. Курчатова, д. 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: archer6947@outlook.com. <https://orcid.org/0000-0002-8448-4991>

Бахметова Арина Фёдоровна – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bahmetovaarina@gmail.com

Мыслейко Маргарита Алексеевна – магистрант. Университет Национальной академии наук Беларуси (пер. Калинина, 10, 220049, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: margaritamyslejko@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0005-9487-7202>

Демидчик Вадим Викторович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: demidchik@botany.by. <https://orcid.org/0000-0003-3765-8386>

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 579.852.11-579.62
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-125-131>

Поступила в редакцию 16.02.2026
Received 16.02.2026

Е. А. Самбук, Э. И. Коломиец

*Государственное научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии»,
Минск, Республика Беларусь*

ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ РОДА *BACILLUS*, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ПАТОГЕННОЙ МИКРОБИОТЫ РЫБ

Аннотация. В последние годы внимание исследователей и практиков концентрируется на использовании в аквакультуре пробиотических препаратов, характеризующихся высокой антимикробной активностью к целевым патогенам и оказывающих выраженное стимулирующее действие на рыбопродуктивность. С целью разработки таких препаратов нами проведен скрининг изолятов спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, выделенных из кишечника карпа и вод рыбоводных прудов. Отобраны два наиболее активных штамма бактерий-антагонистов, изучены их морфологические и физиолого-биохимические свойства. С помощью амплификации со специфическими праймерами выявлено наличие генов, ответственных за синтез основных антимикробных метаболитов.

Ключевые слова: Бактерии рода *Bacillus*, пробиотики, антагонистическая активность, ферментативная активность, антимикробные метаболиты

Для цитирования: Самбук, Е. А. Выделение штаммов бактерий-антагонистов рода *Bacillus*, перспективных для контроля патогенной микробиоты рыб / Е. А. Самбук, Э. И. Коломиец // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 125–131. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-125-131>

Ekaterina A. Sambuk, Emilia I. Kolomiets

State Scientific and Production Enterprise “Chemical Synthesis and Biotechnology”, Minsk, Republic of Belarus

ISOLATION OF BACTERIAL ANTAGONISTIC STRAINS OF THE GENUS *BACILLUS*, WITH POTENTIAL FOR THE CONTROL OF FISH PATHOGENIC MICROBIOTA

Abstract. In recent years, the attention of researchers and practitioners has been focused on the use of probiotic drugs in aquaculture, which are characterized by high antimicrobial activity against target pathogens and have a pronounced stimulating effect on fish productivity. In order to develop such drugs, we screened isolates of spore-forming bacteria of the genus *Bacillus* isolated from the intestines of carp and waters of fish ponds. Two of the most active strains of antagonist bacteria were selected, and their morphological, physiological, and biochemical properties were studied. Amplification with specific primers revealed the presence of genes responsible for the synthesis of major antimicrobial metabolites.

Keywords: bacteria of the genus *Bacillus*, probiotics, antagonistic activity, enzymatic activity, antimicrobial metabolites

For citation: Sambuk E. A., Kolomiets E. I. Isolation of bacterial antagonistic strains of the genus *Bacillus*, with potential for the control of fish pathogenic microbiota. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 125–131 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-125-131>

Введение. Рыбоводство – одна из быстро развивающихся отраслей промышленности. При интенсивном типе выращивания рыб в аквакультуре большую проблему представляют заболевания, вызванные патогенными бактериями и приводящие к высоким показателям смертности гидробионтов, что не только наносит огромный экономический ущерб, но и может вызвать нехватку продовольствия [1].

В различных литературных источниках охарактеризовано около 25 родов бактерий – патогенов пресноводных и морских рыб. К основным возбудителям болезней прудовых рыб относятся бактерии родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Mycobacterium* и др. Так, представители *Aeromonas hydrophila* вызывают брюшную водянку, образование язв, серозно-геморрагический дерматит [2, 3].

Широкое использование антибиотиков в аквакультуре привело к возникновению устойчивых форм патогенов, что на сегодняшний день представляет собой одну из основных проблем рыбного хозяйства. Первым зарегистрированным возбудителем заболеваний рыб, проявляющим устойчивость к противомикробным препаратам (к сульфатиозолу и тетрациклину), были бактерии вида *A. salmonicida*. В настоящее время антибиотикорезистентные патогены выделены из многих выращиваемых рыб и ракообразных по всему миру.

По данным ВОЗ, объем используемых антимикробных препаратов в животноводстве в настоящее время в 2 раза превышает объем антибиотиков, применяемых в медицине. Так, только в странах ЕС в 2022 г. в ветеринарных целях было применено 3 794,2 т противомикробных препаратов [4]. Характерно, что практически все антимикробные средства, используемые в сельском хозяйстве, аналогичны по структуре или идентичны тем, которые применяются в медицине, что способствует формированию полирезистентных штаммов патогенных бактерий и перекрестной резистентности [5–7].

По мере того как мы приближаемся к тому моменту, который, согласно заявлению ВОЗ, может стать «пост-антибиотической эрой», растет интерес к альтернативным инструментам, которые позволят сократить применение антибиотиков. Одной из рассматриваемых альтернатив возможного решения проблемы устойчивости к противомикробным препаратам является использование пробиотиков.

Пробиотики – бактериальные препараты на основе микробных культур, эффективность которых связана со способностью вызывать благоприятные метаболические изменения в организме (повышение сопротивляемости, улучшение усвояемости питательных веществ), а также с антагонистическим действием на вредную для организма микробиоту. Они не вызывают побочных реакций, не имеют противопоказаний к применению и в комплексе с ветеринарно-санитарными мероприятиями могут положительно влиять на микробиоценоз в животноводческих помещениях. Использование пробиотиков в аквакультуре позволяет не только контролировать развитие патогенной микробиоты, но и эффективно бороться с органическими загрязнениями, обеспечивая высокое качество воды [8, 9].

Таким образом, в задачи настоящего исследования входили выделение и скрининг штаммов пробиотических бактерий с высокими показателями антимикробной и ферментативной активности, перспективных для использования в аквакультуре, а также изучение их морфологических и физиолого-биохимических свойств.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований являлись изоляты спорообразующих микроорганизмов с высокой антагонистической активностью к возбудителям болезней рыб – бактериям *A. salmonicida*.

Выделение культур бактерий-антагонистов проводили из микробиома кишечника рыбы (карп), а также из водных образцов путем посева проб на мясо-пептонный агар (МПА) после предварительного прогрева при температуре 80–85 °С в течение 15 мин. Культивирование осуществляли при температуре 28 °С. Отбор наиболее активных изолятов проводили с использованием метода точечного тестирования.

Способность изолятов утилизировать углеводы и спирты определяли путем их культивирования на средах Гисса с сахарозой, глюкозой, лактозой, маннитом и мальтозой [10].

Изучение антагонистической активности наиболее активных изолятов проводили методом лунок [11]. В агаризованной питательной среде (нижний слой – 2%-й бульон Хоттингера (БХ), верхний слой – 1,2%-й БХ + тест-культура патогена) сверлом делали лунки диаметром 10 мм, в которые заливали по 100 мкл 48-часовой культуральной жидкости бактерий, выращенной на среде Мейнелла с мелассой.

У отобранных изолятов изучали спектр антагонистической активности в отношении 11 патогенов рыб: *Escherichia coli* К3, *E. coli* 39А, *Staphylococcus aureus* 1528, *St. aureus* 1844, *Aeromonas bestiarum* БИМ В-1803, *A. salmonicida* БИМ В-1816, *A. veronii* БИМ В-1855, *A. veronii* БИМ В-1856, *A. salmonicida* 56, *Pseudomonas* sp. 55, *Shewanella putrefaciens*. Патогены предоставлены Институтом рыбного хозяйства НАН Беларуси и Белорусской коллекцией непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси.

Предварительную (качественную) оценку ферментативной активности отобранных изолятов проводили чашечным методом на агаризованных питательных средах с такими специфическими субстратами, как картофельный крахмал – для определения α -амилазной активности, Na-КМЦ и казеин – для определения целлюлолитической и протеолитической активности соответственно. Об уровне продукции ферментов судили по появлению зон гидролиза вокруг выросших колоний после 72 ч культивирования при 28 °С. Для визуализации результатов использовали краситель Конго красный (Na-КМЦ-азная активность) и раствор Люголя (α -амилазная активность) [11].

Количество продуцируемых бактериями гидролитических ферментов определяли после 24 ч культивирования. Измерение протеазы проводили методом Ансона в модификации И. С. Петровой и М. М. Винцюнайте [12], основанным на ферментативном гидролизе казеината натрия до пептидов и аминокислот; α -амилазную и целлюлазную активности исследовали фотометрически по способности гидролизовать хромогенные субстраты (деполимеризованный крахмал, окрашенный Procion Red MX-5B (Red-starch)) и карбоксиметилцеллюлозу (Azo-СМ-Cellulose, Megazyme, Ирландия) до окрашенных низкомолекулярных фрагментов.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований из кишечника рыбы и вод рыбоводных прудов выделили 78 бактериальных изолятов, из числа которых отобрали 14 культур с высокой антимикробной активностью в отношении бактерий *A. salmonicida* – возбудителей аэромоноза рыб (зоны задержки роста *A. salmonicida* – 17–27 мм).

Дальнейшие исследования были направлены на отбор изолятов с комплексной антимикробной и ферментативной активностями. Согласно полученным результатам (табл. 1) максимальными показателями комплексной ферментативной и антагонистической активностей из 14 исследуемых культур обладали изоляты 14 и 17, у которых зоны задержки роста тест-объектов составляли 27–28 мм, что находится на уровне контрольного штамма *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1878 Г – основы кормовой добавки «Аквабациллин». Вместе с тем ферментативная активность выделенных изолятов превышала показатели контрольного штамма.

С помощью системы для масс-спектрального анализа «АЛМАСС Био 200» (ООО «Альгимед Техно», Российская Федерация) провели идентификацию наиболее активных изолятов. Выявлено, что изолят 14 относится к виду *Bacillus mojavensis*, а изолят 17 – к виду *B. vallismortis*.

Таблица 1. Сравнительная характеристика отобранных бактериальных изолятов и коллекционного штамма – основы пробиотической кормовой добавки «Аквабациллин»
Table 1. Comparative characteristics of the selected bacterial isolates and the collection strain – the basis of the probiotic feed additive Aquabacillin

Изолят	Ферментативная активность* (диаметр зоны гидролиза субстрата), мм			Антимикробная активность (диаметр зоны задержки роста <i>A. salmonicida</i>), мм
	амилолитическая (крахмал)	протеолитическая (казеин)	целлюлолитическая (Na-КМЦ)	
1	21 ± 0,1	17 ± 0,2	21 ± 0,1	20 ± 0,3
2	24 ± 0,3	18 ± 0,3	17 ± 0,2	20 ± 0,2
6	13 ± 0,2	16 ± 0,2	7 ± 0,1	17 ± 0,1
12	15 ± 0,2	15 ± 0,2	3 ± 0,3	19 ± 0,5
13	22 ± 0,2	19 ± 0,1	18 ± 0,2	23 ± 0,1
14	23 ± 0,1	22 ± 0,1	36 ± 0,1	27 ± 0,2
17	20 ± 0,1	37 ± 0,2	26 ± 0,2	28 ± 0,1
21	19 ± 0,2	19 ± 0,1	14 ± 0,3	24 ± 0,5
26	16 ± 0,3	19 ± 0,3	16 ± 0,1	21 ± 0,3
27	20 ± 0,2	19 ± 0,3	13 ± 0,3	22 ± 0,2
28	14 ± 0,3	21 ± 0,2	16 ± 0,2	20 ± 0,1
31	19 ± 0,1	20 ± 0,4	14 ± 0,1	20 ± 0,3
32	14 ± 0,1	20 ± 0,5	17 ± 0,1	22 ± 0,1
33	16 ± 0,3	20 ± 0,1	16 ± 0,4	23 ± 0,5
Контроль Штамм <i>B. amyloliquef-aciens</i> БИМ В-1878 Г	19 ± 0,5	31 ± 0,4	22 ± 0,2	28 ± 0,4

Примечание. * – качественная оценка ферментативной активности чашечным методом на агаризованных питательных средах со специфическими субстратами.

Установлено, что при росте на агаризованной питательной среде МПА *B. mojavensis* 14 образует кремовые полупрозрачные округлые колонии среднего размера (4–6 мм), мягкой консистенции, с неровным краем, матовой поверхностью и плоским рельефом. *B. vallismortis* 17 на агаризованной МПА образует кремовые полупрозрачные округлые слизистые колонии среднего размера (3–5 мм), мягкой консистенции, с неровным краем, матовой поверхностью и плоским рельефом.

Согласно визуальной оценке изменения окраски сред Гисса отобранные штаммы способны утилизировать глюкозу, сахарозу, лактозу, маннит, но не усваивают мальтозу (табл. 2).

Таблица 2. Оценка способности отобранных штаммов утилизировать углеводы

Table 2. Assessment of the ability of selected strains to utilize carbohydrates

Субстрат	Наличие изменения окраски	
	<i>B. mojavensis</i> 14	<i>B. vallismortis</i> 17
Сахароза	+	+
Глюкоза	+	+
Маннит	+	+
Мальтоза	–	–
Лактоза	+	+

Примечание. «+» – изменение окраски среды, «–» – отсутствие изменения окраски среды.

При подборе штаммов для включения их в пробиотические препараты важно исследовать спектр их антимикробной и ферментативной активностей. Согласно данным табл. 3 штаммы продуцируют комплекс гидролитических ферментов – протеаз, целлюлаз, амилаз – в количестве 14,5–17 ед/мл, 0,056–0,098 ед/мл, 0,155–0,205 ед/мл соответственно.

Таблица 3. Количественное определение ферментативной активности у отобранных штаммов

Table 3. Quantitative determination of enzymatic activity in selected strains

Штамм	Ферментативная активность, ед/мл		
	целлюлазная	α -амилазная	протеиназная
<i>B. mojavensis</i> 14	0,098	0,155	14,9
<i>B. vallismortis</i> 17	0,056	0,205	17

Для оценки спектра антимикробной активности в качестве тест-культур использовали патогенные и условно-патогенные бактерии рыб: *Escherichia coli* К3, *E. coli* 39А, *Staphylococcus aureus* 1528, *St. aureus* 1844, *Aeromonas bestiarum* БИМ В-1803, *A. salmonicida* БИМ В-1816, *A. veronii* БИМ В-1855, *A. veronii* БИМ В-1856, *A. salmonicida* 56, *Pseudomonas* sp., *Shewanella putrefaciens* (табл. 4).

Таблица 4. Спектр антагонистической активности отобранных изолятов

Table 4. Spectrum of antagonistic activity of selected isolates

Тест-культура патогена	Диаметр зоны задержки роста, мм	
	<i>B. mojavensis</i> 14	<i>B. vallismortis</i> 17
<i>Escherichia coli</i> К3	20	21
<i>E. coli</i> 39А	21	22
<i>Staphylococcus aureus</i> 1528	24	27
<i>St. aureus</i> 1844	34	29
<i>Aeromonas bestiarum</i> БИМ В-1803	28	28
<i>A. salmonicida</i> БИМ В-1816	24	25
<i>Pseudomonas</i> sp.	27	32
<i>Shewanella putrefaciens</i>	21	36
<i>A. veronii</i> БИМ В-1855	27	29
<i>A. veronii</i> БИМ В-1856	28	28
<i>A. salmonicida</i> 56	21	21

Согласно полученным данным штамм *B. mojavensis* 14 обладает максимальной антагонистической активностью по отношению к *St. aureus* 1844 (диаметр зоны задержки роста – 34 мм) и минимальной – к *E. coli* K3 (диаметр зоны задержки роста – 20 мм). Штамм *B. vallismortis* 17 активно ингибирует рост фитопатогенных бактерий *Sh. putrefaciens* (диаметр зоны задержки роста – 36 мм), но проявляет менее выраженную антагонистическую активность в отношении *E. coli* K3 и *A. salmonicida* 56 (диаметр зоны задержки роста – 21 мм).

Проведена амплификация образцов ДНК исследуемых культур со специфическими праймерами к генам, кодирующим синтез сурфактина А, итурана А, фенгицина и др. Показано, что в геноме отобранных штаммов присутствуют гены, отвечающие за синтез всех указанных антимикробных соединений, что позволяет предположить их наличие в культуральной среде и участие в контроле патогенов. Результаты ПЦР-анализа представлены на рис. 1, 2.

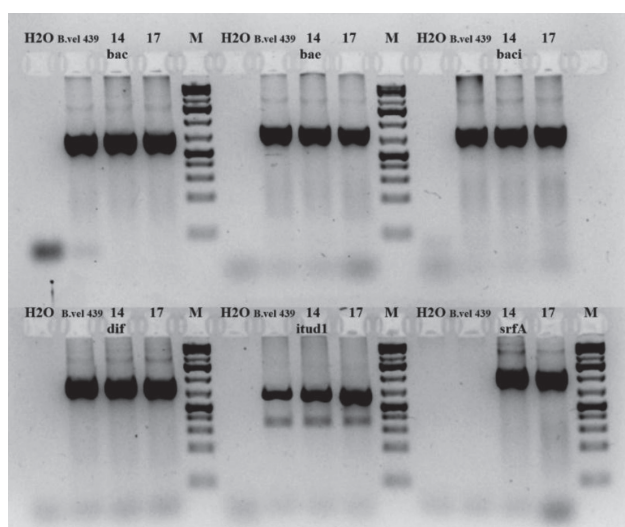


Рис. 1. Наличие генов, кодирующих синтез антимикробных метаболитов у штаммов *B. mojavensis* 14 и *B. vallismortis* 17: bac – липопептид из группы итуринов; bae – полиеновый антибиотик; baci – сурфактин; dif – поликетидный антибиотик; itud1 – итурин А; srfA – сурфактин

Fig. 1. The presence of genes encoding the synthesis of antimicrobial metabolites in strains of *B. mojavensis* 14 and *B. vallismortis* 17 strains: bac – lipopeptide from the iturin group; bae – polyene antibiotic; baci – surfactin; dif – polyketide antibiotic; itud1 – iturin A; srfA – surfactin

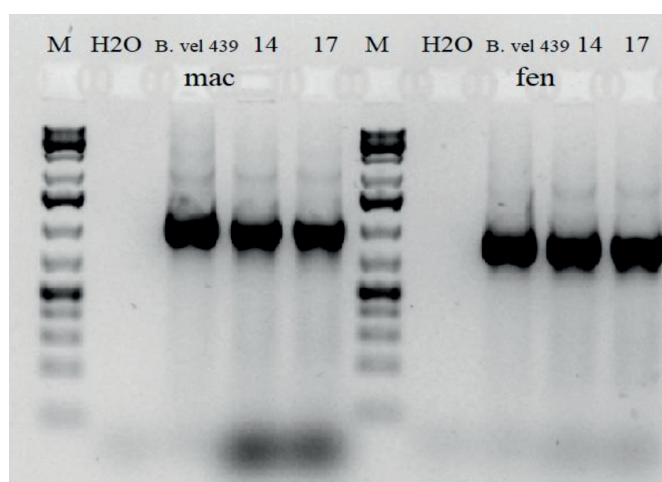


Рис. 2. Наличие генов, кодирующих синтез антимикробных метаболитов у штаммов *B. mojavensis* 14 и *B. vallismortis* 17: mac – макролактин; fen – фенгицин

Fig. 2. The presence of genes encoding the synthesis of antimicrobial metabolites in strains of *B. mojavensis* 14 and *B. vallismortis* 17: mac – macrolactin; fen – fengicin

Заклучение. Таким образом, в результате проведенной работы выделены и отобраны два бактериальных штамма, перспективных в качестве основы пробиотических препаратов, что подтверждено микробиологическими, биохимическими и молекулярно-генетическими исследованиями. Показано, что выделенные культуры характеризуются широким спектром анти-микробной и ферментативной активностей, в их геноме установлено наличие детерминант, ответственных за синтез ряда антимикробных метаболитов, что определяет их высокий биосинтетический потенциал.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Максимьюк, Е. В. Методические рекомендации по снижению ущерба, наносимого рыбоводным организациям представителями сапрофитной и условно-патогенной микрофлоры / РУП «Ин-т рыб. хоз-ва», РУП «Науч.-практ. центр НАН Беларуси по животноводству»; Е. В. Максимьюк, С. В. Полоз, С. М. Дегтярик [и др.]. – Мн.: ИВЦ Минфина, 2024. – 24 с.
2. Скогорева, А. М. Диагностика заразных болезней рыб: учеб. пособие / А. М. Скогорева, О. А. Манжурина, Б. В. Ромашов. – Воронеж: Воронеж. гос. аграр. ун-т им. имп. Петра I, 2016. – 108 с.
3. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней / Р. Рахконен, П. Веннерстрем, П. Ринтамяки, Р. Каннел. – 2-е изд., перераб. и доп. – Хельсинки: НИИ охотничьего и рыб. хоз-ва Финляндии, 2013. – 177 с.
4. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2022 Trends from 2010 to 2022 // European Medicines Agency. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2022-trends-2010-2022-thirteenth-esvac-report_en.pdf (date of access: 17.02.2026).
5. Антибиотики в объектах аквакультуры и их экологическая значимость. Обзор / Л. В. Шульгина, Е. В. Якуш, Ю. П. Шульгин [и др.] // Известия ТИНРО. – 2015. – Т. 181. – С. 216–230
6. Щепеткина, С. В. Организация системы контроля бактериальных болезней, применения антимикробных препаратов в животноводстве и птицеводстве для обеспечения безопасности продукции для жизни и здоровья граждан / С. В. Щепеткина // Инфекция и иммунитет. – 2017. – № 5. – С. 978.
7. Развитие антибиотикорезистентности микроорганизмов у цыплят-бройлеров под влиянием ветеринарных антибиотиков и пробиотика / Д. Г. Тюрина, Е. П. Горфункель, В. А. Филиппова [и др.] // Аграрная наука. – 2024. – Т. 380, № 3. – С. 85–91.
8. Пробиотики и их применение в аквакультуре / Ж. Б. Текебаева, Г. С. Шахабаева, З. С. Сармурзина [и др.] // Новости науки Казахстана. – 2020. – № 4. – С. 170–185.
9. Изучение роли пробиотиков в отношении патогенных бактерий рода *Aeromonas* и *Pseudomonas* в аквакультуре карпа *in vitro* / Ж. Б. Текебаева, А. А. Кулагин, Г. Н. Бисенова [и др.] // Проблемы региональной экологии. – 2022. – № 1. – С. 16–23.
10. Микробиология: методические рекомендации к лабораторным занятиям и контроль самостоятельной работы студентов / авт.-сост. В. В. Лысак, Р. А. Желдакова. – Мн.: БГУ, 2002. – 99 с.
11. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / М. Н. Пименова, Н. Н. Гречушкина, А. И. Нетрусов [и др.]; под ред. Н. С. Егорова. – 3-е изд. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
12. Петрова, И. С. Определение протеолитической активности ферментных препаратов микробиологического происхождения / И. С. Петрова, М. М. Винцонайте // Прикладная биохимия и микробиология. – 1980. – Т. 2, вып. 2. – С. 322–327.

References

1. Maksim'yuk E. V., Poloz S. V., Degtyarik S. M., Slobodnitskaya G. V., Govor T. A., Bespal'y A. V. *Methodological recommendations for reducing the damage caused to fish farming organizations by representatives of saprophytic and opportunistic microflora*. Minsk, Information and Computing Center of the Ministry of Finance, 2024. 24 p. (in Russian).
2. Skogoreva A. M., Manzhurina O. A., Romashov B. V. *Diagnosis of infectious fish diseases: a textbook*. Voronezh, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, 2016. 108 p. (in Russian).
3. Rakhkonen R., Vennerstrom P., Rintamyaki P., Kannel R. Finnish Research Institute of Hunting and Fisheries. *Healthy fish. Prevention, diagnosis and treatment of diseases*. 2nd ed. Helsinki, Finnish Game and Fisheries Institute, 2013. 177 p. (in Russian).
4. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2022 Trends from 2010 to 2022. *European Medicines Agency*. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2022-trends-2010-2022-thirteenth-esvac-report_en.pdf (accessed 17.02.2026).
5. Shul'gina L. V., Yakush E. V., Shul'gin Yu. P., Shenderyuk V. V., Chukalova N. N., Bakholdina L. P. Antibiotics in aquaculture and their ecological significance. A review. *Izvestiya TINRO = Russian Journal of Marine Biology*, 2015, vol. 181, pp. 216–230 (in Russian).
6. Shechetkina S. V. Organization of a system for the control of bacterial diseases, the use of antimicrobial drugs in animal husbandry and poultry farming to ensure the safety of products for the life and health of citizens. *Infektsiya i immunitet* [Infection and immunity], 2017, no. 5, p. 978 (in Russian).

7. Tyurina D. G., Gorfunkel' E. P., Filippova V. A., Laptev G. Yu., Novikova N. I., Iyldyrym E. A. [et al.]. The development of antimicrobial resistance in broilers affected by veterinary antimicrobials and a probiotic administration. *Agrarnaya nauka = Agrarian science*, 2024, vol. 380, no. 3, pp. 85–91 (in Russian).

8. Tekebaeva Zh. B., Shakhbaeva G. S., Sarmurzina Z. S., Bisenova G. N., Urazova M. S., Dosova A. D., Abzhalelov A. B. Probiotics and their use in aquaculture. *Novosti nauki Kazakhstana* [Science news from Kazakhstan], 2020, no. 4, pp. 170–185 (in Russian).

9. Tekebaeva Zh. B., Kulagin A. A., Bisenova G. N., Beisenova R. R., Sarmurzina Z. S. Study of the role of probiotics against pathogenic bacteria of the genus *Aeromonas* and *Pseudomonas* in carp aquaculture *in vitro*. *Problemy regional'noi ekologii* [Problems of regional ecology], 2022, no. 1, pp. 16–23 (in Russian).

10. Lysak V. V., Zheldakova R. A. (auth. comp.). *Microbiology: methodological recommendations for laboratory classes and control of students' independent work*. Minsk, Belarusian State University, 2002. 99 p. (in Russian).

11. Pimenova M. N., Grechushkina N. N., Netrusov A. I., Semenova E. V., Zakharchuk L. M., Zinchenko V. V., Kolutilova N. N., Myl'nikova S. I., Nefelova M. V., Botvinko I. V. *A guide to practical classes in microbiology*. 3rd ed. Moscow, Publishing house of Moscow University, 1995. 224 p. (in Russian).

12. Petrova I. S., Vintsyunaite M. M. Determination of proteolytic activity of enzyme preparations of microbiological origin. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*, 1980, vol. 2, no. 2, pp. 322–327 (in Russian).

Информация об авторах

Самбук Екатерина Андреевна – науч. сотрудник. ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 2, пом. 7, 220084, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: catherinesambuk@yandex.by

Коломиец Эмилия Ивановна – академик, д-р биол. наук, профессор, генеральный директор. ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» (ул. Академика Купревича, 2, пом. 7, 220084, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@biotech.bas-net.by

Information about the authors

Ekaterina A. Sambuk – Scientific Researcher. State Scientific and Production Association “Chemical Synthesis and Biotechnology” (2, Akademika Kuprevicha Str., office 7, 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: catherinesambuk@yandex.by

Emiliya I. Kolomiets – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, General Director. State Scientific and Production Association “Chemical Synthesis and Biotechnology” (2, Akademika Kuprevicha Str., office 7, 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@biotech.bas-net.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.122
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-132-143>

Поступила в редакцию 15.09.2025
Received 15.09.2025

Е. Г. Веремеенко¹, Сянпу Ли¹, А. А. Жизневская¹, Е. С. Покрова¹, А. Г. Зинкевич¹,
М. А. Шапиро², Н. П. Максимова¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕОМА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HeLa И HepG2 ДО И ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ ФЕНАЗИНАМИ

Аннотация. Действие феназиновых соединений в отношении прокариотических организмов изучено достаточно неплохо. Однако в отношении эукариотических клеток существует значительный пробел в этом вопросе.

Целью исследования является протеомный анализ культур клеток HeLa и HepG2 до и после обработки очищенными комплексами феназиновых соединений бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* и идентификация мишеней для феназинов в эукариотических клетках.

В ходе исследования было установлено, что основная масса белков, обнаруженных нами в протеоме культур клеток HeLa и HepG2, задействована в регуляции мембранного потенциала клеток, сигнальных каскадах, вовлеченных в процессы онкогенеза, регуляции кальция в сердечной мышце, функционировании нервной системы и ответе на ксенобиотики. Также было зарегистрировано накопление гистоновых белков и белков-модификаторов хроматина, способствующих его переводу в гетерохроматин в культурах HeLa и HepG2 после обработки феназинами. В то же время содержание ферментов декомпактизации хроматина снижается в обеих культурах. Концентрация некоторых рибосомных белков существенно меняется в культуре клеток HeLa, тогда как в культуре клеток HepG2 регистрируется массовое увеличение их содержания.

Ключевые слова: феназины, протеом, малигнизированные культуры клеток, Metascape-анализ

Для цитирования: Сравнительный анализ протеома в культуре клеток HeLa и HepG2 до и после обработки феназинами / Е. Г. Веремеенко, Сянпу Ли, А. А. Жизневская [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 132–143. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-132-143>

Katsiaryna G. Verameyenka¹, Xiangpu Li¹, Anastasia A. Zhiznevskaya¹, Ekaterina S. Pokrova¹, Alina G. Zinkevich¹,
Mikhail A. Shapiro², Natalia P. Maximova¹

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

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

COMPARATIVE ANALYSIS OF PROTEOME IN HeLa AND HepG2 CELL CULTURES BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH PHENAZINES

Abstract. The effect of phenazine compounds on prokaryotic organisms has been well studied. However, there is a large gap with regard to eukaryotic cells.

The aim of this study is the proteomic analysis of HeLa and HepG2 cell cultures before and after treatment with purified complexes of phenazine compounds from the bacterium *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* and the identification of targets for phenazines in eukaryotic cells.

In the course of this study, most proteins found in the proteome of HeLa and HepG2 cell cultures were found to be involved in the regulation of cell membrane potential, signalling cascades involved in oncogenesis, calcium regulation in cardiac muscle, nervous system function and response to xenobiotics. In addition, an accumulation of histone proteins and chromatin modifiers that promote conversion to heterochromatin was detected in HeLa and HepG2 cultures after phenazine treatment. At the same time, the content of chromatin decompaction enzymes decreases in both cultures. The concentration of some ribosomal proteins changes significantly in the HeLa cell culture, while in the HepG2 cell culture there is a massive increase in their content.

Keywords: phenazines, proteome, malignant cell cultures, Metascape analysis

For citation: Verameyenka K. G., Xiangpu Li, Zhiznevskaya A. A., Pokrova E. S., Zinkevich A. G., Shapiro M. A., Maximova N. P. Comparative analysis of proteome in HeLa and HepG2 cell cultures before and after treatment with phenazines. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 132–143 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-132-143>

Введение. Протеомный анализ стал достаточно популярным методом в исследовании процессов, лежащих в основе малигнизации. Протеомика открыла дополнительные возможности по идентификации потенциальных белков-онкомаркеров и паттернов экспрессии определенных белоксинтезирующих генов, которые могут быть ассоциированы с онкогенезом. Достаточно хорошо известно, что развитие опухолей связано с масштабными изменениями экспрессии генов, формирующими новый эпигенетический ландшафт. Появление или изменение содержания определенных белков в рамках этого ландшафта может дать ценную информацию о типе опухоли, стадии ее развития, дальнейшем прогнозе и лекарственных препаратах, которые наиболее целесообразно использовать для ее терапии [1–3]. Большие надежды возлагаются на то, что протеомика позволит идентифицировать ранние прогностические маркеры, ассоциированные с малигнизацией. Однако еще более важным является то, что протеомный анализ дает возможность установить сигнальные каскады, изменения в которых задействованы в инициации процесса онкогенеза. Это позволяет лучше понять биологию опухолеобразования и использовать знания для разработки новых подходов в терапии онкологических заболеваний [4, 5].

На сегодняшний день созданы базы данных протеомов малигнизированных клеток различных типов, а также получены огромные массивы данных клинической информации, которые интегрированы с данными молекулярной биологии рака [6]. Используя информацию из таких баз, а также результаты, полученные в ходе собственных экспериментальных исследований, ученые всего мира пытаются разработать новые эффективные подходы терапии онкологических заболеваний. И здесь первостепенное значение имеет масштабный анализ реакции культур опухолевых клеток на молекулярном уровне на применение того или иного синтезированного или природного биологически активного соединения.

В качестве источников таких природных соединений с новыми свойствами наибольший интерес представляют растения и микроорганизмы. Представители последней группы более удобны для различного рода генно-инженерных манипуляций, в связи с чем в клетки культивируемых видов микроорганизмов могут быть относительно легко перенесены гены (опероны), ответственные за синтез перспективных соединений, из вновь обнаруженных некультивируемых видов. Однако и потенциал широко известных видов и родов бактерий исчерпан не до конца. Применение новых подходов в метаболомике позволило обнаружить ряд потенциально перспективных соединений, продуцируемых в небольших количествах. Большинство таких соединений относятся ко вторичным метаболитам, имеют в своей структуре ароматические кольца и обладают огромным потенциалом применения в медицине [7, 8]. К таковым можно отнести и феназиновые соединения [8]. Механизмы антимикробной активности данных соединений достаточно неплохо изучены, тогда как их действие на эукариотические клетки остается неизвестным.

Цель исследования – протеомный анализ культур клеток HeLa и HepG2 до и после обработки очищенными комплексами феназиновых соединений бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* и идентификация возможных мишеней для феназинов в эукариотических клетках.

Материалы и методы исследования. В работе использовали комплексы феназиновых соединений штаммов дикого типа B-162 и мутантного штамма B-162/255 бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*. Культивирование бактерий проводили в питательном бульоне в течение 16–18 ч при температуре 28 °С. Выделение феназинов осуществляли согласно методике, описанной в статье [9].

Культуры клеток HeLa и HepG2 выращивали в стандартной среде DMEM с L-глутамином, феноловым красным, с концентрацией глюкозы 4,5 г/л (Lonza, США), 10%-й эмбриональной сывороткой и смесью антибиотиков в концентрации 10 мкг/мл. Культуры поддерживали во влажной атмосфере (5 % CO₂, 37 °С) в CO₂-инкубаторе (Binder, Германия) в культуральных флаконах объемом 25 см³. Пересев культур проводили при достижении ими плотности клеток 10⁶ кл/мл в стерильных условиях в ламинар-боксе HERA Safe (Heraeus, Германия). Микроскопический контроль проводили с помощью инвертированного микроскопа AxioStar Plus (ZEISS, Германия), объектив A-Plan 10x/0.25 Ph 1 Var1 (ZEISS).

Для обработки культур феназинами выбирали сублетальные концентрации данных соединений, равные 200 мкг/мл [10].

Белковое профилирование проводили на базе Национальной антидопинговой лаборатории. Клетки открепляли трипсином, затем к полученной суспензии добавляли калий-фосфатный буфер (рН 7,4), а после этого – Тритон X-100 до конечной концентрации 0,5 %. Смесь выдерживали на шейкере 1–1,5 ч, после этого центрифугировали 15 мин при максимальных оборотах. К полученному осадку добавляли 400 мкл метанола и 200 мкл хлороформа, тщательно перемешивали, а затем центрифугировали 15 мин при максимальных оборотах. После этого верхнюю фазу убрали, к оставшейся фазе добавляли 600 мкл метанола, тщательно перемешивали и центрифугировали 10 мин при 10 000 об/мин. Супернатант сливали, осадок высушивали при комнатной температуре. К образцам добавляли по 30 мкл 50 Ммоль дитиотреитола, инкубировали 30–60 мин при 50 °С, затем добавляли 30 мкл 150 Ммоль йодацетамида. Инкубировали 1 ч при комнатной температуре в темноте. После этого добавляли 300 мкл аммоний бикарбонатного буфера (рН 8,5), хорошо перемешивали. Далее к образцам добавляли 10 мкл раствора трипсина (концентрация – 1 мг/мл) в 100 мМоль аммоний бикарбонатного буфера и инкубировали 16 ч при 37 °С, постоянно перемешивая. Гидролиз останавливали внесением 5 мкл 6 М HCl до рН 1–2, затем центрифугировали 30 мин при максимальных оборотах. Полученные образцы переносили во флаконы и анализировали методом масс-спектрометрии. Масс-спектрометрию проводили на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000, оснащенный квадрупольным масс-селективным и многоволновым спектрофотометрическим детектором Q Exactive Plus (Thermo Scientific, США). Обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Spectrum Mills и пакета анализа данных Panther. Каждый образец анализировали в 3 биологических и 3 технических повторах. Белок идентифицировали как найденный, если в каждом биологическом повторе и не менее чем в 2 из 3 технических повторах было найдено не менее 2 пептидов длиной более 7 аминокислотных остатков. В качестве меры, характеризующей количество интенсивности обнаруженного белка, использовали среднеарифметическое совокупности интенсивности сигналов найденных пептидов, принадлежащих белку. Интенсивность белка считалась приемлемой, если дисперсия интенсивностей во всех совокупных повторах составляла не более половины от абсолютного значения [11].

Относительное содержание белков оценивали с помощью нормирования общего количества белка, использованного в пробоподготовке. Его количество определяли с помощью метода Лоури после осаждения белка из раствора методом метанол-хлороформной преципитации [12]. Также в качестве дополнительного инструмента нормирования использовалась нормализация к белкам домашнего хозяйства. Количество последних было усреднено путем вычисления среднего арифметического совокупности интенсивности пептидов, относящихся к одному белку [13].

Результаты и их обсуждение. В ходе проведения протеомного анализа в высоком качестве, позволяющем сравнивать обработанные и необработанные образцы, было получено 6 835 белков. Проведенные Metascape-анализ и анализ обогащения KEGG позволили определить, что обнаруженные белки в основном относились к регуляторам мембранного потенциала, белкам-компонентам сигнальных каскадов (в том числе сигнальных каскадов, задействованных в канцерогенезе, сигнальных каскадов, запускаемых активацией рецепторных тирозиновых киназ и (или) фермент-ассоциированными рецепторами), белкам, принимающим участие в ответе и (или) регулирующим содержание ионов в цитозоле, а также к белкам, задействованным в ответах на ксенобиотики (рис. 1).

На следующем этапе работы для генов, кодирующих белки, обнаруженные в культурах HeLa и HepG2, для каждой из культур был проведен анализ обогащения путей и процессов с использованием следующих источников онтологии: KEGG Pathway, GO Biological Processes, Reactome Gene Sets, Canonical Pathways, CORUM, WikiPathways и PANTHER Pathway. Все гены в геноме были использованы в качестве фона обогащения. Термины со значением $p < 0,01$, минимальным количеством 3 и фактором обогащения $>1,5$ собирались и группировались в кластеры на основе их сходства. Значения p рассчитывали на основе кумулятивного гипергеометрического распределения, а значения q – с использованием метода Бенджамини – Хохберга для учета множественных тестирований. Каппа-оценки использовали в качестве метрики сходства при выполнении иерархической кластеризации обогащенных терминов. Поддержка со сходством $>0,3$

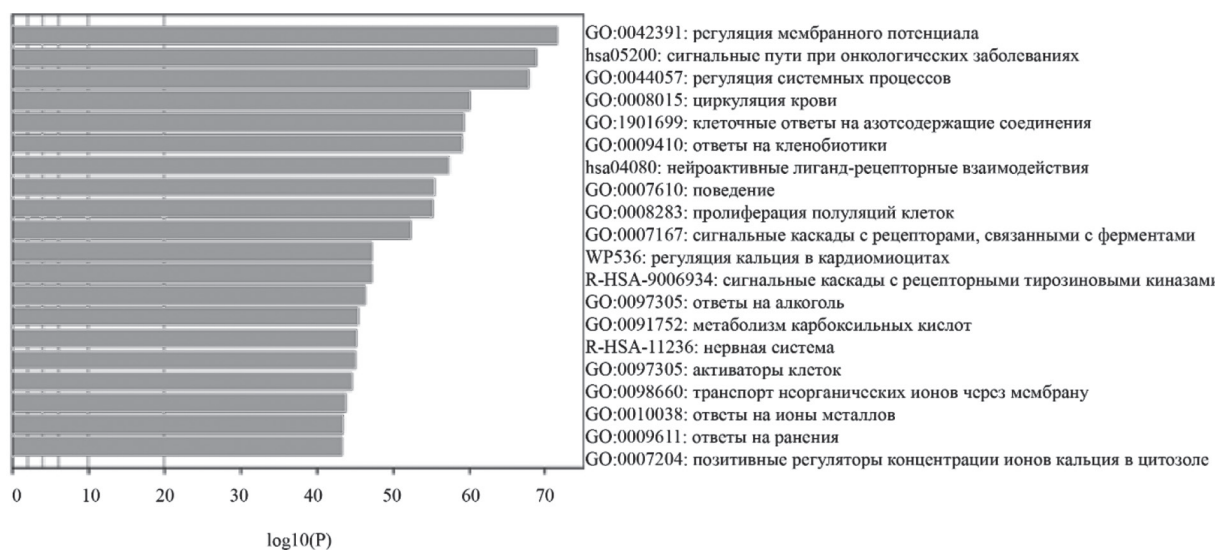


Рис. 1. Столбчатая диаграмма обогащенных терминов (значимые термины были иерархически кластеризованы в дерево на основе Каппа-статистического сходства между их членством в группах кодирующих их генов. В качестве порогового значения для разделения дерева на кластеры терминов использовалось значение Каппа 0,3)

Fig. 1. Bar graph of enriched terms (significant terms were hierarchically clustered into a tree based on Kappa-statistical similarities among their gene groups memberships. The 0.3 Kappa score was applied as the threshold to cast the tree into term clusters)

считали кластером. Для представления кластера выбирается наиболее статистически значимый термин в кластере. Для более точного понимания взаимосвязей между терминами было выбрано подмножество обогащенных терминов, которое было отображено в виде сетевого графика, где термины со степенью сходства $>0,3$ соединены ребрами. Мы отбирали термины с наилучшими p -значениями из каждого из 20 кластеров со следующим ограничением: не более 15 терминов в кластере и не более 250 терминов в целом. Сеть визуализировали с помощью Cytoscape, где каждый узел представляет обогащенный термин и сначала раскрашивается идентификатором кластера (рис. 2, а; 3, а), а затем – его p -значением (рис. 2, б; 3, б). В последнем случае чем темнее цвет, тем статистически более значим узел.

Таким образом, среди идентифицированных нами белков основная масса была задействована в регуляции мембранного потенциала клеток, сигнальных каскадах, вовлеченных в процессы онкогенеза, регуляции кальция в сердечной мышце, функционировании нервной системы и ответе на ксенобиотики.

На следующем этапе работы был проведен анализ и сравнение наличия и содержания белков в культурах до и после обработки феназиновыми соединениями, в результате чего были обнаружены некоторые интересные тенденции.

Так, нами было установлено, что обработка феназиновыми соединениями приводит к появлению гистонов или увеличению их содержания в исследуемых клеточных линиях. Причем данная закономерность была актуальна не только для канонических гистонов, но и для неканонических вариантов, таких как H3.3, H2A.Z и H2A.X. Особенно интересным фактом стало появление в культурах эмбриональной изоформы гистона H3 и H3э. Полученные данные представлены на рис. 4 и для лучшей наглядности дополнительно продублированы в табл. 1.

Увеличение концентрации гистонов приводит к снижению транскрипционных процессов в клетках, в том числе к подавлению активности генов, задействованных в прохождении клеточного цикла. Это, в свою очередь, ведет к снижению уровня пролиферации клеточных культур. Последний параметр, как известно, отличает малигнизированные клетки от нормальных: высокие темпы пролиферации клеток, вступивших на путь малигнизации, ассоциируются с быстрым ростом опухолей и их метастазированием. Накопление гистонов, регистрируемое при обработке феназинами, будет эффективно подавлять эти процессы, что, вероятно, и является одной из причин

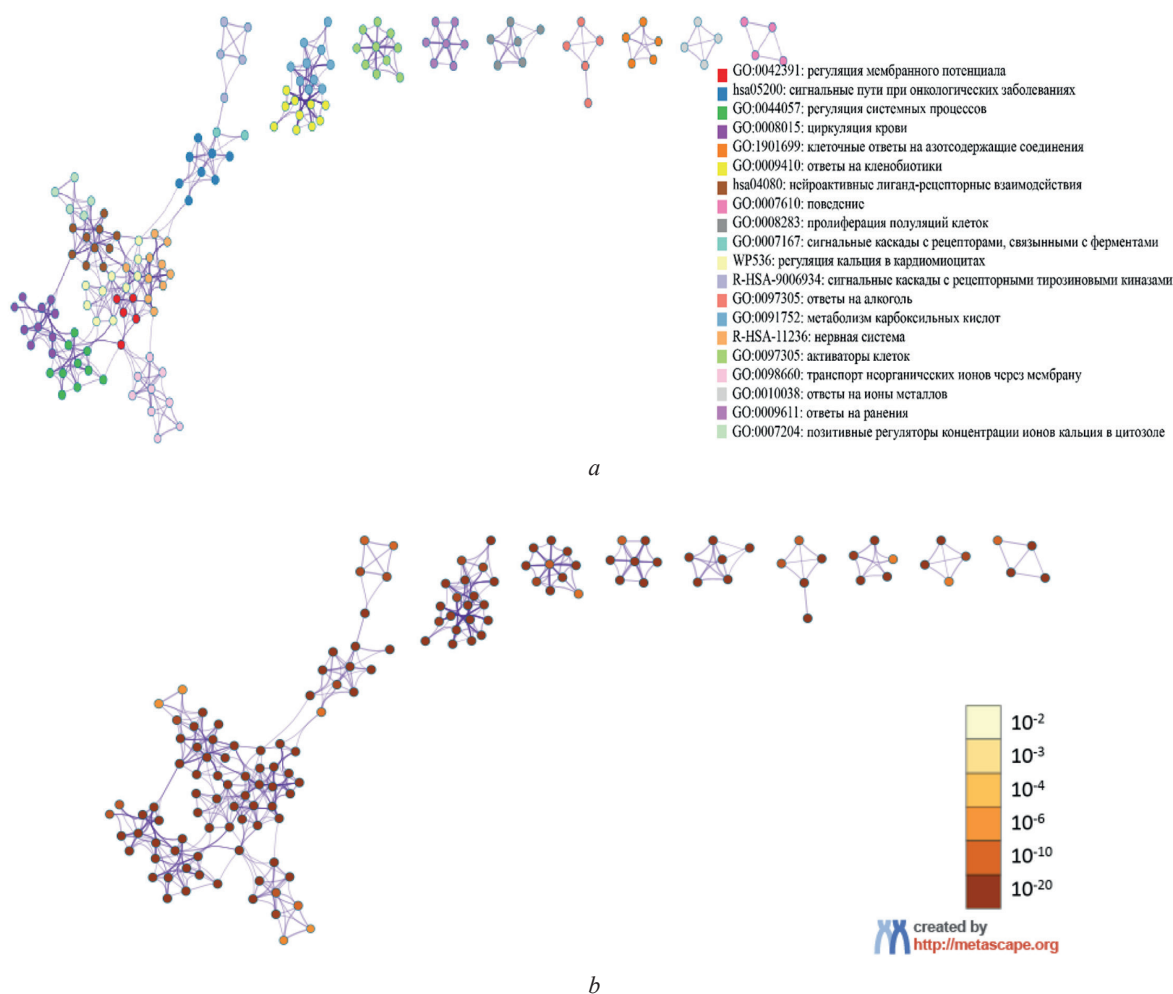


Рис. 2. Сеть обогащенных терминов для генов, кодирующих белки, обнаруженные в культуре клеток HeLa (*a* – окрашено по идентификатору кластера; *b* – окрашено по *p*-значению)

Fig. 2. Network of enriched terms for genes coding proteins found in HeLa cell culture (*a* – colored by cluster ID; *b* – colored by *p*-value)

описанной ранее цитостатической активности феназинов. Появление в культурах клеток неканонических изоформ гистонов, ассоциированных с репарационными процессами, а также с глобальными изменениями таких ключевых молекулярных событий в клетках, как изменение границ TAD-доменов, регуляция транскрипции, взаимодействие хроматид и хромосом, указывает на то, что феназины способны индуцировать масштабные эпигенетические изменения в культурах малигнизированных клеток, блокирующие их дальнейшее размножение и биохимические процессы.

На то, что феназины индуцируют процессы компактизации хроматина, дополнительно указывают обнаруженные нами изменения в содержании ферментов модификации гистонов. Так, например, показано, что в культуре клеток HeLa значительно увеличивается содержание деацетилаз гистонов, способствующих превращению хроматина в гетерохроматин. В культуре клеток HerG2, по-видимому, реализуется несколько иная стратегия: здесь наблюдается снижение концентрации или полное исчезновение ферментов ацетилтрансфераз гистонов. Активность этих ферментов направлена на ацетилирование гистонов и снижение степени компактизации хроматина. Блокировка ацетилтрансфераз гистонов также приводит к формированию гетерохроматина и блокировке транскрипционных процессов.

Еще одной клеточной мишенью для феназинов, судя по всему, являются некоторые рибосомные белки. На рис. 5, *a* представлены данные, полученные для культуры клеток HeLa. Как мы видим, обработка феназиновыми соединениями не оказывала значительного эффекта на относительное содержание большинства белков в культуре HeLa.

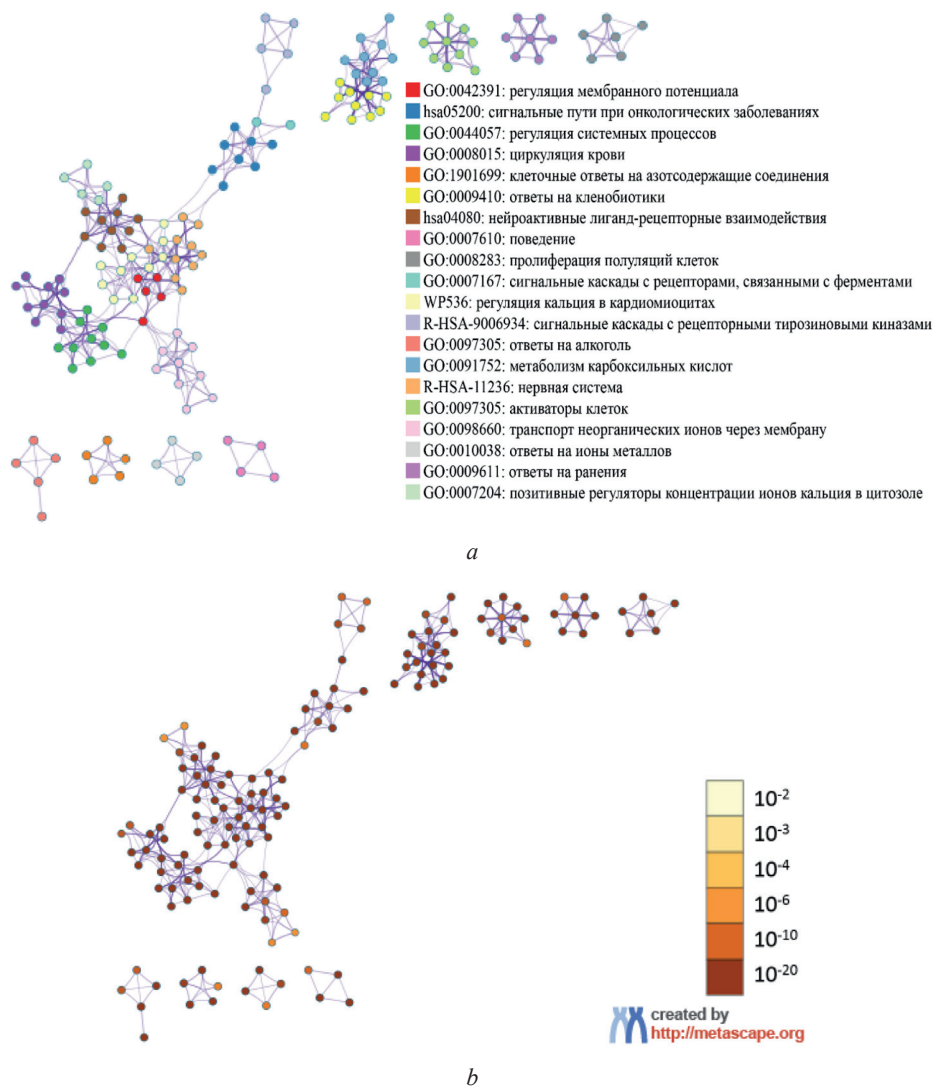


Рис. 3. Сеть обогащенных терминов для генов, кодирующих белки, обнаруженные в культуре клеток HepG2 (a – окрашено по идентификатору кластера; b – окрашено по *p*-значению)

Fig. 3. Network of enriched terms for genes coding proteins found in HepG2 cell culture (a – colored by cluster ID; b – colored by *p*-value)

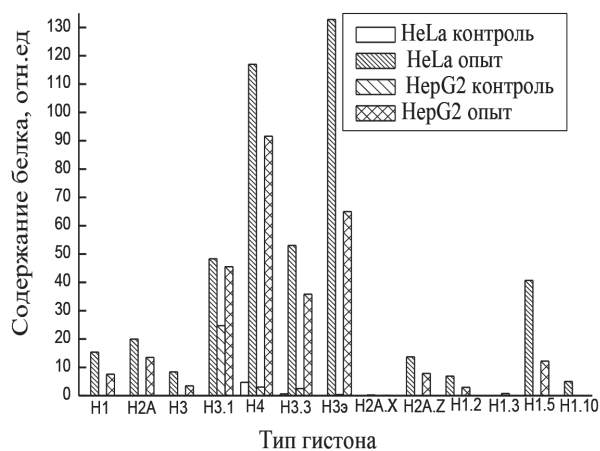


Рис. 4. Относительное содержание гистонов в контрольных и опытных образцах культур HeLa и HepG2

Fig. 4. Relative content of histones in control and experimental samples of HeLa and HepG2 cultures

Таблица 1. Типы гистонов и их относительное содержание в контрольных и опытных образцах культур HeLa и HepG2

Table 1. Types of histones and their relative content in control and experimental samples of HeLa and HepG2 cultures

Тип гистона	Содержание белка, отн. ед. · 10 ⁶			
	HeLa (K)	HeLa (O)	HepG2 (K)	HepG2 (O)
H1	0	15,4	0	7,61
H2A	0	20	0	13,5
H3	0	8,4	0	3,48
H3.1	0	48,3	24,7	45,5
H4	4,68	117	3,03	91,6
H3.3	0,581	53	2,5	35,8
H3 э.	0	132,8	0,4	65
H2A.X	0	0,238	0	0,14
H2A.Z	0	13,7	0	7,91
H1.2	0	6,92	0	2,98
H1.3	0	0	0	0,721
H1.5	0	40,7	0	12,2
H1.10	0	4,99	0	0

Примечание. К – контроль, О – опыт.

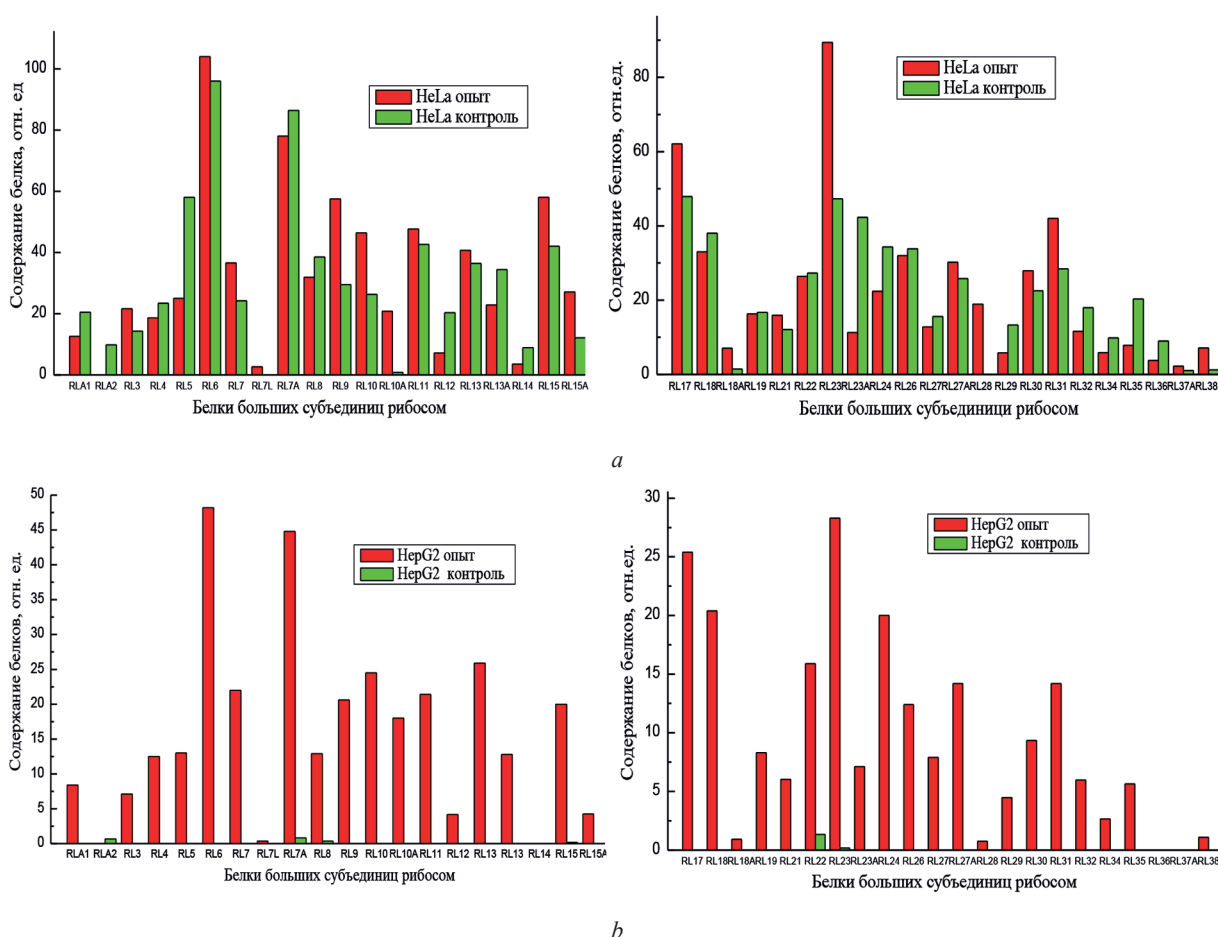


Рис. 5. Относительное содержание белков больших субъединиц рибосом в контрольных и опытных образцах культур HeLa (a) и HepG2 (b) (все числовые значение необходимо умножить на 10⁶)

Fig. 5. The relative content of large ribosomal subunit proteins in control and experimental samples of HeLa (a) and HepG2 (b) cultures (all numerical values must be multiplied by 10⁶)

Однако были обнаружены и достаточно интересные исключения. Так, показано, что в присутствии феназинов полностью подавляется образование RLA2, а содержание RLA1 снижается в 1,6 раза. Оба белка, в отличие от большинства других рибосомных белков, являются кислыми и играют важную роль на этапе элонгации при синтезе полипептидных цепей. Помимо этого, для обоих белков характерны внерибосомные функции. В частности, в период эмбрионального развития они принимают участие в процессах формирования нервной системы как регуляторные белки. Повышенные уровни белка RLA2 (RPLP2) служат негативным прогностическим маркером при гепатоцеллюлярной карциноме за счет ингибирования ферроптоза и усиления гликолиза в аэробных условиях [14, 15]. Увеличенное содержание этого же белка, наряду с RLA1, регистрируется и при карциноме эндометрия матки и ассоциировано с негативным прогнозом выживаемости пациентов [16]. Таким образом, способность феназинов снижать содержание данных белков или полностью блокировать их образование является крайне интересной в практическом плане. Можно также отметить снижение в 2,32 раза уровня рибосомного белка RL5, гиперпродукция которого регистрируется при различных типах опухолей эпителиальных тканей и стимулирует их прогрессию за счет активации MAPK/ERK-сигнального каскада [17]. Известным исключением из списка эпителиальных опухолей, стимулируемых RL5, является гепатоцеллюлярная карцинома. В случае этого типа рака повышение уровня RL5 обладает протективным эффектом за счет блокировки деградации p53 при участии E3-убиквитинлигазы HDM2 (рис. 5, *b*) [18]. Аналогичным эффектом обладают белки RL11 и RL23. В наших исследованиях их концентрации возрастают как в культуре HeLa, так и в культуре HepG2 (рис. 5, *a, b*). Если в культуре клеток HepG2 увеличение содержания RL23 имеет положительное значение, то его рост в HeLa может быть ассоциирован с увеличением резистентности клеток к лекарственным препаратам [19].

Примечательно, что в культуре клеток HepG2 эффект феназинов существенно отличается от такового, наблюдаемого нами в культуре HeLa (рис. 5, *b*). Следует отметить, что уровни рибосомных белков в HepG2 в контроле были значительно ниже, чем в аналогичных условиях в HeLa. Обработка феназинами существенно увеличивала содержание всех исследованных в этом отношении белков в культуре HepG2, за исключением RLA2 (RPLP2), образование которого было подавлено. Наибольший рост был зафиксирован для белков RL6, RL17, RL17A, RL23. В современной научной литературе роль данных белков в онкогенезе двойственна: конкретный описанный эффект зависит от типа опухоли и стадии ее развития. В целом, данные белки, помимо участия в трансляции, могут стимулировать выживание и пролиферацию клеток.

Анализ изменения содержания белков малых субъединиц рибосом продемонстрировал ту же закономерность: в культуре клеток HeLa существенные изменения зафиксированы лишь для отдельных белков, тогда как в культуре клеток HepG2 содержание всех исследованных белков значительно увеличивалось (рис. 6, *a, b*).

Более или менее значительный рост содержания белков после обработки феназинами в HeLa был зарегистрирован для RS2, RS15A, RS17 и RS24. Если последние два белка (RS17 и RS24), помимо участия в процессе трансляции, могут выступать как активаторами, так и ингибиторами малигнизации в зависимости от типа клеток, то первые два белка (RS2 и RS15A) преимущественно активируют деление клеток, и повышение их концентрации ассоциируется с неблагоприятным прогнозом течения заболевания.

С другой стороны, в присутствии феназинов наблюдалось значительное снижение или полное отсутствие других проонкогенных белков малых субъединиц рибосом. Наиболее значительное падение содержания в присутствии феназинов отмечалось для белков RS12, RS15, RS21, RS19, RS28, RS30. Особенно актуальным подавление активности этих белков является для успешной терапии рака простаты, молочных желез, яичников и остеосаркомы, при которых уровни данных белков существенно повышены и способствуют прогрессированию опухолей. Все эти белки рассматриваются в качестве перспективных терапевтических мишеней для лечения перечисленных типов опухолей. Необходимо отметить, что снижение содержания RS12, RS15, RS21, RS19, RS28, RS30 в культуре HeLa блокирует развитие и тех типов эпителиальных опухолей, которые индуцируются при гиперактивации RS2 и RS15A, что является достаточно важным фактором при рассмотрении терапевтического потенциала феназинов.

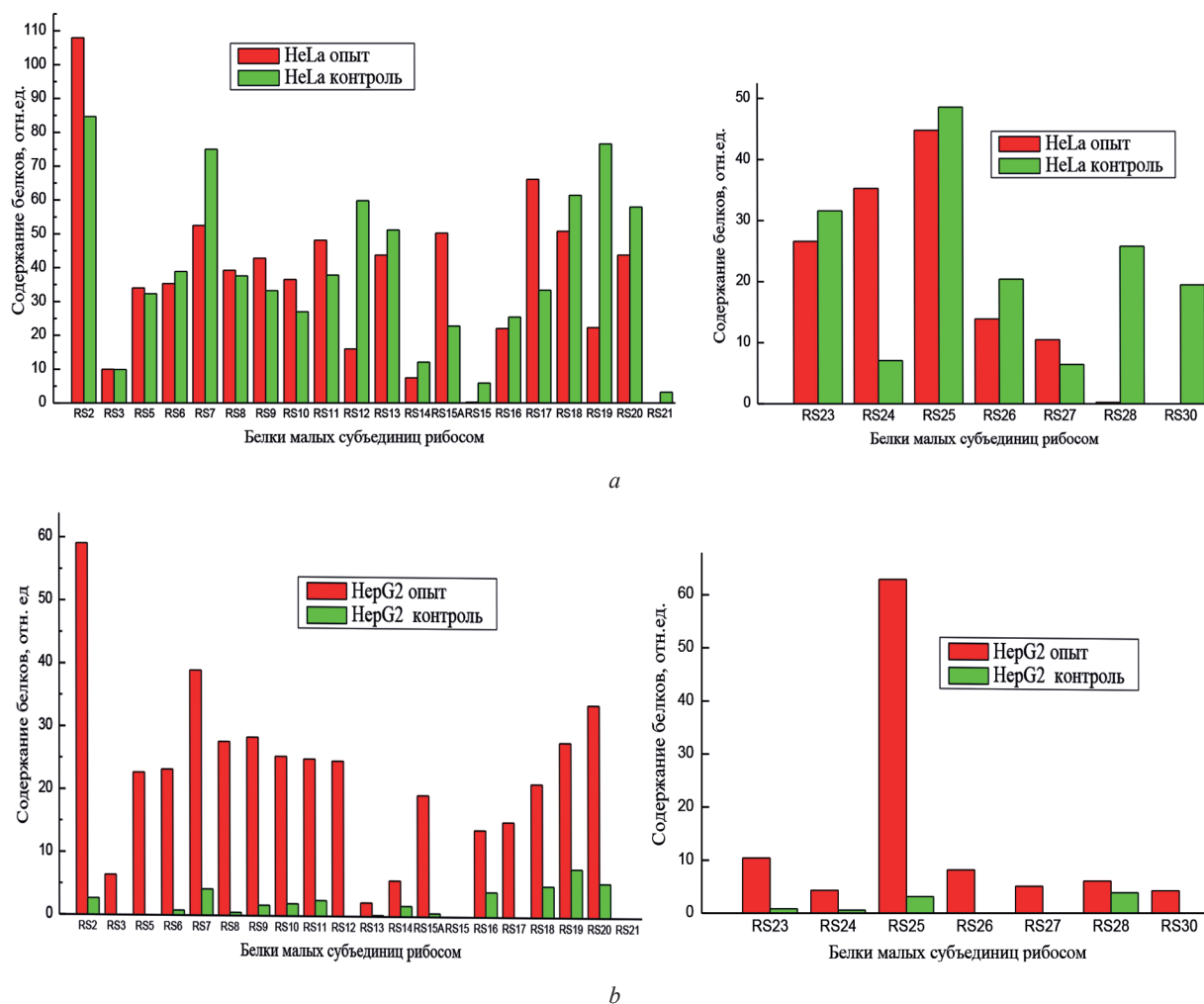


Рис. 6. Относительное содержание белков малых субъединиц рибосом в контрольных и опытных образцах культур HeLa (a) и HepG2 (b) (все числовые значения необходимо умножить на 10⁶)

Fig. 6. The relative content of small ribosomal subunit proteins in control and experimental samples of HeLa (a) and HepG2 (b) cultures (all numerical values must be multiplied by 10⁶)

Заключение. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что феназиновые соединения в клетках эукариотических организмов способны вызывать комплексные изменения и затрагивать иные мишени в отличие от тех, которые являются уязвимыми у микроорганизмов.

Клетки чувствительных к феназинам микроорганизмов чаще всего испытывают сильный окислительный стресс [20], тогда как, согласно нашим данным, у эукариотических организмов наблюдается накопление гистоновых белков и белков-модификаторов хроматина, способствующих его переводу в более плотно упакованное состояние. В то же время ферменты, способствующие образованию эухроматина, подавлены. Это свидетельствует о масштабных эпигенетических изменениях в клетках, что, вероятно, отражается на экспрессии большого числа генов. Еще одной новой мишенью, обнаруженной в ходе данного исследования, стали рибосомные белки. Концентрация некоторых из них существенно меняется в культуре клеток HeLa, тогда как в культуре клеток HepG2 регистрируется массовое увеличение их содержания. Вероятными причинами наблюдаемого эффекта могут быть стимуляция процессов трансляции мРНК белков, принимающих участие в детоксикации ксенобиотиков, которыми для клеток являются феназины, либо формирование рибонуклеопротеидных гранул для защиты мРНК и регуляторных РНК, однако для окончательного ответа на этот вопрос данный феномен требует дополнительных исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках Государственной программы «Биотехнологии-2» подпрограммы «Геномика, эпигеномика и биоинформационный анализ» (№ гранта 20241244) при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь.

Выражаем благодарность В. Э. Сяховичу, канд. биол. наук, доценту, заведующему научно-исследовательской лабораторией УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», Ю. С. Бабакиной, канд. биол. наук, вед. науч. сотруднику этой же лаборатории, за возможность проведения протеомного анализа на базе лаборатории.

Acknowledgements. The study was carried out within the framework of the State Program “Biotechnology-2”, sub-program “Genomics, epigenomics and bioinformation analysis” (grant No. 20241244) with the financial support of the Ministry of Education of the Republic of Belarus.

We would like to express our gratitude to V. E. Syakhovich, Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Research Laboratory of the National Anti-Doping Laboratory, and Yu. S. Babakina, Ph. D. (Biol.), Leading Researcher of the same Laboratory, for the opportunity to conduct proteomic analysis at the laboratory.

Список использованных источников

1. A Pan-cancer molecular subtypes revealed by mass-spectrometry-based proteomic characterization of more than 500 human cancers / F. Chen, D. S. Chandrashekar, S. Varambally, C. J. Creighton // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 5679. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13528-0>
2. High throughput proteomics identifies a high-accuracy 11 plasma protein biomarker signature for ovarian cancer / S. Enroth, M. Berggrund, M. Lycke [et al.] // *Communications Biology*. – 2019. – Vol. 2. – Art. 221. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0464-9>
3. Application of Proteomics in Cancer: Recent Trends and Approaches for Biomarkers Discovery / Y. W. Kwon, H. S. Jo, S. Bae [et al.] // *Frontiers in Medicine*. – 2021. – Vol. 8. – P. 747–760. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.747333>
4. Proteomics in decoding cancer: A review / E. Gheybi, P. Hosseinzadeh, V. Tayebi-Khorrami [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2025. – Vol. 574. – Art. 120132. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2025.120302>
5. Proteomic approaches in the study of cancers / K. U. Nisa, N. Tarfeen, S. Wani [et al.] // *Proteomics. A Promising Approach for Cancer Research* / eds.: S. Ali, S. Majid, M. U. Rehman. – San Diego, 2023. – Ch. 8. – P. 205–217. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-95072-5.00002-x>
6. CancerProteome: a resource to functionally decipher the proteome landscape in cancer / D. Lv, D. Li, Y. Cai [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2024. – Vol. 52, N D1. – P. D1155–D1162. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad824>
7. Giurini, E. F. Redefining bioactive small molecules from microbial metabolites as revolutionary anticancer agents / E. F. Giurini, A. Godla, K. H. Gupta // *Cancer Gene Therapy*. – 2024. – Vol. 31, N 2. – P. 187–206. <https://doi.org/10.1038/s41417-023-00715-x>
8. Antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antiviral activity of bioactive compounds from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Mediterranean Sea, Alexandria, Egypt / A. N. Mohamed, A. K. S. H. Mohamed, A. M. Zahran [et al.] // *Microbial Biosystems*. – 2025. – Vol. 10, N 1. – P. 123–134. <https://doi.org/10.21608/mb.2025.322359.1173>
9. Novel approach of phenazine derivatives isolation from *Pseudomonas* culture medium / M. A. Shapira, K. G. Verameyenko, K. V. Liavonchik [et al.] // *Process Biochemistry*. – 2021. – Vol. 111, N 2. – P. 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.004>
10. The Cytotoxic Activity of Phenazine Compounds from *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* against the HeLa Cell Line / A. A. Zhyzneyskaya, A. A. Lukashevich, N. P. Maksimova, E. G. Veremeenko // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. – 2023. – Vol. 38, N 4. – P. 215–221. <https://doi.org/10.3103/S0891416823040079>
11. Statistical Approach to Protein Quantification / S. Gerster, T. Kwon, C. Ludwig [et al.] // *Molecular and Cellular Proteomics*. – 2014. – Vol. 13, N 2. – P. 666–677. <https://doi.org/10.1074/mcp.m112.025445>
12. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *Journal of Biological Chemistry*. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
13. Expression stability of 13 housekeeping genes during carbon starvation of *Pseudomonas aeruginosa* / B. Alqarni, B. Colley, J. Klebensberger [et al.] // *Journal of Microbiological Methods*. – 2016. – Vol. 127. – P. 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.06.008>
14. Highly expressed RPLP2 inhibits ferroptosis to promote hepatocellular carcinoma progression and predicts poor prognosis / J. Guo, M. Huang, S. Deng [et al.] // *Cancer Cell International*. – 2023. – Vol. 23, N 1. – Art. 278. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03140-0>
15. RPLP2 activates TLR4 in an autocrine manner and promotes HIF-1 α -induced metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma / Q. Yang, X. Meng, J. Chen [et al.] // *Cell Death Discovery*. – 2023. – Vol. 9, N 1. – Art. 440. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01719-0>
16. Expression of the ribosomal proteins Rplp0, Rplp1, and Rplp2 in gynecologic tumors / A. Artero-Castro, J. Castellvi, A. García [et al.] // *Human Pathology*. – 2011. – Vol. 42, N 2. – P. 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.04.020>
17. Ribosomal protein RPL5 regulates colon cancer cell proliferation and migration through MAPK/ERK signaling pathway / H. Zhang, J. Liu, Q. Dang [et al.] // *BMC Molecular and Cell Biology*. – 2022. – Vol. 23, N 1. – Art. 48. <https://doi.org/10.1186/s12860-022-00448-z>
18. Ribosomal proteins in hepatocellular carcinoma: mysterious but promising / Q. Su, H. Sun, L. Mei [et al.] // *Cell and Bioscience*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 133. <https://doi.org/10.1186/s13578-024-01316-3>
19. Targeting RPL23 restores chemosensitivity of cisplatin-resistant ovarian carcinoma by inhibiting EMT / Y. Liu, S. Lai, J. He [et al.] // *Cytotechnology*. – 2022. – Vol. 74, N 3. – P. 421–432. <https://doi.org/10.1007/s10616-022-00535-1>

20. Price-Whelan, A. Rethinking ‘secondary’ metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics / A. Price-Whelan, L. E. Dietrich, D. K. Newman // *Nature Chemical Biology*. – 2006. – Vol. 2. – P. 71–78. <https://doi.org/10.1038/nchembio764>

References

1. Chen F., Chandrashekar D. S., Varambally S., Creighton C. J. A Pan-cancer molecular subtypes revealed by mass-spectrometry-based proteomic characterization of more than 500 human cancers. *Nature Communications*, 2019, vol. 10, art. 5679. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13528-0>
2. Enroth S., Berggrund M., Lycke M., Broberg J., Lundberg M., Assarsson E., Olovsson M., Stålborg K., Sundfeldt K., Gyllensten U. High throughput proteomics identifies a high-accuracy 11 plasma protein biomarker signature for ovarian cancer. *Communications Biology*, 2019, vol. 2, art. 221. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0464-9>
3. Kwon Y. W., Jo H. S., Bae S., Seo Y., Song P., Song M., Yoon J. H. Application of Proteomics in Cancer: Recent Trends and Approaches for Biomarkers Discovery. *Frontiers in Medicine*, 2021, vol. 8, pp. 747–760. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.747333>
4. Gheybi E., Hosseinzadeh P., Tayebi-Khorrami V., Rostami M., Soukhtanloo M. Proteomics in decoding cancer: A review. *Clinica Chimica Acta*, 2025, vol. 574, art. 120132. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2025.120302>
5. Nisa K. U., Tarfeen N., Wani S., Nisa Q., Ali Sh., Wali A. F. Proteomic approaches in the study of cancers. *Proteomics. A Promising Approach for Cancer Research*. San Diego, 2023, ch. 8, pp. 205–217. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-95072-5.00002-x>
6. Lv D., Li D., Cai Y., Guo J., Chu S., Yu J., Liu K., Jiang T., Ding N., Jin X., Li Y., Xu J. CancerProteome: a resource to functionally decipher the proteome landscape in cancer. *Nucleic Acids Research*, 2024, vol. 52, no. D1. pp. D1155–D1162. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad824>
7. Giurini E. F., Godla A., Gupta K. H. Redefining bioactive small molecules from microbial metabolites as revolutionary anticancer agents. *Cancer Gene Therapy*, 2024, vol. 31, no. 2, pp. 187–206. <https://doi.org/10.1038/s41417-023-00715-x>
8. Mohamed A. N., Mohamed A. K. S. H., Zahran A. M., Gad A. M., Mekky A. E. Antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antiviral activity of bioactive compounds from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Mediterranean Sea, Alexandria, Egypt. *Microbial Biosystems*, 2025, vol. 10, no. 1, pp. 123–134. <https://doi.org/10.21608/mb.2025.322359.1173>
9. 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, no. 2, pp. 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.004>
10. Zhyzneyskaya A. A., Lukashovich A. A., Maksimova N. P., Veremeenko E. G. The Cytotoxic Activity of Phenazine Compounds from *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* against the HeLa Cell Line. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2023, vol. 38, no. 4, pp. 215–221. <https://doi.org/10.3103/S0891416823040079>
11. Gerster S., Kwon T., Ludwig C., Matondo M., Vogel C., Marcotte E. M., Aebersold R., Bühlmann P. Statistical Approach to Protein Quantification. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2014, vol. 13, no. 2, pp. 666–677. <https://doi.org/10.1074/mcp.m112.025445>
12. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
13. Alqarni B., Colley B., Klebensberger J., McDougald D., Rice S. A. Expression stability of 13 housekeeping genes during carbon starvation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiological Methods*, 2016, vol. 127, pp. 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.06.008>
14. Guo J., Huang M., Deng S., Wang H., Wang Z., Yan B. Highly expressed RPLP2 inhibits ferroptosis to promote hepatocellular carcinoma progression and predicts poor prognosis. *Cancer Cell International*, 2023, vol. 23, no. 1, art. 278. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03140-0>
15. Yang Q., Meng X., Chen J., Li X., Huang Y., Xiao X., Li R., Wu X. RPLP2 activates TLR4 in an autocrine manner and promotes HIF-1 α -induced metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Discovery*, 2023, vol. 9, no. 1, art. 440. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01719-0>
16. Artero-Castro A., Castellvi J., García A., Hernández J., Ramón y Cajal S., LLeonart M. E. Expression of the ribosomal proteins Rplp0, Rplp1, and Rplp2 in gynecologic tumors. *Human Pathology*, 2011, vol. 42, no. 2, pp. 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.04.020>
17. Zhang H., Liu J., Dang Q., Wang X., Chen J., Lin X., Yang N., Du J., Shi H., Liu Y., Han J. Ribosomal protein RPL5 regulates colon cancer cell proliferation and migration through MAPK/ERK signaling pathway. *BMC Molecular and Cell Biology*, 2022, vol. 23, no. 1, art. 48. <https://doi.org/10.1186/s12860-022-00448-z>
18. Su Q., Sun H., Mei L., Yan Y., Ji H., Chang L., Wang L. Ribosomal proteins in hepatocellular carcinoma: mysterious but promising. *Cell and Bioscience*, 2024, vol. 14, art. 133. <https://doi.org/10.1186/s13578-024-01316-3>
19. Liu Y., Lai S., He J., Wan J., Fu F., Jinlong Y. Targeting RPL23 restores chemosensitivity of cisplatin-resistant ovarian carcinoma by inhibiting EMT. *Cytotechnology*, 2022, vol. 74, no. 3, pp. 421–432. <https://doi.org/10.1007/s10616-022-00535-1>
20. Price-Whelan A., Dietrich L. E., Newman D. K. Rethinking ‘secondary’ metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. *Nature Chemical Biology*, 2006, vol. 2, pp. 71–78. <https://doi.org/10.1038/nchembio764>

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

Сяну Ли – аспирант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lixiangpu3@gmail.com

Жизневская Анастасия Анатольевна – выпускник кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasia.zhyzneyskaya@gmail.com

Покрова Екатерина Сергеевна – выпускник кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ekaterinapokrova01@gmail.com

Зинкевич Алина Геннадьевна – выпускник кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zinkevicalina02@gmail.com

Шапиро Михаил Анатольевич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shapiromihailanatolevich@gmail.com

Максимова Наталья Павловна – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры генетики. 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, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veremeenkoKatya@yandex.ru

Xiangpu Li – Postgraduate Student. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lixiangpu3@gmail.com

Anastasia A. Zhiznevskaya – Graduate of the Department of Genetics. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasia.zhyzneyskaya@gmail.com

Ekaterina S. Pokrova – Graduate of the Department of Genetics. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ekaterinapokrova01@gmail.com

Alina G. Zinkevich – Graduate of the Department of Genetics. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zinkevicalina02@gmail.com

Mikhail A. Shapiro – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shapiromihailanatolevich@gmail.com

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК [577.21:578.891'21]:616.36-002-052-074

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-144-156>

Поступила в редакцию 24.02.2026

Received 24.02.2026

О. В. Осипкина

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ ТТВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ЦЕЛЕВЫХ ГРУПП ПАЦИЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА

Аннотация. В результате проведенных исследований выбрана мишень генома Torque Teno Virus (TTV), разработан набор праймеров и TaqMan-зонда, фланкирующих консервативный регион длиной 111 п. н. (позиции нуклеотидов 103–213 референсного генома TTV TA278 GenBank: AB017610.1), ставший основой молекулярно-генетического метода диагностики TTV-инфекции, позволяющего выявлять и рассчитывать вирусную нагрузку TTV в биологическом материале человека. С помощью разработанного молекулярно-генетического метода обнаружена высокая частота выявления ДНК TTV в плазме (71,4–90,4 %) и в лейкоцитарной фракции крови (81,0–97,1 %) как в контрольной группе, так и у пациентов со вторичным иммунодефицитом, с ВИЧ-инфекцией и тяжелым течением инфекции COVID-19. Определена вирусная нагрузка TTV в целевых группах. Выявлена значимо более низкая медиана вирусной нагрузки TTV в лейкоцитарной фракции крови контрольной группы – 2,58 [1,66; 3,25] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток, чем в группе пациентов со вторичным иммунодефицитом – 3,67 [1,88; 4,47] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток ($p = 0,0014$), пациентов с ВИЧ-инфекцией – 3,84 [3,09; 4,20] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток ($p < 0,001$) и в группе пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19, точка 1 – 3,67 [3,09; 3,91] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток ($p < 0,001$).

Ключевые слова: TTV, молекулярно-генетический метод, праймеры, ПЦР, вирусная нагрузка

Для цитирования: Осипкина, О. В. Определение вирусной нагрузки TTV в биологическом материале целевых групп пациентов с использованием молекулярно-генетического метода / О. В. Осипкина // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сэрыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 144–156. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-144-156>

Olga V. Osipkina

Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

DETERMINATION OF TTV VIRAL LOAD IN BIOLOGICAL MATERIAL OF TARGET PATIENT GROUPS USING A MOLECULAR GENETIC METHOD

Abstract. As a result of the conducted research, a target of the Torque Teno Virus (TTV) genome was selected, a set of primers and a TaqMan probe were developed flanking a conserved region of 111 nucleotide pairs (nucleotide positions 103–213 of the TTV reference genome TA278 GenBank: AB017610.1). This probe formed the basis of a molecular genetic method for diagnosing TTV infection, allowing for the detection and calculation of TTV viral load in human biological material. Using the developed molecular genetic method, a high frequency of TTV DNA detection was detected in plasma (71.4–90.4 %) and in the leukocyte fraction of blood (81.0–97.1 %), in both in the control group and in patients afflicted with secondary immunodeficiency, with HIV infection, and severe COVID-19 infection. The TTV viral load in the target groups was determined. A significantly lower median TTV viral load was found in the leukocyte fraction of blood in the control group – 2.58 [1.66; 3.25] \log_{10} TTV DNA copies/ 10^5 cells, than in the group of patients with secondary immunodeficiency – 3.67 [1.88; 4.47] \log_{10} TTV DNA copies/ 10^5 cells ($p = 0.0014$), patients with HIV infection – 3.84 [3.09; 4.20] \log_{10} TTV DNA copies/ 10^5 cells ($p < 0.001$) and in the group of patients with severe COVID-19 infection, point 1 – 3.67 [3.09; 3.91] \log_{10} TTV DNA copies/ 10^5 cells ($p < 0.001$).

Keywords: TTV, molecular genetic method, primers, PCR, viral load

For citation: Osipkina O. V. Determination of TTV viral load in biological material of target patient groups using a molecular genetic method. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya biyagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 144–156 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-144-156>

Введение. Torque Teno Virus (TTV) таксономически относится к семейству *Anelloviridae* роду *Alphatorquevirus*, включающему более десятка видов, названия которых, согласно рекоменда-

ям Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), с 2021 г. оформляют в бинамиальном формате: *Alphatorquevirus homin 1* (новое название вида *Torque teno virus 1* (TTV 1)) [1–3], но во многих публикациях традиционно используют название вируса TTV, полученное после его открытия в 1997 г. [4, 5]. Ранее для разграничения видов и родов был установлен порог идентичности последовательностей в 65 и 44 % соответственно; в последние годы предложено новое пороговое значение для разграничения видов – 69 %, основанное на кодирующей открытой рамке считывания (ORF) ORF1 анелловирусов [5, 6]. Есть мнение, что полное разнообразие анелловирусов человека, «глобальный анеллом», и механизмы, способствующие его сохранению, остаются в значительной степени неизученными [7], и текущее положение ICTV для семейства *Anelloviridae* не отражает его постоянно растущего разнообразия [6].

Согласно литературным источникам анелловирусы имеют высокую распространенность среди населения мира – более 70 % [8], а по некоторым оценкам, даже свыше 90 % [9, 10]. Частота выявления может варьировать в зависимости от чувствительности используемого метода и от географического региона. Распространенность TTV у детей также высока и увеличивается с возрастом. Так, в некоторых опубликованных исследованиях отмечается, что встречаемость вируса у детей в возрасте от 1 года до 3 лет составляет 75,5 % [8], в возрасте 1, 4 и 42 месяцев – у 6, 34 и 90 % детей соответственно [11]. С развитием методов высокопроизводительного секвенирования было обнаружено, что анелловирусы являются ключевым элементом человеческого виroma, составляя наибольшую долю виroma крови, по некоторым оценкам, до 97 % [12], а одновременное обнаружение различных родов, видов и генотипов у одного и того же человека является скорее правилом, чем исключением [5]. Высокая распространенность, в том числе среди детей и в группах здоровых и доноров [13], гетерогенность и пантропизм [7] обусловили гипотезу о непатогенности TTV [14]. Важно отметить следующее: поскольку считается, что TTV не является основным этиологическим агентом конкретного заболевания, акцент делают не только на выявлении вируса, а на его концентрации, вирусной нагрузке, которая может меняться в зависимости от состояния иммунной системы [13]. В последние годы многие исследования, касающиеся TTV, направлены на изучение вирусной нагрузки TTV в качестве биомаркера иммуносупрессии в трансплантологии и других областях, таких как ревматология, онкология и инфекционные заболевания [15]. Цель многонационального клинического исследования TTV GUIDE TX, которое объединило 19 партнеров из 7 европейских стран, – персонализация иммуносупрессии путем мониторинга вирусной нагрузки TTV после трансплантации почки для оптимизации иммуносупрессивной терапии [16]. Выдвинута идея иммунного мониторинга с использованием вирусной нагрузки TTV: низкая нагрузка TTV является индикатором сильной иммунной реакции и, следовательно, связана с отторжением трансплантата, в то время как высокая нагрузка TTV связана с более высоким риском инфекций, но не с отторжением трансплантата [13]. Описаны исследования, в которых изучается связь вирусной нагрузки TTV с исходом инфекции SARS-CoV-2 [17, 18], показана обратная корреляция между вирусной нагрузкой TTV и количеством CD4⁺ Т-клеток в плазме крови ВИЧ-инфицированных пациентов и снижением вирусной нагрузки TTV при эффективной антиретровирусной терапии [19]. Таким образом, изучение возможностей использования вирусной нагрузки TTV в качестве маркера иммуносупрессии обуславливает актуальность разработки и стандартизации качественных и количественных методов выявления.

Вложенная ПЦР была одной из первых молекулярных методик, использованных для обнаружения TTV, и остается ценным методом для исследовательских задач, требующих высокой чувствительности [7]. Этот метод включает два раунда ПЦР-амплификации, тем самым повышая чувствительность, что особенно важно для идентификации TTV в образцах с минимальным количеством вирусной ДНК. В то же время вложенная ПЦР имеет существенные ограничения, включая высокий риск перекрестного загрязнения из-за множественных этапов амплификации и отсутствие количественных возможностей, что делает ее непригодной для клинического мониторинга.

Наиболее широко используемым методом обнаружения TTV является количественная ПЦР (кПЦР), которая обеспечивает чувствительный и специфический подход к измерению вирусной нагрузки в клинических и исследовательских условиях. Анализы кПЦР обычно нацелены

на консервативные области генома TTV, такие как нетранслируемая область (UTR), которая менее подвержена влиянию обширного генетического разнообразия вируса [7]. В геноме *Anelloviridae* обнаружен специфический регион длиной приблизительно 130 нуклеотидов, расположенный непосредственно ниже внутреннего промотора, а именно ТАТА-бокса (АТААА), этот регион содержит высококонсервативные участки на обоих концах и специфические для TTV, TTMDV (ТТ midi viruses) или TTMV (ТТ mini viruses) последовательности в центральной области [9]. Было разработано несколько наборов праймеров, которые часто используются в исследованиях для выявления и оценки вирусной нагрузки, в том числе в работах F. Maggi et al. [20] и M. Ninomiya et al. [9]. Среди коммерческих анализов набор TTV R-GENE® (bioMérieux, Марсиль-Этуаль, Франция) широко используется в клинических лабораториях для стандартизированного количественного определения TTV [16].

Праймеры вносят весомый вклад в эффективность ПЦР, в связи с чем немало работ посвящено их дизайну [21–23]. Основными параметрами праймеров являются длина (оптимально 18–25 нуклеотидов), последовательность нуклеотидов, вероятность формировать различные вторичные структуры, размер ожидаемого ампликона, GC-состав (40–60 %), температура плавления, модификация структуры. Температура отжига праймеров зависит от температуры плавления образующих ими дуплексов с матрицей ДНК, однако подсчет температуры плавления зависит от используемых формул и алгоритмов, поэтому помимо определения температур отжига расчетным путем рекомендуется экспериментальное установление их оптимума [21]. Также для расширения возможностей ПЦР, несмотря на более высокую стоимость, используются различные модифицированные праймеры (например, LNA, Locked Nucleic Acid). Конформационно заблокированные нуклеозиды (LNA) имеют фиксированную конформацию рибозного фрагмента (метиленовый мостик между кислородом в 2'-положении и углеродом – в 4'-положении), что придает модифицированным праймерам повышенную термостойкость и устойчивость к деградации нуклеазами и приводит к повышению энергии связи между комплементарными парами оснований [21, 22].

Помимо праймеров и зондов, использование разных наборов для выделения нуклеиновых кислот, амплификаторов, расходных материалов и стандартов также может приводить к значительным отличиям в количественном определении количества вируса TTV [14].

Таким образом, в основе дальнейших работ по изучению генетического разнообразия TTV и его роли в качестве потенциального маркера иммуносупрессии лежит разработка и стандартизация методов обнаружения, дифференциации и количественного определения всех генотипов и (или) геногрупп семейства *Anelloviridae*, а также методов обнаружения перенесенных инфекций и иммунологических реакций на инфекции анелловирусами.

Цель работы – оценить возможность использования молекулярно-генетического метода диагностики TTV-вирусной инфекции, основанного на анализе консервативного участка генома TTV с помощью разработанных праймеров и TaqMan-зонда с оригинальной структурой, для выявления и определения вирусной нагрузки TTV в различном биологическом материале целевых групп пациентов.

Материалы и методы исследования. Для определения частоты выявления и вирусной нагрузки TTV был отобран биологический материал в нескольких целевых группах пациентов. Исследование проведено на базе научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) Гомельского государственного медицинского университета, одобрено этическим комитетом (протокол № 3 от 03.10.2019). Участниками исследования являлись жители г. Гомеля или Гомельской обл. Они были проинформированы о целях исследования и предстоящих процедурах (получено информированное письменное согласие).

Целевые группы пациентов:

контрольная группа – здоровые добровольцы (плазма и лейкоцитарная фракция крови); $n = 91$; 16 (17,6 %) мужчин, 75 (82,4 %) женщин, медиана возраста – 40,00 [25,00; 49,50];

группа «Вторичный иммунодефицит» – пациенты с установленным диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния на фоне основного заболевания, находившиеся на стационарном лечении в гематологическом отделении для взрослых РНПЦ радиационной медицины и экологии человека; $n = 28$ (в том числе плазма и лейкоцитарная фракция крови ($n = 21$), слюна ($n = 25$,

назофарингеальные мазки ($n = 24$); 12 (42,9 %) мужчин, 16 (57,1 %) женщин, медиана возраста – 65,50 [53,00; 73,00];

группа «Тяжелое течение инфекции COVID-19» – пациенты (плазма и лейкоцитарная фракция крови) с установленной коронавирусной инфекцией COVID-19 (U07.1 COVID-19, вирус идентифицирован), с тяжелым течением, ассоциированным с пневмонией, находившиеся на стационарном лечении в Гомельской городской клинической больнице № 3, Гомельской областной туберкулезной клинической больницы; $n = 104$; 55 (52,9 %) мужчин, 49 (47,1 %) женщин, медиана возраста – 66,00 [60,00; 72,25]; 100 % пациентов имели концентрацию ИЛ-6 в плазме крови, превышающую 10 пг/мл (референсное значение для группы здоровых согласно инструкции производителя наборов реагентов для выявления ИЛ-6);

группа «ВИЧ» – ВИЧ-инфицированные пациенты (плазма и лейкоцитарная фракция крови), получавшие медицинскую помощь в стационарных и амбулаторных условиях Гомельской областной инфекционной клинической больницы; $n = 116$; 58 (50,00 %) мужчин, 58 (50,00 %) женщин, медиана возраста – 45,50 [41,00; 51,00]; 76,7 % из всех пациентов имели неопределяемый уровень вирусной нагрузки.

В группе пациентов с тяжелым течением COVID-19 вирусная нагрузка TTV была определена в динамике в двух точках: на момент поступления пациента в стационар (точка 1) и через несколько дней пребывания в стационаре (точка 2). В среднем период наблюдения составил $13,55 \pm 7,07$ дней.

Для выявления частоты и определения вирусной нагрузки TTV в биологическом материале целевых групп пациентов использован молекулярно-генетический метод диагностики TTV-вирусной инфекции. Метод основан на анализе консервативного участка генома TTV с помощью разработанных праймеров с оригинальной структурой, в формате полимеразной цепной реакции с детекцией в реальном времени (инструкция по применению № 014-0525 «Метод количественного определения вирусов TTV в биологическом материале») [24, 25]. Экстракцию нуклеиновых кислот из образцов биологического материала проводили с использованием набора реагентов «РИБО-преп» («АмплиСенс», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация), согласно инструкции производителя. Синтез праймеров и зондов осуществлен в ООО «АртБиоТех» (Республика Беларусь); для проведения ПЦР использованы реагенты этого же производителя. Реакцию амплификации, анализ и учет результатов проводили при помощи амплификатора Rotor Gene Q (QIAGEN, Германия). Программа амплификации: денатурация 1 цикл – 95 °C, 15 мин; 45 циклов (95 °C – 5 с, 63 °C – 10 с, 67 °C – 10 с), каналы детекции HEX/Yellow (TTV) и FAM/Green (β -глобин).

В плазме крови пациентов с инфекцией COVID-19 и ВИЧ-инфекцией методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением микропланшетного фотометра Sunrise (Tecan, Австрия) и наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Российская Федерация) определены, согласно инструкции производителя, концентрации следующих маркеров: интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-8 (ИЛ-8), интерлейкин-10 (ИЛ-10), С-реактивный белок (СРБ), фактор некроза опухолей-альфа (альфа-ФНО); в плазме пациентов с ВИЧ-инфекцией определена концентрация интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β), в плазме пациентов с тяжелой инфекцией COVID-19 дополнительно определена концентрация иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2.

Статистический анализ данных выполнялся с помощью языка программирования R v.4.5.2 с использованием экосистемы tidyverse (2.0.0) и пакетов tggstatsplot (0.12.1), rstatix (0.7.2) и irr (0.84.1). Описание количественных признаков представлено в виде среднего значения и стандартного отклонения (Mean (SD)) в случае соответствия эмпирического распределения признаков нормальному распределению или в виде медианы и квартилей (Me (Q1; Q3)), минимума и максимума для оценки диапазона разброса значений показателя (min; max), когда признак имеет отличное от нормального распределение. Для подсчета медианы вирусной нагрузки в целевых группах были использованы все полученные значения, в том числе и ниже количественного порога обнаружения [26]. Образцам с неопределяемой нагрузкой ДНК TTV было присвоено значение 0 для целей анализа. Для проверки соответствия распределения количественных данных нормальному распределению применялся критерий Шапиро – Уилка (W). Категориальные дан-

ные представлены в виде абсолютных частот и относительных долей (%). Для определения значимости различий количественных показателей в независимых группах применялся U -критерий Манна – Уитни, в связанных выборках – W -критерий Вилкоксона. При сравнении трех и более независимых групп использовался тест Краскела – Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями методом Данна. Для анализа категориальных признаков в независимых группах применялся критерий χ^2 Пирсона (с поправкой Йетса для таблиц сопряженности 2×2); оценка силы связи проводилась с помощью V -коэффициента Крамера. Для сопоставления качественных методов диагностики (связанные выборки) использовались специфические критерии: при сравнении двух методов применялся тест Мак-Немара ($\chi^2_{McNemar}$), при сравнении трех и более методов — критерий Кохрена (Q). В случае обнаружения статистически значимых различий проводились попарные сравнения с использованием поправки на множественные проверки по методу Холма. Оценка степени согласованности методов выполнена с помощью коэффициентов каппа Коэна (для парного сравнения, k_{Cohen}) и каппа Фляйса (для оценки совокупного согласия трех и более методов, k_{Fleiss}). Взаимосвязь количественных признаков оценивалась с помощью непараметрического коэффициента корреляции ρ Спирмена (ρ_{Sp}). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принят равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. На основании литературных данных [9, 20, 27], а также проведенных и опубликованных собственных исследований [25, 28–30] выявлено, что наиболее информативным для выявления выступает консервативный регион генома TTV (позиции нуклеотидов 99–240 референсного генома TTV TA278 GenBank: AB017610.1), что позволяет использовать его в качестве мишени для дальнейшей разработки набора праймеров с целью диагностики TTV-вирусной инфекции. В связи с отсутствием в базе данных NCBI (National Center for Biotechnology Information) референсных геномов TTV в качестве референсного использован геном TTV TA278 (GenBank: AB017610.1), являющийся прототипным изолятом [31].

С использованием выбранной мишени генома TTV с учетом термодинамических параметров разработан набор праймеров и TaqMan-зонда (TTV-прямой-5'-cc[+g]aatg[+g][+c]tgagtt-3' ([+N] – LNA-модификация), TTV-обратный-5'-gcccttgactbcgg-3', TTV-зонд-5'-HEX-cggcaccgcccct-MGB-BHQ1-3'), фланкирующих консервативный регион длиной 111 п. н. (позиции нуклеотидов 103–213 референсного генома TTV TA278 GenBank: AB017610.1), позволяющий осуществлять диагностику TTV-вирусной инфекции [25]. Отжиг праймеров на участке генома TTV, визуализированный с помощью программного обеспечения SnapGene, показан на рис. 1.



Рис. 1. Отжиг праймеров на участке генома TTV TA278 GenBank: AB017610.1

Fig. 1. Primer annealing on the TTV genome region TTV TA278 GenBank: AB017610.1

Основные параметры праймеров, разработанных для диагностики TTV-вирусной инфекции, приведены в табл. 1.

В состав TaqMan-зонда включен 1,2-дигидро-(3H)-пиролло[3,2-е]индол-7-карбоксилат (CDPI3), интеркалирующий в малую бороздку ДНК (Minor Groove Binder, MGB), а для одного из праймеров использованы LNA-модификации. Применение TaqMan-зондов с MGB имеет несколько преимуществ, благодаря которым они используются для вирусологической диагностики: повышение температуры плавления, более низкий фоновый сигнал, что улучшает точность количественного определения и обеспечивает более высокую чувствительность и специфичность [32]. Включение

Таблица 1. Основные параметры праймеров, разработанных для диагностики ТТV-вирусной инфекции
Table 1. Main parameters of primers developed for the diagnosis of TTV virus infection

Нуклеотидная последовательность праймеров (5'→3'), длина, позиция нуклеотидов	Температура плавления, °C	GC-состав, %	Самокомплементарность праймеров	Самокомплементарность праймеров в 3'-концевых областях
CCGAATGGCTGAGTT, 15 п. н. 103–117	49,49	53	3,00	0,00
GCCCSTTGACTBCGGT, 16 п. н. 198–213	53,90	66	2,00	1,50

LNA также приводит к заметному повышению температуры плавления дуплексов, что улучшает связь в десятки раз, повышая чувствительность и специфичность [21, 22].

Специфичность праймеров проверена *in silico* с помощью платформы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и методом секвенирования по Сэнгеру. В результате амплификации с разработанным набором праймеров и TaqMan-зонда синтезированы фрагменты длиной 111 п. н., при сопоставлении нуклеотидной последовательности которых выявлено совпадение с геномами ТТV-вирусов, представленными в базе данных GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Нуклеотидные последовательности некоторых синтезированных образцов были депонированы в GenBank NCBI под номерами: PV806635.1, PV806636.1, PV806637.1, PV806638.1, PV806639.1.

Разработанный набор праймеров и TaqMan-зонда явился молекулярно-генетической основой метода диагностики ТТV-вирусной инфекции, с помощью которого проведено выявление ДНК ТТV и рассчитана вирусная нагрузка в плазме и лейкоцитарной фракции крови, в назофарингеальных мазках и слюне пациентов целевых групп.

Частоты выявления ДНК ТТV в плазме и лейкоцитарной фракции крови целевых групп пациентов представлены в табл. 2.

Таблица 2. Частоты выявления ДНК ТТV в плазме и лейкоцитарной фракции крови в целевых группах пациентов

Table 2. Frequency of TTV DNA detection in plasma and leukocyte fractions in target patient groups

Вид биоматериала	Частота выявления ДНК ТТV			
	Контрольная группа (n = 91)	Группа «Вторичный иммунодефицит» (n = 21)	Группа «ВИЧ» (n = 116)	Группа «Тяжелое течение инфекции COVID-19» (n = 104)
Лейкоцитарная фракция крови	80 (87,9 %)	17 (81,0 %)	104 (89,7%)	точка 1 – 100 (96,2 %); точка 2 – 101 (97,1 %)
Плазма крови	69 (75,8 %)	15 (71,4 %)	87 (75,0%)	точка 1 – 94 (90,4 %); точка 2 – 85 (81,7 %)

Как представлено в табл. 2, обнаружена высокая частота выявления ДНК ТТV в плазме и лейкоцитарной фракции крови всех целевых групп исследования: 71,4–90,4 % и 81,0–97,1 % соответственно. Не выявлено значимых различий между группами по частоте выявления ДНК ТТV в лейкоцитарной фракции крови; значимые отличия выявлены по частоте выявления ДНК ТТV в плазме крови между группой «Тяжелое течение инфекции COVID-19», точка 1 и группой «ВИЧ» ($p = 0,03$). Высокая частота выявления ДНК ТТV в разных целевых группах соответствует литературным данным [8–10].

При сопоставлении частоты выявления ДНК ТТV в плазме и лейкоцитарной фракции отмечена удовлетворительная согласованность в группах «Вторичный иммунодефицит» ($k_{\text{Cohen}} = 0,222$) и «Тяжелое течение инфекции COVID-19» ($k_{\text{Cohen}} = 0,244$) и умеренная согласованность – в контрольной группе ($k_{\text{Cohen}} = 0,458$) и группе «ВИЧ» ($k_{\text{Cohen}} = 0,459$), обусловленная более высокой частотой выявления в лейкоцитарной фракции крови. Полученные результаты не противостоят литературным данным, согласно которым количественное определение ТТV в цельной крови и сыворотке дает более высокие значения, чем в плазме [14].

В группе пациентов с установленным диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния на фоне основного заболевания ДНК вирусов рода ТТV выявлена в нескольких видах био-

материала: плазма и лейкоцитарная фракция крови, слюна, назофарингеальные мазки, что соответствует литературным данным о пантропизме вируса [33]. Частота выявления составила от 66,7 % (в назофарингеальных мазках) до 81 % (в лейкоцитарной фракции крови). Доля совпадений (соответствующего результата – положительного или отрицательного) одновременно по всем четырем видам биологического материала в изучаемой группе пациентов составила 40,0 %, (умеренная степень согласия между выявлением в разном биологическом материале, $k_{\text{Fleiss}} = 0,398$). Медиана вирусной нагрузки TTV составила: в плазме – 3,46 [1,97; 4,47] \log_{10} копий ДНК TTV/мл; в лейкоцитарной фракции крови – 3,67 [1,88; 4,47] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток; в назофарингеальных мазках – 3,21 [0,00; 4,19] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток; в слюне – 4,08 [0,00; 5,68] \log_{10} копий ДНК TTV/мл.

Таким образом, молекулярно-генетический метод диагностики TTV-вирусной инфекции, основанный на разработанных праймерах и TaqMan-зонде, позволяет выявлять и рассчитывать вирусную нагрузку в плазме и лейкоцитарной фракции крови, в назофарингеальных мазках и слюне пациентов целевых групп.

Медиана вирусной нагрузки ДНК TTV в плазме и лейкоцитарной фракции крови целевых групп пациентов представлена в табл. 3.

Таблица 3. Медиана вирусной нагрузки ДНК TTV в плазме и лейкоцитарной фракции крови целевых групп пациентов

Table 3. Median TTV DNA viral load in plasma and leukocyte fraction of blood of target patient groups

Вид биоматериала	Медиана вирусной нагрузки TTV			
	Контрольная группа (n = 91)	Группа «Вторичный иммунодефицит» (n = 21)	Группа «ВИЧ» (n = 116)	Группа «Тяжелое течение инфекции COVID-19» (n = 104)
Лейкоцитарная фракция крови, \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток	2,58 [1,66; 3,25]	3,67 [1,88; 4,47]	3,84 [3,09; 4,20]	точка 1 – 3,67 [3,09; 3,91]; точка 2 – 3,05 [2,48; 3,54]
Плазма крови, \log_{10} копий ДНК TTV/мл	3,03 [2,71; 3,28]	3,46 [1,97; 4,47]	3,18 [2,72; 3,67]	точка 1 – 3,40 [3,13; 3,71]; точка 2 – 3,22 [2,93; 3,62]

Установлена значимая умеренная корреляционная связь между вирусной нагрузкой TTV в лейкоцитарной фракции и плазме в контрольной группе ($\rho_{\text{Sp}} = 0,61$, $p < 0,001$) и группах «Тяжелое течение инфекции COVID-19», точка 2 ($\rho_{\text{Sp}} = 0,63$, $p < 0,001$), значимая высокая – в группе «ВИЧ» ($\rho_{\text{Sp}} = 0,84$, $p < 0,001$) и «Тяжелое течение инфекции COVID-19», точка 1 ($\rho_{\text{Sp}} = 0,76$, $p < 0,001$).

На 1-й и 2-й точках исследования медиана вирусной нагрузки TTV в плазме и лейкоцитарной фракции крови группы «Тяжелое течение инфекции COVID-19» составила 3,40 [3,13; 3,71] \log_{10} копий ДНК TTV/мл, 3,22 [2,93; 3,62] \log_{10} копий ДНК TTV/мл и 3,67 [3,09; 3,91] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток, 3,05 [2,48; 3,54] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток соответственно. В динамике у пациентов группы «Тяжелое течение инфекции COVID-19» выявлено значимое снижение вирусной нагрузки в лейкоцитарной фракции ($p < 0,001$) и плазме ($p < 0,001$), что, вероятно, связано с терапией, проводимой в соответствии с диагнозом.

При сравнении вирусной нагрузки в целевых группах пациентов (табл. 3) отмечена значимо более низкая медиана вирусной нагрузки TTV в лейкоцитарной фракции крови контрольной группы – 2,58 [1,66; 3,25] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток, чем в группе «Вторичный иммунодефицит» – 3,67 [1,88; 4,47] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток ($p = 0,0016$), группе «ВИЧ» – 3,84 [3,09; 4,20] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток ($p < 0,001$) и группе «Тяжелое течение инфекции COVID-19», точка 1 – 3,67 [3,09; 3,91] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток ($p < 0,001$) (рис. 2). Медиана вирусной нагрузки TTV в лейкоцитарной фракции крови группы «Тяжелое течение инфекции COVID-19» (точка 2) составила 3,05 [2,48; 3,54] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток, что значимо ниже ($p < 0,001$), чем в группе «ВИЧ» – 3,84 [3,09; 4,20] \log_{10} копий ДНК TTV/ 10^5 клеток.

В плазме крови группы «Тяжелое течение инфекции COVID-19» (точка 1) отмечена значимо более высокая вирусная нагрузка TTV – 3,40 [3,13; 3,71] \log_{10} копий ДНК TTV/мл, чем в плазме крови контрольной группы – 3,03 [2,71; 3,28] \log_{10} копий ДНК TTV/мл ($p < 0,001$) и группы «ВИЧ» – 3,18 [2,72; 3,67] \log_{10} копий ДНК TTV/мл ($p = 0,042$). На 2-й точке исследования группы пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 не отмечено значимых отличий по вирусной нагрузке TTV между группами.

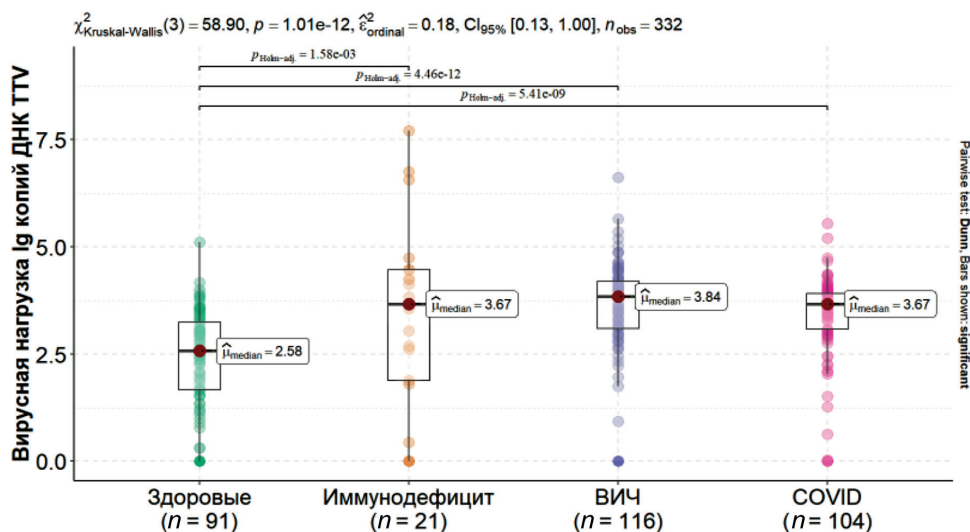


Рис. 2. Сравнение вирусной нагрузки ТТВ в лейкоцитарной фракции целевых групп пациентов (медианные значения, тест Краскела – Уоллиса, апостериорные сравнения (тест Данна))

Fig. 2. Comparison of TTV viral load in the leukocyte fraction of target patient groups (median values, Kruskal – Wallis test, post hoc comparisons (Dunn test))

Корреляция между вирусной нагрузкой ТТВ в плазме и лейкоцитарной фракции крови и полом и возрастом пациентов целевых групп не выявлена.

В литературных источниках большая часть данных о вирусной нагрузке ТТВ у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию, касается реципиентов почечных трансплантатов, и одной из задач исследований было определение клинически значимых пороговых значений нагрузки ТТВ. В одном из исследований значение нагрузки ТТВ в плазме от 4,6 до 6,6 \log_{10} копий/мл предложено в качестве порога между риском отторжения и инфицирования через 4–12 месяцев после трансплантации почки [14]. В другой работе показана значимая связь между высокой вирусной нагрузкой ТТВ в плазме (определяемой пороговым значением $\geq 5 \log_{10}$ копий/мл) и риском смертности у госпитализированных пожилых пациентов на всех исследованных временных точках [34]. В то же время есть мнение о том, что, учитывая индивидуальную изменчивость вирусной нагрузки ТТВ, определить «нормальные уровни» пока невозможно [35]. Так, исследование вирусной нагрузки ТТВ у детей показало колебания нагрузки от 3,34 до 4,92 \log_{10} копий/мл в первые недели жизни новорожденных и от 0 до 5,99 \log_{10} копий/мл – в первый год жизни; в другом исследовании медиана вирусной нагрузки ТТВ в крови здоровых доноров составила 2,3 \log_{10} копий/мл (диапазон – от 1,1 до 4,9 \log_{10} копий/мл). Поэтому до сих пор оценка ТТВ проводится индивидуально для каждого пациента и зависит от исходной вирусной нагрузки [36]. Ученые указывают на целесообразность исследований, сравнивающих группы пациентов, подвергавшихся и не подвергавшихся иммуносупрессии, с оценкой вирусной нагрузки в одни и те же моменты времени и в течение одного и того же периода [36].

Проведен анализ корреляции величины вирусной нагрузки и концентрации цитокинов в группах пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 и ВИЧ-инфекцией.

В группе пациентов с ВИЧ-инфекцией выявлена слабая отрицательная корреляция между концентрацией ИЛ-1 β в плазме крови и вирусной нагрузкой ТТВ в лейкоцитах крови ($\rho_{\text{Sp}} = -0,19, p = 0,04$). В группе пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 обнаружена слабая отрицательная корреляция между концентрацией ИЛ-6 в плазме крови и вирусной нагрузкой ТТВ в плазме крови ($\rho_{\text{Sp}} = -0,2, p = 0,04$) и лейкоцитах ($\rho_{\text{Sp}} = -0,24, p = 0,01$) на 2-й точке исследования; слабая отрицательная корреляция между концентрацией ИЛ-6 в плазме крови на 2-й точке исследования и изменением вирусной нагрузки ТТВ в плазме крови ($\rho_{\text{Sp}} = -0,23, p = 0,02$) и лейкоцитах ($\rho_{\text{Sp}} = -0,3, p = 0,0019$), а также слабая корреляция между изменением вирусной нагрузки ТТВ в плазме крови и концентрацией ИЛ-10 в плазме крови ($\rho_{\text{Sp}} = 0,25, p = 0,01$) на 1-й точке

исследования и вирусной нагрузкой ТТV в лейкоцитах и концентрацией ИЛ-8 в плазме крови на 1-й точке исследования ($\rho_{sp} = 0,2$, $p = 0,04$). В соответствии с проведенным анализом ассоциации между признаками с использованием критерия χ^2 Пирсона в группе пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19, у которых в динамике отмечено повышение вирусной нагрузки ТТV в плазме крови, чаще выявлено снижение ИЛ-6 в плазме крови ($p = 0,044$, p (поправка Йетса) = 0,071), чем в группе пациентов со снижением вирусной нагрузки ТТV, и наоборот. В группе пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19, у которых в динамике отмечено повышение вирусной нагрузки ТТV в лейкоцитах, чаще выявлено снижение иммуноглобулинов класса G (IgG) к SARS-CoV-2 в плазме крови ($p = 0,0364$, p (поправка Йетса) = 0,077) по сравнению с группой со снижением вирусной нагрузки ТТV, что не противоречит опубликованным результатам исследования по изучению вирусной нагрузки ТТV у реципиентов после трансплантации солидных органов и введения второй дозы мРНК-вакцины против SARS-CoV-2, согласно которым выявлена значимо более высокая медиана вирусной нагрузки у не ответивших на вакцинацию (5,6 log копий/мл) по сравнению с ответившими (4,7 log копий/мл) [35]. Исследования по изучению корреляции между вирусной нагрузкой ТТV и концентрацией биомаркеров немногочисленны. Так, в одной из научных работ не выявлена корреляция между вирусной нагрузкой ТТV в плазме и уровнями ИЛ-6, СРБ и ферритина в сыворотке у пациентов с тяжелым течением COVID-19, что, по мнению авторов, свидетельствует против использования вирусной нагрузки ТТV в качестве маркера воспаления в клинической практике [37]. Однако нужно отметить, что выборка пациентов была малочисленной и часть из них получали лечение тоцилизумабом, поэтому исследование носит лишь предварительный характер и не позволяет сделать однозначные выводы.

Выводы

1. Проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что наиболее информативным для выявления выступает консервативный регион генома ТТV (позиции нуклеотидов 99–240 референсного генома ТТV TA278 GenBank: AB017610.1), что позволяет использовать его в качестве мишени для дальнейшей разработки набора праймеров с целью диагностики ТТV-вирусной инфекции.

2. С использованием выбранной мишени генома ТТV с учетом термодинамических параметров разработан набор праймеров и TaqMan-зонда (ТТV-прямой-5'-cc[+g]aatg[+g][+c]tgagtt-3' ([+N] – LNA-модификация), ТТV-обратный-5'-gcccttgactbcggt-3', ТТV-зонд-5'-HEX-cggcaccgccct-MGB-BHQ1-3'), фланкирующих консервативный регион длиной 111 п. н. (позиции нуклеотидов 103–213 референсного генома ТТV TA278 GenBank: AB017610.1).

3. Молекулярно-генетический метод диагностики ТТV-вирусной инфекции, основанный на разработанных праймерах и TaqMan-зонде, позволяет выявлять и рассчитывать вирусную нагрузку ТТV в плазме, лейкоцитарной фракции крови, назофарингеальных мазках и слюне пациентов.

4. Обнаружена высокая частота выявления ДНК ТТV в плазме (71,4–90,4 %) и лейкоцитарной фракции крови (81,0–97,1 %) как в контрольной группе, так и у пациентов со вторичным иммунодефицитом, тяжелым течением инфекции COVID-19 и ВИЧ-инфекцией.

5. Установлена значимая умеренная корреляционная связь между вирусной нагрузкой ТТV в лейкоцитарной фракции и плазме в контрольной группе ($\rho_{sp} = 0,61$, $p < 0,001$) и группе пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19, точка 2 ($\rho_{sp} = 0,63$, $p < 0,001$), значимая высокая – в группах пациентов с ВИЧ-инфекцией ($\rho_{sp} = 0,84$, $p < 0,001$) и пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19, точка 1 ($\rho_{sp} = 0,76$, $p < 0,001$).

6. Выявлена значимо более низкая медиана вирусной нагрузки ТТV в лейкоцитарной фракции крови контрольной группы – 2,58 [1,66; 3,25] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток, чем в группе пациентов со вторичным иммунодефицитом – 3,67 [1,88; 4,47] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток ($p = 0,0014$), пациентов с ВИЧ-инфекцией – 3,84 [3,09; 4,20] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток ($p < 0,001$) и группе пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19, точка 1 – 3,67 [3,09; 3,91] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток ($p < 0,001$). Медиана вирусной нагрузки ТТV в лейкоцитарной фракции

крови группы пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 (точка 2) значимо ниже ($p < 0,001$), чем в группе пациентов с ВИЧ-инфекцией – 3,05 [2,48; 3,54] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток и 3,84 [3,09; 4,20] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток соответственно.

7. В плазме крови группы пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 (точка 1) отмечена значимо более высокая вирусная нагрузка ТТV – 3,40 [3,13; 3,71] \log_{10} копий ДНК ТТV/мл, чем в плазме крови пациентов контрольной группы – 3,03 [2,71; 3,28] \log_{10} копий ДНК ТТV/мл ($p < 0,001$) и пациентов с ВИЧ-инфекцией – 3,18 [2,72; 3,67] \log_{10} копий ДНК ТТV/мл ($p = 0,042$). На 2-й точке исследования группы пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 не отмечено значимых отличий по вирусной нагрузке ТТV между группами.

8. В динамике у пациентов группы «Тяжелое течение инфекции COVID-19» выявлено значимое снижение вирусной нагрузки ТТV ($p < 0,001$) в лейкоцитарной фракции (3,67 [3,09; 3,91] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток – 3,05 [2,48; 3,54] \log_{10} копий ДНК ТТV/10⁵ клеток) и плазме (3,40 [3,13; 3,71] \log_{10} копий ДНК ТТV/мл – 3,22 [2,93; 3,62] \log_{10} копий ДНК ТТV/мл).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Virus Taxonomy: 2024 Release // International Committee on Taxonomy of Viruses. – URL: <https://ictv.global/taxonomy> (date of access: 10.02.2026).
2. *Anelloviridae* taxonomy update 2023 / A. Varsani, S. Kraberger, T. Opriessnig [et al.] // Archives of Virology. – 2023. – Vol. 168. – Art. 277. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05903-6>
3. Differentiating between viruses and virus species by writing their names correctly / F. M. Zerbini, S. G. Siddell, A. R. Mushagian [et al.] // Archives of Virology. – 2022. – Vol. 167, N 4. – P. 1231–1234. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05323-4>
4. A Novel DNA Virus (TTV) Associated with Elevated Transaminase Levels in Posttransfusion Hepatitis of Unknown Etiology / T. Nishizawa, H. Okamoto, K. Konishib [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1997. – Vol. 241, N 1. – P. 92–97. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7765>
5. Laubscher, F. SCANellome V2: Update of the Primate Anellovirus Reference Sequences Database / F. Laubscher, L. Kaiser, S. Cordey // Viruses. – 2024. – Vol. 16, N 9. – Art. 1349. <https://doi.org/10.3390/v16091349>
6. Taxonomic update for mammalian anelloviruses (family *Anelloviridae*) / A. Varsani, T. Opriessnig, V. Celer [et al.] // Archives of Virology. – 2021. – Vol. 166, N 10. – P. 2943–2953. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05192-x>
7. Torque Teno Virus: Lights and Shades / P. Brani, H. Z. Manzoor, P. G. Spezia [et al.] // Viruses. – 2025. – Vol. 17, N 3. – Art. 334. <https://doi.org/10.3390/v17030334>
8. Prevalence of Torque Teno Virus in Portuguese Children Younger Than 3 Years Old: A Single-Center Study / M.-J. Chasqueira, P. Paixão, C. Barreiros [et al.] // Clinical Pediatrics. – 2025. – Vol. 64, N 10. – P. 1419–1424. <https://doi.org/10.1177/00099228251339047>
9. Development of PCR Assays with Nested Primers Specific for Differential Detection of Three Human Anelloviruses and Early Acquisition of Dual or Triple Infection during Infancy / M. Ninomiya, M. Takahashi, T. Nishizawa [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2008. – Vol. 46, N 2. – P. 507–514. <https://doi.org/10.1128/jcm.01703-07>
10. The enigmatic roles of *Anelloviridae* and *Redondoviridae* in humans / L. Taylor, E. Keeler, F. Bushman, R. Collman // Current Opinion in Virology. – 2022. – Vol. 55. – Art. 101248. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2022.101248>
11. TT virus prevalence, viral loads and genotypic variability in saliva from healthy Japanese children / M. Naganuma, N. Tominaga, T. Miyamura [et al.] // Acta Paediatrica. – 2008. – Vol. 97, N 12. – P. 1686–1690. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2008.00962.x>
12. Deep viral blood metagenomics reveals extensive anellovirus diversity in healthy humans / M. Cebriá-Mendoza, C. Arbona, L. Larrea [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11, N 1. – Art. 6921. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86427-4>
13. Systematic review and meta-analysis of virome profiles and quantification of Torque teno virus load in blood of acute febrile illness patients / C. Angwong, C. Pientong, T. Ekalaksananan [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15, N 1. – Art. 45340. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-29413-4>
14. Immune Monitoring Goes Viral – Torque Teno Virus for Immunologic Risk Stratification After Kidney Transplantation / K. Doberer, S. Kapps, F. Hauptenthal, G. Bond // Transplant International. – 2025. – Vol. 38. – Art. 15074. <https://doi.org/10.3389/ti.2025.15074>
15. Understanding torquetenovirus (TTV) as an immune marker / E. J. Gore, L. Gard, H. G. M. Niesters, C. C. Van Leer Buter // Frontiers in Medicine. – 2023. – Vol. 10. – Art. 1168400. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1168400>
16. The consortium // TTV GUIDE. – URL: <https://www.ttv-guide.eu/team> (date of access: 10.02.2026).
17. Investigation of Oral Shedding of Torquetenovirus (TTV) in Moderate-to-Severe COVID-19 Hospitalised Patients / R. A. V. Caixeta, A. M. Batista, M. W. Caetano [et al.] // Viruses. – 2024. – Vol. 16, N 6. – Art. 831. <https://doi.org/10.3390/v16060831>
18. Respiratory torque teno virus load at emergency department visit predicts intensive care unit admission of SARS-CoV-2 infected patients / L. Feghoul, A. Caillault, O. Peyrony [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2023. – Vol. 95, N 12. – Art. e29319. <https://doi.org/10.1002/jmv.29319>

19. Torque Teno Virus Load Is Associated With Centers for Disease Control and Prevention Stage and CD4⁺ Cell Count in People Living With Human Immunodeficiency Virus but Seems Unrelated to AIDS-Defining Events and Human Pegivirus Load / P. Esser, G. Quintanares, B. Langhans [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 230, N 2. – P. e437–e446. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae014>
20. TT Virus in the Nasal Secretions of Children with Acute Respiratory Diseases: Relations to Viremia and Disease Severity / F. Maggi, M. Pifferi, C. Fornai [et al.] // *Journal of Virology*. – 2003. – Vol. 77, N 4. – P. 2418–2425. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.4.2418-2425.2003>
21. Разнообразие праймеров для ПЦР и принципы их подбора / Р. Р. Гарафутдинов, А. Х. Баймиев, Г. В. Малеев [и др.] // *Биомика*. – 2019. – Т. 11, № 1. – С. 23–70.
22. Субач, М. Ф. Современные методы химической модификации аптамеров и принципы выбора библиотек аптамеров / М. Ф. Субач, М. Г. Хренова, М. Э. Зверева // *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. – 2024. – Т. 65, № 2. – С. 78–86.
23. Конструирование праймеров для ПЦР в программе Primer-BLAST / А. А. Козырева, А. М. Злотина, А. С. Головкин [и др.] // *Трансляционная медицина*. – 2021. – Т. 8, № 3. – С. 37–52. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2021-8-3-37-52>
24. Метод количественного определения вирусов ТТВ в биологическом материале Инструкция по применению № 014-0525, 30.06.2025 / О. В. Осипкина, Е. В. Воропаев, А. Н. Рышко [и др.] // *MedBY*. – URL: <http://med.by/methods/book.php?book=3515> (дата обращения: 10.02.2026).
25. Разработка и апробация метода количественного определения ДНК вирусов рода Alphatorquevirus / О. В. Осипкина, Е. В. Воропаев, А. В. Воропаева [и др.] // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. – 2025. – Т. 14, № 4. – С. 571–584.
26. Torque teno virus loads and leukocyte populations in stable outpatient solid organ transplant recipients / J. Jonker, C. S. E. Doorenbos, E. J. Gore [et al.] // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2026. – Vol. 162. – Art. 108217. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2025.108217>
27. Detection and genetic characterization of the novel torque teno virus group 6 in Taiwanese general population / K.-L. Hsiao, L.-Y. Wang, J.-Ch. Cheng [et al.] // *Royal Society Open Science*. – 2021. – Vol. 8, N 11. – Art. 210938. <https://doi.org/10.1098/rsos.210938>
28. Выявление ДНК вирусов ТТВ и SENV у пациентов с заболеваниями печени и доноров крови / В. М. Мицура, Е. В. Воропаев, О. В. Осипкина [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика. Восточная Европа*. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 266–275.
29. *Torque Teno virus*: распространенность и особенности ПЦР-диагностики / О. В. Осипкина, Е. В. Воропаев, В. М. Мицура [и др.] // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2018. – Т. 57, № 3. – С. 85–90.
30. Сравнение различных вариантов выявления ДНК вирусов ТТВ, TTMDV и TTMV / О. В. Осипкина, Е. В. Воропаев, В. М. Мицура [и др.] // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2022. – Т. 19, № 1. – С. 102–108.
31. The Entire Nucleotide Sequence of a TT Virus Isolate from the United States (TUS01): Comparison with Reported Isolates and Phylogenetic Analysis / H. Okamoto, T. Nishizawa, M. Ukita [et al.] // *Virology*. – 1999. – Vol. 259, N 2. – P. 437–448. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9769>
32. Development of a minor groove binder assay for real-time PCR detection of porcine Sapelovirus / J. Chen, F. Chen, Q. Zhou [et al.] // *Journal of Virological Methods*. – 2014. – Vol. 198. – P. 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.12.003>
33. Современные представления о роли torque teno virus (TTV) при заболеваниях печени / И. В. Маев, Т. И. Карлович, А. И. Бурмистров [и др.] // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2020. – Т. 30, № 4. – С. 7–22.
34. High Torque teno virus viremia predicts long-term mortality and reflects chronic low-grade inflammation (inflammaging) in geriatric inpatients / L. Cianfruglia, G. V. Badillo Pazmay, C. Fortunato [et al.] // *Experimental Gerontology*. – 2026. – Vol. 213. – Art. 112978. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2025.112978>
35. Assessment of Torquetenominivirus (TTMV) and Torquetenomidivirus (TTMDV) as Complementary Biomarkers to Torquetenovirus (TTV) / L. Cinti, P. G. Spezia, P. Roberto [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2025. – Vol. 26, N 3. – Art. 1022. <https://doi.org/10.3390/ijms26031022>
36. Torque teno virus as a marker of immune status in immunocompromised patients: A systematic review / J. B. Medina, F. F. Vieira e Silva, R. A. V. Caixeta [et al.] // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2025. – Vol. 55, N 8. – Art. e70068. <https://doi.org/10.1111/eci.70068>
37. Monitoring of Torque Teno virus DNAemia in critically ill COVID-19 patients: May it help to predict clinical outcomes? / L. Forqué, E. Albert, E. Giménez [et al.] // *Journal of Clinical Virology*. – 2022. – Vol. 148. – Art. 105082. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2022.105082>

References

1. Virus Taxonomy: 2024 Release. *International Committee on Taxonomy of Viruses*. Available at: <https://ictv.global/taxonomy> (accessed 10.02.2026).
2. Varsani A., Kraberger S., Opriessnig T., Maggi F., Celer V., Okamoto H., Biagini P. *Anelloviridae* taxonomy update 2023. *Archives of Virology*, vol. 168, art. 277. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05903-6>
3. Zerbini F. M., Siddell S. G., Mushegian A. R., Walker P. J., Lefkowitz E. J., Adriaenssens E. M., Alfenas-Zerbini P. [et al.]. Differentiating between viruses and virus species by writing their names correctly. *Archives of Virology*, 2022, vol. 167, no. 4, pp. 1231–1234. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05323-4>

4. Nishizawa T., Okamoto H., Konishib K., Yoshizawa H., Miyakawa Y., Mayumi M. A Novel DNA Virus (TTV) Associated with Elevated Transaminase Levels in Posttransfusion Hepatitis of Unknown Etiology. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, vol. 241, no. 1, pp. 92–97. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7765>
5. Laubscher F., Kaiser L., Cordey S. SCANellome V2: Update of the Primate Anellovirus Reference Sequences Database. *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 9, art. 1349. <https://doi.org/10.3390/v16091349>
6. Varsani A., Opriessnig T., Celer V., Maggi F., Okamoto H., Blomström A.-L., Cadar D., Harrach B., Biagini P., Kraberger S. Taxonomic update for mammalian anelloviruses (family *Anelloviridae*). *Archives of Virology*, 2021, vol. 166, no. 10, pp. 2943–2953. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05192-x>
7. Brani P., Manzoor H. Z., Spezia P. G., Vigezzi A., Ietto G., Gasperina D. D., Minosse C., Bosi A., Giaroni C., Carcano G., Maggi F., Baj A. Torque Teno Virus: Lights and Shades. *Viruses*, 2025, vol. 17, no. 3, art. 334. <https://doi.org/10.3390/v17030334>
8. Chasqueira M.-J., Paixão P., Barreiros C., Tuna M., Marçal M., Paixão P. Prevalence of Torque Teno Virus in Portuguese Children Younger Than 3 Years Old: A Single-Center Study. *Clinical Pediatrics*, 2025, vol. 64, no. 10, pp. 1419–1424. <https://doi.org/10.1177/00099228251339047>
9. Ninomiya M., Takahashi M., Nishizawa T., Shimosegawa T., Okamoto H. Development of PCR Assays with Nested Primers Specific for Differential Detection of Three Human Anelloviruses and Early Acquisition of Dual or Triple Infection during Infancy. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, vol. 46, no. 2, pp. 507–514. <https://doi.org/10.1128/jcm.01703-07>
10. Taylor L., Keeler E., Bushman F., Collman R. The enigmatic roles of *Anelloviridae* and *Redondoviridae* in humans. *Current Opinion in Virology*, 2022, vol. 55, art. 101248. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2022.101248>
11. Naganuma M., Tominaga N., Miyamura T., Soda A., Moriuchi M., Moriuchi H. TT virus prevalence, viral loads and genotypic variability in saliva from healthy Japanese children. *Acta Paediatrica*, 2008, vol. 97, no. 12, pp. 1686–1690. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2008.00962.x>
12. Cebriá-Mendoza M., Arbona C., Larrea L., Díaz W., Arnau V., Peña C., Bou J. V., Sanjuán R., Cuevas J. M. Deep viral blood metagenomics reveals extensive anellovirus diversity in healthy humans. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, no. 1, art. 6921. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86427-4>
13. Angwong C., Pientong C., Ekalaksananan T., Burassakarn A., Tongchai P., Overgaard H. J., Aromseree S. Systematic review and meta-analysis of virome profiles and quantification of Torque teno virus load in blood of acute febrile illness patients. *Scientific Reports*, 2025, vol. 15, no. 1, art. 45340. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-29413-4>
14. Doberer K., Kapps S., Hauptenthal F., Bond G. Immune Monitoring Goes Viral – Torque Teno Virus for Immunologic Risk Stratification After Kidney Transplantation. *Transplant International*, 2025, vol. 38, art. 15074. <https://doi.org/10.3389/ti.2025.15074>
15. Gore E. J., Gard L., Niesters H. G. M., Van Leer Buter C. C. Understanding torquetenovirus (TTV) as an immune marker. *Frontiers in Medicine*, 2023, vol. 10, art. 1168400. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1168400>
16. The consortium. *TTV GUIDE*. Available at: <https://www.ttv-guide.eu/team> (accessed 10.02.2026).
17. Caixeta R. A. V., Batista A. M., Caetano M. W., Palmieri M., Schwab G., Zerbini R. M. [et al.]. Investigation of Oral Shedding of Torquetenovirus (TTV) in Moderate-to-Severe COVID-19 Hospitalised Patients. *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 6, art. 831. <https://doi.org/10.3390/v16060831>
18. Feghoul L., Caillault A., Peyrony O., Salmona M., Nere M.-L., Delaugerre C., Azoulay E., Chevret S., LeGoffet J. Respiratory torque teno virus load at emergency department visit predicts intensive care unit admission of SARS-CoV-2 infected patients. *Journal of Medical Virology*, 2023, vol. 95, no. 12, art. e29319. <https://doi.org/10.1002/jmv.29319>
19. Esser P., Quintanares G., Langhans B., Heger E., Böhm M., Jensen B.-E. O. L. E. [et al.]. Torque Teno Virus Load Is Associated With Centers for Disease Control and Prevention Stage and CD4⁺ Cell Count in People Living With Human Immunodeficiency Virus but Seems Unrelated to AIDS-Defining Events and Human Pegivirus Load. *The Journal of Infectious Diseases*, 2024, vol. 230, no. 2, pp. e437–e446. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae014>
20. Maggi F., Pifferi M., Fornai C., Andreoli E., Tempestini E., Vatteroni M., Presciuttini S., Marchi S., Pietrobelli A., Boner A., Pistello M., Bendinelli M. TT Virus in the Nasal Secretions of Children with Acute Respiratory Diseases: Relations to Viremia and Disease Severity. *Journal of Virology*, 2003, vol. 77, no. 4, pp. 2418–2425. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.4.2418-2425.2003>
21. Garafutdinov R. R., Baimiev A. Kh., Maleev G. V., Alekseev Ya. I., Zubov V. V., Chemeris D. A. [et al.]. Diversity of PCR primers and principles of their design. *Biomika = Biomics*, 2019, vol. 11, no. 1, pp. 23–70 (in Russian).
22. Subach M. F., Khrenova M. G., Zvereva M. I. Modern methods of aptamer chemical modification and principles of aptamer library selection. *Moscow University Chemistry Bulletin*, 2024, vol. 79, no. 2, pp. 79–85. <https://doi.org/10.3103/S002713142470010X>
23. Kozyreva A. A., Zlotina A. M., Golovkin A. S., Kalinina O. V., Kostareva A. A. Primer designing in Primer-BLAST. *Translyatsionnaya meditsina = Translational Medicine*, 2021, vol. 8, no. 3, pp. 37–52 (in Russian).
24. Osipkina O. V., Voropaev E. V., Rymko A. N., Akalovich S. T., Voropaeva A. V., Mitsura V. M., Kovalev A. A. Method for quantitative determination of TTV viruses in biological material. Instructions for use № 014-0525. 30.06.2025. *MedBY*. Available at: <http://med.by/methods/book.php?book=3515> (accessed 10.02.2026) (in Russian).
25. Osipkina O. V., Voropaev E. V., Voropaeva A. V., Valentovich L. N., Rymko A. N., Akalovich S. T., Kovalev A. A. Elaborating and Testing of a Quantification Method for Alphatorquevirus Genus Viruses DNA. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa = Laboratory Diagnostics. Eastern Europe*, 2025, vol. 14, no. 4, pp. 571–584 (in Russian).
26. Jonker J., Doorenbos C. S. E., Gore E. J., Gomes-Neto A. W., de Meijer V. E., Blokzijl H. [et al.]. Torque teno virus loads and leukocyte populations in stable outpatient solid organ transplant recipients. *International Journal of Infectious Diseases*, 2026, vol. 162, art. 108217. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2025.108217>

27. Hsiao K.-L., Wang L.-Y., Cheng J.-Ch., Cheng Y.-J., Lin Ch.-L., Liu H.-F. Detection and genetic characterization of the novel torque teno virus group 6 in Taiwanese general population. *Royal Society Open Science*, 2021, vol. 8, no. 11, art. 210938. <https://doi.org/10.1098/rsos.210938>
28. Mitsura V. M., Voropaev E. V., Osipkina O. V., Tereshkov D. V., Zmushko M. N., Skuratov A. G., Fomchenko N. E., Voropaeva A. E. Detection of DNA of TT and SEN viruses in patients with liver diseases and blood donors. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa = Laboratory Diagnostics. Eastern Europe*, 2017, vol. 6, no. 2, pp. 266–275 (in Russian).
29. Osipkina O. V., Voropaev E. V., Mitsura V. M., Zyat'kov A. A., Tereshkov D. V., Perevolotskaya T. V., Perevolotskii A. N. Torque Teno virus: prevalence and features of PCR diagnostic. *Problemy zdorov'ya i ekologii = Health and Environmental Issues*, 2018, vol. 57, no. 3, pp. 85–90 (in Russian).
30. Osipkina O. V., Voropaev E. V., Mitsura V. M., Tereshkov D. V., Kovalev A. A. Comparison of different DNA detection options TTV, TTMDV, and TTMV viruses. *Problemy zdorov'ya i ekologii = Health and Environmental Issues*, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 102–108 (in Russian).
31. Okamoto H., Nishizawa T., Ukita M., Takahashi M., Fukuda M., Iizuka H., Miyakawa Y., Mayumi M. The Entire Nucleotide Sequence of a TT Virus Isolate from the United States (TUS01): Comparison with Reported Isolates and Phylogenetic Analysis. *Virology*, 1999, vol. 259, no. 2, pp. 437–448. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9769>
32. Chen J., Chen F., Zhou Q., Li W., Chen Y., Song Y., Zhang X., Xue Ch., Y., Cao Y. Development of a minor groove binder assay for real-time PCR detection of porcine Sapelovirus. *Journal of Virological Methods*, 2014, vol. 198, pp. 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.12.003>
33. Maev I. V., Karlovich T. I., Burmistrov A. I., Chekmazov I. A., Andreev D. N., Reshetnyak V. I. Current Views of Torque Teno Virus (TTV) in Liver Diseases. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2020, vol. 30, no. 4, pp. 7–22 (in Russian).
34. Cianfruglia L., Badillo Pazmay G. V., Fortunato C., Spezia P. G., Novazzi F., Piacenza F. [et al.]. High Torque teno virus viremia predicts long-term mortality and reflects chronic low-grade inflammation (inflammaging) in geriatric inpatients. *Experimental Gerontology*, 2026, vol. 213, art. 112978. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2025.112978>
35. Cinti L., Spezia P. G., Roberto P., Russo G., Lai Q., Carillo C., Frasca F., Antonelli G., Maggi F. Assessment of Torquetenominivirus (TTMV) and Torquetenomidivirus (TTMDV) as Complementary Biomarkers to Torquetenovirus (TTV). *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, vol. 26, no. 3, art. 1022. <https://doi.org/10.3390/ijms26031022>
36. Medina J. B., Vieira e Silva F. F., Caixeta R. A. V., de Oliveira Rech B., Perez-Jardón A., Padín-Iruegas M. E., Pérez-Sayáns M., Braz-Silva P. H., Ortega K. L. Torque teno virus as a marker of immune status in immunocompromised patients: A systematic review. *European Journal of Clinical Investigation*, 2025, vol. 55, no. 8, art. e70068. <https://doi.org/10.1111/eci.70068>
37. Forqué L., Albert E., Giménez E., Torres I., Carbonell N., Ferreres J., Blasco M. L., Navarro D. Monitoring of Torque Teno virus DNAemia in critically ill COVID-19 patients: May it help to predict clinical outcomes? *Journal of Clinical Virology*, 2022, vol. 148, art. 105082. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2022.105082>

Информация об авторе

Осипкина Ольга Викторовна – заведующий научно-исследовательской лабораторией. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: olvik197@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1931-4224>

Information about the author

Olga V. Osipkina – Head of the Research Laboratory. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: olvik197@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1931-4224>

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 574.5, 574.583
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-157-166>

Поступила в редакцию 19.11.2025
Received 19.11.2025

А. Ю. Карпаева

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

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОЗЕР БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДЕКСА Q ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА

Аннотация. В работе представлены результаты оценки экологического состояния 11 озер Белорусского Поозерья различного трофического статуса с использованием индекса Q фитопланктонного сообщества в вегетационные сезоны 2023–2025 гг. Изучены сезонная динамика индекса и его взаимосвязь с ключевыми показателями трофности. Установлено, что индекс Q варьировал в широком диапазоне (от 0,11 до 4,03), демонстрируя сезонную изменчивость: повышение от весны к лету и снижение к осени, что отражает сезонную сукцессию фитопланктона. Наиболее высокие средние значения индекса, соответствующие хорошему качеству вод, зафиксированы в мезотрофных озерах Волос Северный, Волос Южный, тогда как минимальные характерны для гиперэвтрофных озер Великое, Ильменок. Корреляционный анализ выявил статистически значимые отрицательные связи индекса Q с биомассой фитопланктона ($\rho = -0,67$) и концентрацией общего фосфора ($\rho = -0,50$), а также положительную связь с прозрачностью воды ($\rho = +0,68$). Отсутствие значимой корреляции с долей сине-зеленых водорослей подчеркивает комплексный характер индекса, учитывающего вклад всех функциональных групп. Показано, что в гиперэвтрофных озерах индекс стабильно низок вне зависимости от сезона, в то время как в водоемах с более низким трофическим статусом он чувствителен к сезонным перестройкам сообщества. Полученные результаты подтверждают диагностическую ценность Q-индекса как интегрального показателя трофического статуса, но указывают на необходимость учета его сезонной динамики и ограничений, связанных с доминированием отдельных таксонов.

Ключевые слова: фитопланктон, трофический статус, индекс Q, Белорусское Поозерье, качество воды

Для цитирования: Карпаева, А. Ю. Оценка экологического состояния озер Белорусского Поозерья с использованием индекса Q фитопланктонного сообщества / А. Ю. Карпаева // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 157–166. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-157-166>

Anastasiya Yu. Karpaeva

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

ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATE OF LAKES IN THE BELARUSIAN LAKE REGION USING THE Q INDEX OF THE PHYTOPLANKTON COMMUNITY

Abstract. The article presents the results of an assessment of the ecological state of 11 lakes of the Belarusian Lake Region with different trophic status using the Q index of the phytoplankton community during the seasons of 2023–2025. The seasonal dynamics of the index and its relationship with key trophic indicators were examined. The Q index was found to vary widely (from 0.11 to 4.03), demonstrating seasonal variability: increasing from spring to summer and decreasing towards autumn, which reflects the seasonal succession of phytoplankton. The highest average index values, corresponding to good water quality, were recorded in mesotrophic lakes Volos Severny, Volos Yuzhny, while the lowest were typical of hypertrophic lakes Velikoye, Ilmenok. Correlation analysis revealed statistically significant negative correlations of the Q index with phytoplankton biomass ($\rho = -0.67$) and total phosphorus concentration ($\rho = -0.50$), and a positive correlation with water transparency ($\rho = +0.68$). The absence of a significant correlation with the proportion of cyanobacteria emphasizes the integrated nature of the index, which accounts for the contribution of all functional groups. It was shown that in hypertrophic lakes, the index remains consistently low regardless of the season, whereas in water bodies with a lower trophic status, it is sensitive to seasonal community rearrangements. The obtained results confirm the diagnostic value of the Q index as an integrative indicator of trophic status, but also highlight the need to consider its seasonal dynamics and limitations associated with the dominance of certain taxa.

Keywords: phytoplankton, trophic status, Q index, Belarusian Lake Region, water quality

For citation: Karpaeva A. Yu. Assessment of the ecological state of lakes in the Belarusian Lake Region using the Q index of the phytoplankton community. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya byalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 157–166 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-157-166>

Введение. В современных условиях интенсивной антропогенной нагрузки, связанной с ростом населения, урбанизацией и химизацией сельского хозяйства, проблема сохранения качества пресноводных экосистем приобретает особую актуальность. Наряду с традиционными физико-

химическими методами контроля все более востребованными становятся биоиндикационные подходы, позволяющие интегрировать влияние комплекса факторов на водные экосистемы. Особое место среди биологических индикаторов занимает фитопланктон, оперативно реагирующий на изменения трофического статуса и уровня загрязнения водоемов [1].

В контексте реализации принципов Водной рамочной директивы Европейского союза перспективным инструментом экологической оценки является индекс сообществ (Q-индекс), основанный на анализе функциональных групп фитопланктона [2], которые учитывают физиологические, морфологические и экологические особенности видов, определяющие их способность доминировать в конкретных условиях. Предполагается, что изменения в соотношении функциональных групп в ответ на изменение концентрации биогенных элементов потенциально более показательно, чем реакция отдельных видов, или родов.

Расчет индекса Q основан на определении относительного вклада функциональных групп в общую биомассу фитопланктона с учетом специальных весовых коэффициентов (*F*-факторов), адаптированных для конкретных типов водоемов [3].

Ключевым преимуществом Q-индекса, помимо возможности оценки трофического статуса, является его способность отражать экологическое качество водоема через соотношение индикаторных групп фитопланктона. А также, поскольку индикаторные группы выделены на основании их приуроченности к определенной комбинации свойств окружающей среды, Q-индекс может быть использован для тестирования таких мониторинговых систем, которые базируются на определенных местообитаниях, что недоступно при анализе только общей биомассы.

Целью настоящего исследования явилась оценка взаимосвязи Q-индекса с параметрами, традиционно используемыми для характеристики трофического статуса и уровня загрязнения водоемов.

Для этого анализировалась корреляция индекса с биомассой фитопланктона как прямым показателем трофности, прозрачностью воды, уровнем содержания общего фосфора (Р, мг/дм³), а также с долей сине-зеленых водорослей, которые рассматриваются в качестве индикаторов загрязнения и эвтрофирования. Полученные результаты позволят определить диагностическую ценность Q-индекса для комплексной экологической оценки озер Белорусского Поозерья.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ таксономического состава и биомассы фитопланктона в 66 пробах, собранных на 11 озерах разного трофического статуса Белорусского Поозерья с мая по сентябрь 2023–2025 гг.

Пробы из четырех озер Ушачшской группы (Чертсвятское, Вечелье, Отолово, Кривое) отбирали в 2023 г. три раза за сезон: в поздневесенний, раннелетний и позднелетний периоды. Пробы из пяти озер Браславской группы (Потех, Горушка, Обстерно, Волос Северный, Волос Южный) и пробы из гиперэвтрофных озер Ильменок и Великое отбирали в 2024 и 2025 гг. также три раза: в поздневесенний, летний и позднелетний периоды.

Морфометрические и некоторые биологические характеристики озер представлены в табл. 1.

Таблица 1. Морфометрические и некоторые биологические характеристики озер разного трофического статуса Белорусского Поозерья [4]

Table 1. Morphometric and some biological characteristics of lakes of different trophic status in the Belarusian Lake District [4]

Озеро	Площадь озера, км ²	Объем озера, км ³	Максимальная глубина, м	Средняя глубина, м	Прозрачность, м	Общая биомасса фитопланктона, мг/л
Чертсвятское	9,93	0,021	4,3	2,2	0,7	48,65
Вечелье	1,36	0,025	35,9	18,5	2,37	3,29
Отолово	8,2	0,028	16,4	3,5	2,67	8,43
Кривое	4,5	0,043	31,5	9,6	5,17	0,85
Потех	1,35	0,452	9,1	3,5	1,2	6,29
Горушка	0,18	0,0005	6,9	2,8	1,83	4,85
Обстерно	9,89	0,05	12	5,1	2,37	1,003
Волос Северный	4,21	0,031	29,2	7,3	5,27	0,46
Волос Южный	1,21	0,015	40,4	12,5	6,17	0,69
Ильменок	0,21	0,0006	6,4	3	1	46,8
Великое	0,89	0,003	5,7	2,5	0,36	23,07

Отбор образцов проводили батометром системы Молчанова объемом 8 л последовательно с поверхности, глубин одной и двух прозрачностей, смешивая затем в одну интегральную пробу. Также отбирали одну поверхностную пробу. Пробы воды фиксировали раствором Люголя в модификации Михеевой [5]. Концентрировали фитопланктон методом отстаивания от изначального объема 0,5 л.

Для подсчета численности использовали стандартные гидробиологические методы [6].

Биомассу определяли обычным счетно-объемным методом [5].

Видовой состав фитопланктона устанавливали с помощью светового микроскопа Axiostar Plus (Carl ZEISS, Германия) при увеличении $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$.

Видовую идентификацию проводили с помощью отечественных [7] и зарубежных определителей [8].

Оценку качества воды осуществляли с помощью индекса сообществ Q [2]:

$$Q_{i=1}^n = \sum pi \cdot F,$$

где pi – доля биомассы i -й функциональной группы в общей биомассе фитопланктона; F – коэффициент этой группы в исследуемом типе водоемов (фактор F), установленный для i -й функциональной группы.

Q-индекс рассчитывали для каждой пробы в каждый из сезонов с последующим осреднением для каждого озера. Соответствие видов кодам различных функциональных групп проводили согласно предложенным классификациям [2, 3, 5]. Диапазон значений коэффициента F (номера фактора) для выявленных функциональных ассоциаций водорослей в планктоне озер Белорусского Поозерья заимствовали из типологии, разработанной для европейских озер 5-го типа, которые являются постоянными и имеют площадь акватории менее 10 км² и глубину более 0,5 м [3].

Величина фактора F в таких водоемах варьирует от 0 до 5. Его наибольшее значение (5) присваивают комплексам видов, обитающих в стабильных природных условиях, неизмененных при внешнем воздействии, а самое низкое (0) – тем, что обитают в сильно нарушенных экосистемах.

При плохом качестве поверхностных вод индекс Q приобретает наименьшие значения – 0–1, при удовлетворительном – 1–2, при умеренном – 2–3, при хорошем – 3–4 и при высоком – 4–5 [9].

При оценке связи индекса Q с другими параметрами качества воды и уровня трофности использовали его значения, рассчитанные по совокупности всех видов, обнаруженных в пробе, имеющих код отдельных функциональных групп и составляющих более 2 % в общей доле биомассы всех видов. Оценку связи биотических и абиотических параметров осуществляли с помощью коэффициента детерминации для линейной регрессии и коэффициента ранговой корреляции Спирмена и Кендалла.

Результаты и их обсуждение. Исследование фитопланктонных сообществ в озерах Белорусского Поозерья показало выраженную сезонную изменчивость индекса Q, сопровождающуюся сменой доминирующих таксонов и функциональных групп.

В поздневесенний период в большинстве эвтрофных водоемов доминировали сине-зеленые водоросли (*Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs ex Bornet & Flahault, 1888; *Limnothrix planctonica* (Wołoszyńska) Meffert, 1987; *Geitlerinema lemmermannii* (Wołoszyńska) Anagnostidis, 1989), относящиеся к функциональным группам H₁ и S₁ по Рейнольдсу [2]. Их массовое развитие указывает на эвтрофные условия с высоким содержанием биогенных элементов (преимущественно азота), а также на состояния с сильным дефицитом света, что способствует снижению индекса Q. Одновременно в отдельных озерах возрастала роль криптофитовых (*Cryptomonas ovata* Ehrenberg, 1832; *Rhodomonas pusilla* (H. Bachmann) Javornicky, 1967), относящихся к группе Y, а также диатомовых водорослей (*Stephanodiscus hantzschii* Grunow, 1880; *Synedra acus* Kützing, 1844; *Cyclotella* (F. T. Kützing) A. de Brébisson, 1838 sp.) из групп A, C и D. В некоторых мезотрофных озерах (Волос Северный, Волос Южный, Кривое) преобладали виды *Dinobryon divergens* O. E. Imhof, 1887 и *Dinobryon bavaricum* Imhof, 1890, относящиеся к группе E, которая характеризует олиготрофные озера с низким содержанием биогенных элементов [10, с. 9].

В раннелетний период во многих мезотрофных озерах происходила смена доминантов: усиливалась роль мелкоклеточных сине-зеленых водорослей (*Aphanotece clatrata* West & G. S. West, 1906; *Microcystis Lemmermann*, 1907 sp.). В эвтрофных и гиперэвтрофных озерах Чертсвятское,

Великое продолжали доминировать виды-азотфиксаторы (*Aphanizomenon flos-aqua* и *Limnothrix planctonica*), в озерах Потех, Великое также доминировали эвгленовые водоросли (*Trachelomonas* Ehrenberg, 1833 sp.; *Phacus* Dujardin, 1841 sp.) из групп W₂, W₁, которые ассоциированы с высоким содержанием органического вещества и биологическим потреблением кислорода (БПК). В некоторых озерах массово развивались некоторые диатомовые водоросли (например, *Melosira granulata* (Ehrenberg) Ralfs, 1861 из группы P в оз. Горушка).

В мезотрофных озерах Вечелье, Отолово также наблюдался пик диатомовых водорослей, но за счет вида *Stephanodiscus* sp. из группы D, которая свидетельствует о повышенном содержании биогенных элементов.

В мезотрофных с чертами олиготрофии озерах (например, Кривое, Волос Северный) заметную долю сохраняли криптофитовые и золотистые водоросли (*Dinobryon divergens*, группа E), что поддерживало значения Q-индекса на уровне ближе к хорошему.

В позднелетний период картина вновь менялась. В ряде водоемов, прежде всего в Чертсвятском и Потехе, наблюдалось устойчивое доминирование азотфиксирующих сине-зеленых водорослей (*Planktolynghya limnetica*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Limnothrix planctonica*), что привело к снижению индекса Q до минимальных значений и падению качества воды до плохого. В то же время в озерах Кривое, Волос Южный и Волос Северный наблюдались значительные биомассы криптофитовых и мелкоклеточные формы сине-зеленых водорослей, таких как *Aphanotece clatrata* (группа K), что обеспечивало значения индекса Q ближе к хорошему.

Как видно из табл. 2, индекс Q колебался в пределах от очень низких значений (0,11 – в оз. Ильменок в раннелетний период, что соответствует плохому качеству воды) до относительно высоких (4,03 – в оз. Горушка и 3,10 – в оз. Волос Северный в раннелетний период, что соответствует хорошему качеству воды).

Таблица 2. Сезонные значения индекса Q для озер разного трофического статуса

Table 2. Seasonal values of the Q index for lakes of different trophic status

Озеро	Поздневесенний период	Раннелетний период	Позднелетний период	Доминирующие группы**
	Значение индекса Q*			
Чертсвятское	1,34	1,24	1,25	H ₁ , D
Вечелье	1,79	2,79	3,00	H ₁ , S ₁ ; D, W ₂
Отолово	2,93	2,40	1,31	Y, D, K, H ₁
Кривое	1,90	2,29	2,74	D, K, P, E
Потех	1,55	3,46	1,50	D, K, E, W ₂ ,
Горушка	1,96	4,03	2,02	H ₁ , D, K, W ₂
Обстерно	2,07	2,71	1,91	Y, D, E
Волос Северный	2,28	3,51	3,10	Y, E, K
Волос Южный	2,00	2,83	2,58	Y, E, K
Великое	1,64	0,98	1,18	Y, E, D, Lm, H ₁
Ильменок	2,24	0,11	1,83	D, E, H ₁ , J

Примечание. * – 0–1 – плохое значение, 1–2 – удовлетворительное; 2–3 – умеренное, 3–4 – хорошее и 4–5 – высокое. ** – D – мелководные водоемы с мутной водой и большим количеством биогенных элементов. Хорошо перемешаны; E – обычно небольшие олиготрофные водоемы с низким содержанием питательных веществ, дефицитом CO₂; J – мелководные, обогащенные биогенными элементами озера, адаптирующиеся к низкой освещенности; H₁ – водоемы с плохим освещением и низким общим фосфором. Организмы способны к азотфиксации; K – водоемы с большим количеством биогенных элементов, с устойчивым перемешиванием; Lm – эвтрофные водоемы с очень низким содержанием углерода; S₁ – водоемы с сильным дефицитом света; W₂ – мелководные мезотрофные озера; Y – чаще небольшие водоемы с низким уровнем освещенности.

Средние сезонные значения индекса Q изменялись от $1,97 \pm 0,4$ поздней весной до $2,4 \pm 1,1$ к раннему лету, а к осени снова незначительно понижались до $2,03 \pm 0,68$ (рис. 1).

Максимальные средние значения Q-индекса за весь период наблюдений были зарегистрированы в оз. Волос Северный (в среднем $2,96 \pm 0,5$), что соответствует хорошему качеству вод. Минимальные средние значения (около 1,2–1,4) получены для гиперэвтрофных озер Великое, Ильменок и Чертсвятское, что указывает на низкое качество вод.

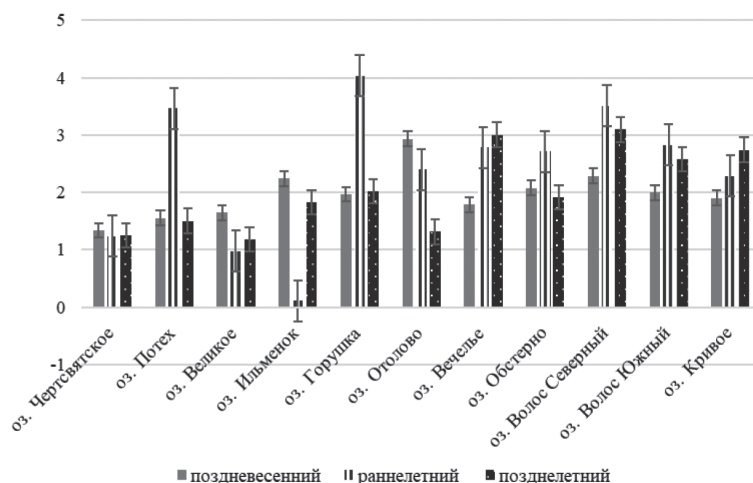


Рис. 1. Сезонные колебания индекса Q в озерах разного трофического статуса

Fig. 1. Seasonal fluctuations of the Q index in lakes of different trophic status

Важной задачей исследования являлась проверка того, насколько индекс Q фитопланктонного сообщества соотносится с основными экологическими параметрами озер Белорусского Поозерья, отражающими их трофический статус. Для этого были использованы данные по биомассе фитопланктона, прозрачности воды, уровню общего фосфора и относительной доле сине-зеленых водорослей в биомассе.

Так как распределение показателей не соответствовало нормальному, для анализа связей применялись непараметрические коэффициенты ранговой корреляции Спирмена и Кендэлла.

Рассчитанные коэффициенты показали, что индекс Q статистически значимо связан с тремя из четырех рассмотренных параметров.

Наиболее выраженной оказалась отрицательная зависимость между Q-индексом и биомассой фитопланктона ($\rho = -0,669$; $\tau = -0,5$; $p < 0,001$). Это указывает на то, что при увеличении биомассы индекс Q снижается, что отражает переход к более эвтрофному состоянию и ухудшение качества воды.

На графике «Индекс Q–биомасса» (рис. 2) прослеживается четкая нисходящая тенденция. При низкой биомассе (менее 2–3 мг/л) значения Q остаются на уровне 2,5–4,0, что соответствует умеренному или хорошему качеству воды. При биомассе свыше 10–15 мг/л индекс Q падает до значений ниже 1,5, что отражает эвтрофные и гиперэвтрофные состояния.

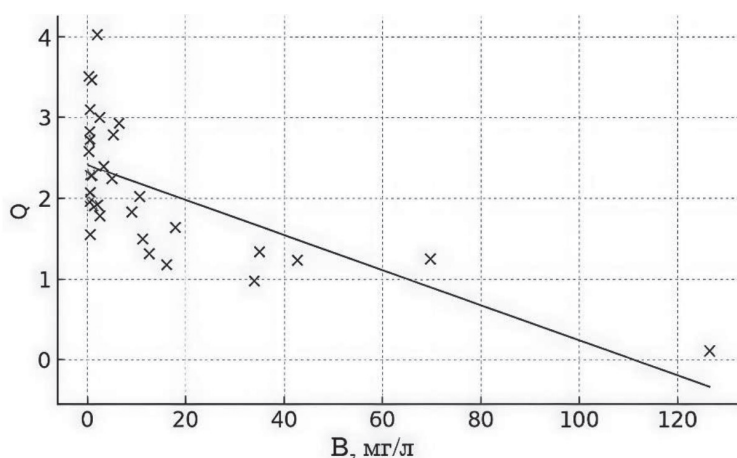


Рис. 2. Зависимость индекса Q от биомассы фитопланктона

Fig. 2. Dependence of the Q index on phytoplankton biomass

Зависимость индекса Q от прозрачности воды носит противоположный характер: была выявлена достоверная положительная корреляция ($\rho = +0,682$; $\tau = +0,506$; $p < 0,01$).

Диаграмма «Индекс Q–прозрачность» (рис. 3) демонстрирует обратную картину: наибольшие значения индекса наблюдаются при прозрачности более 5 м (озера Волос Северный, Волос Южный, Горушка), тогда как при прозрачности менее 1 м значения Q не превышают 1,5.

Таким образом, при большей прозрачности значения индекса выше, что согласуется с представлениями о том, что прозрачные озера характеризуются более благополучным экологическим состоянием.

Для общего фосфора также установлена значимая отрицательная корреляция с индексом Q ($\rho = -0,502$; $\tau = -0,34$; $p = 0,0029$), что указывает на снижение Q-индекса при росте концентрации фосфора (рис. 4).

Это подтверждает чувствительность индекса Q к уровню трофности: повышение содержания биогенных элементов (особенно фосфора, лимитирующего продукцию фитопланктона) ведет к изменению структуры сообществ в сторону эвтрофных видов и снижению индекса Q. Таким образом, индекс адекватно отражает степень трофического обогащения водоемов.

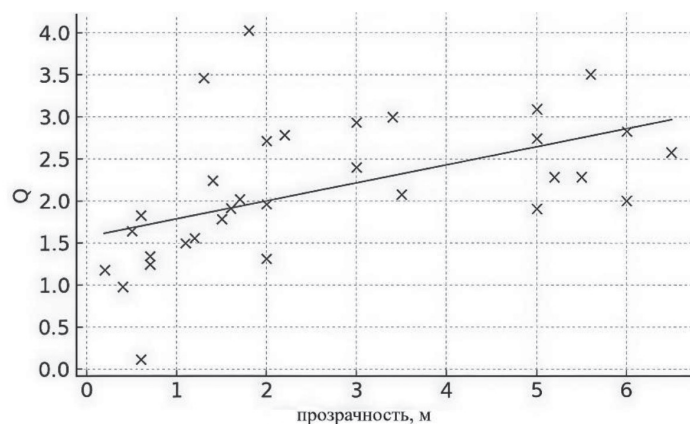


Рис. 3. Зависимость индекса Q от прозрачности воды

Fig. 3. Dependence of the Q index on water transparency

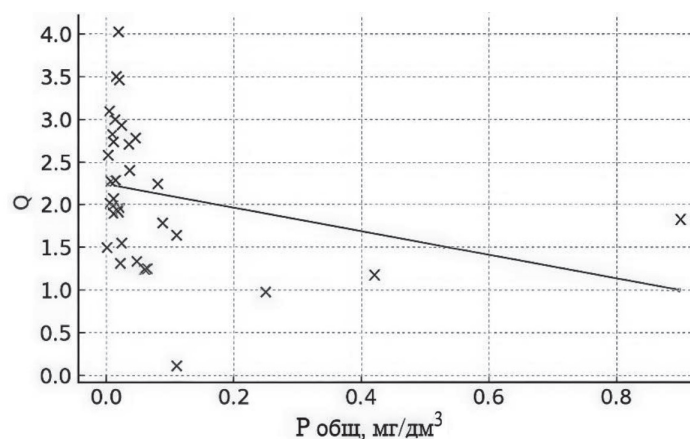


Рис. 4. Зависимость индекса Q от общего фосфора (P, мг/дм³)

Fig. 4. Dependence of the Q index on total phosphorus (P, mg/dm³)

Интересным результатом является отсутствие статистически значимой связи между индексом Q и относительной долей сине-зеленых водорослей (% в биомассе) ($\rho = -0,320$; $\tau = -0,216$; $p > 0,0799$). График «Индекс Q–доля сине-зеленых водорослей» (рис. 5) показал рассеянное распределение точек без явной зависимости.

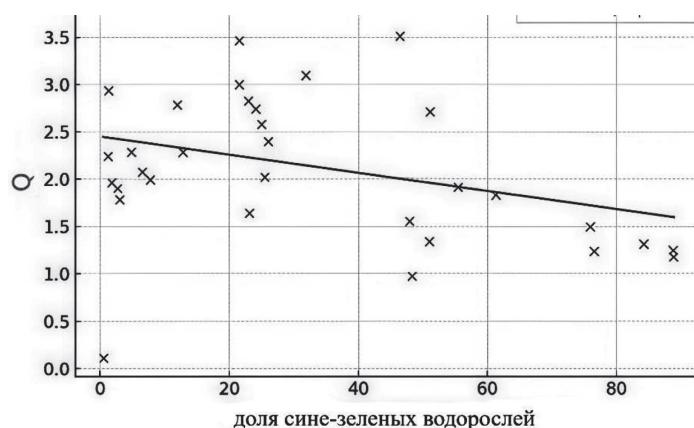


Рис. 5. Зависимость индекса Q от доли сине-зеленых водорослей

Fig. 5. Dependence of the Q index on the proportion of blue-green algae

На графике видно, что низкие значения индекса встречаются как при высокой доле сине-зеленых водорослей (например, в озерах Ильменок и Чертсвятское), так и при средней. В то же время озера с высоким Q-индексом (например, Горушка) могут содержать значительные, но не критические доли сине-зеленых водорослей. Это подтверждает, что сам по себе процент сине-зеленых водорослей в общей биомассе недостаточен для надежной оценки качества воды.

Исследование фитопланктонных сообществ в озерах Белорусского Поозерья показало выраженную сезонную изменчивость индекса Q, связанную со сменой доминирующих таксонов и функциональных групп, что согласуется с представлением о высокой чувствительности данного показателя к структурным изменениям сообществ и условиям среды [11, 12].

Средние сезонные значения Q-индекса изменялись от $1,97 \pm 0,4$ поздней весной до $2,4 \pm 1,1$ к раннему лету, а к осени снова незначительно понижались до $2,03 \pm 0,68$.

Такая сезонная изменчивость отражает закономерную смену функциональных групп фитопланктона под влиянием изменений температуры, освещенности, стратификации и содержания биогенных элементов, что неоднократно отмечалось и другими авторами [12, 13].

Колебания индекса наблюдались во всех изученных озерах.

Так, в ряде исследованных мезотрофных и мезотрофных с чертами олиготрофии озер (Вечелье, Обстерно, Кривое, Волос Северный и Волос Южный), некоторые из которых относятся к категории чистых водоемов и входят в состав природных заказников, качество вод по индексу Q варьировало от умеренного до хорошего. Такая неоднозначность интерпретации связана с особенностями расчета Q-индекса: значения могут снижаться не только под влиянием загрязнения или высокой трофности, но и за счет процентного вклада отдельных видов, не являющихся классическими индикаторами эвтрофирования. Даже при низких общих значениях биомассы доминирование одного или нескольких видов из функциональных групп с низкими весовыми коэффициентами способно существенно понижать итоговое значение индекса.

Так, в озерах Волос Северный, Волос Южный в поздневесенний период было зафиксировано значительное развитие таких видов, как *Dinobryon divergens*, *D. bavaricum*, *Synedra acus*, *Stephanodiscus* sp., которые традиционно не являются показателями биогенного загрязнения и не вызывают массовых цветений [10], однако относятся к функциональной группе, которая по методике расчета имеет низкий вклад в индекс Q, что приводит к уменьшению его итогового значения. Подобная закономерность отмечалась и в других исследованиях относительно ряда мезотрофных и чистых озер Турции и Европы. Согласно некоторым данным наблюдалось понижение Q-индекса в периоды массового развития *Dinobryon* spp. и других представителей функциональных групп, не связанных с эвтрофными условиями [14–16].

Гораздо сильнее варьировал индекс Q в эвтрофных озерах Потех, Горушка и Отолово. Его значения всегда увеличивались в раннелетний период, показывая хорошее качество воды, а затем снова значительно снижались к осени до показателей, соответствующих плохому или посредственному качеству.

Данная особенность эвтрофных водоемов была рассмотрена и другими исследователями, которые отмечают, что в определенный сезон в таких водоемах может наблюдаться снижение биогенного поступления (например, после сильных осадков, притоков разбавления, похолодания), что приводит к уменьшению продуктивности и смене видов на более мезотрофные. Тогда структура фитопланктона может стать более разнообразной, что приведет к повышению индекса Q [17].

Таким образом, водоем может быть трофически обогащенным (эвтрофным), но либо в конкретный сезон, либо после события разбавления, либо при изменении гидрологических условий на некоторое время видовая структура может переходить к состоянию выше по качеству (повышаются значения индекса Q).

Напротив, в гиперэвтрофных озерах Чертсвятское, Великое, Ильменок значения Q-индекса оставались стабильно низкими на протяжении всех сезонов, неизменно характеризуя качество воды как низкое. Это связано с тем, что в таких водоемах вне зависимости от сезона доминируют виды, относящиеся к функциональным группам, характерным для загрязненных и биогенно перенасыщенных условий (H_1 , S_1 , J). Эти группы формируются за счет массового развития устойчивых к эвтрофным условиям видов, таких как *Aphanizomenon flos-aquae*, *Limnithrix planctonica*, *Geitlerinema lemmermannii* и др. [2, 9].

Следовательно, было установлено, что только в гиперэвтрофных системах Q-индекс остается низким вне зависимости от сезона, тогда как в водоемах с более благоприятным трофическим статусом индекс Q чутко реагирует на сезонную смену функциональных групп.

Корреляционный анализ подтвердил значимые связи индекса Q с основными показателями трофности: отрицательные корреляции с биомассой фитопланктона ($\rho = -0,669$) и содержанием общего фосфора ($\rho = -0,50$) и положительную – с прозрачностью воды ($\rho = +0,682$). Эти зависимости соответствуют закономерностям, описанным ранее для различных регионов [1, 14, 16], и подтверждают, что Q-индекс может рассматриваться как интегральный индикатор трофического состояния, а не только как характеристика качества воды.

Однако полученные результаты также показывают, что индекс Q имеет ряд ограничений.

Во-первых, его значения существенно зависят от сезонной динамики сообществ и не всегда напрямую отражают кратковременные изменения состояния водоема. Например, при кратковременном снижении биогенных элементов или цветении ограниченного числа видов [12].

Во-вторых, массовое развитие отдельных таксонов, не только сине-зеленых водорослей, но и динофитовых (*Ceratium hirundinella* (O. F. Müller) Dujardin, 1841), эвгленовых (*Phacus*), диатомовых (*Stephanodiscus* sp., *Synedra acus*) и зеленых (*Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Breb., 1835; *Elakatothrix genevensis* (Reverdin) Hindák 1962) также может приводить к снижению индекса Q, хотя эти виды не всегда являются прямыми индикаторами загрязнения [18]. Иногда значения биомассы вообще могут не коррелировать с индексом Q, особенно в низкоэвтрофных системах [19].

Такая картина указывает на то, что рост доли сине-зеленых водорослей может сопровождаться некоторым ухудшением структуры фитопланктона (снижение индекса Q), но их доля сама по себе не определяет значения Q-индекса. Вероятно, этот показатель более комплексно отражает структуру сообщества, учитывая вклад различных функциональных групп фитопланктона, а не только одну таксономическую группу.

Заключение. Индекс Q фитопланктонного сообщества в озерах Белорусского Поозерья варьировал в широких пределах (от 0,11 до 4,0). В течение вегетационного сезона наблюдалась отчетливая смена функциональных групп фитопланктона и соответствующая динамика индекса: его значения повышались от поздней весны к раннему лету и снижались к осени.

Максимальные средние значения зафиксированы в озерах Волос Северный, Волос Южный и Горушка, что соответствует качеству воды ближе к хорошему, тогда как минимальные (около 1,3–1,4) наблюдались в озерах Великое, Ильменок и Чертсвятское, что указывает на низкое качество водоемов.

Было установлено, что только в гиперэвтрофных системах индекс Q остается низким вне зависимости от сезона, тогда как в водоемах с более низким трофическим статусом индекс реагирует на сезонную смену функциональных групп фитопланктона и может варьироваться в значительной степени.

Статистический анализ подтвердил значимые зависимости индекса Q: он отрицательно коррелировал с биомассой фитопланктона ($\rho = -0,67$) и общим фосфором ($\rho = -0,50$), а положительно – с прозрачностью воды ($\rho = +0,68$). Это свидетельствует о том, что Q-индекс чувствительно реагирует на изменение трофического уровня и может использоваться не только для оценки качества воды, но и как показатель трофического состояния водоемов.

При этом доля сине-зеленых водорослей не показала достоверной корреляции с индексом Q, что подчеркивает комплексный характер индекса: массовое развитие сине-зеленых водорослей не всегда однозначно отражает степень эвтрофирования, тогда как Q-индекс интегрирует вклад всех функциональных групп и отражает общую сбалансированность фитопланктонного сообщества.

В целом результаты исследования подтверждают то, что индекс Q является информативным биоиндикатором, способным характеризовать комплексное состояние озер Белорусского Поозерья, включая их трофический статус, однако индекс имеет ряд ограничений, которые необходимо учитывать при оценке состояния водоема.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Корнева, Л. Г. Динамика морфофункциональных групп фитопланктона Рыбинского водохранилища и оценка качества его вод по индексу сообществ / Л. Г. Корнева, В. В. Соловьева // Водные ресурсы. – 2021. – Т. 48, № 1. – С. 52–60.
2. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton / C. S. Reynolds, V. Huszar, C. Kruk [et al.] // *Journal of Plankton Research*. – 2002. – Vol. 24, N 5. – P. 417–428. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.5.417>
3. Семенченко, В. П. Экологическое качество поверхностных вод / В. П. Семенченко, В. И. Разлуцкий. – Мн.: Бел. наука, 2010. – 330 с.
4. Лопух, П. С. Общая лимнология: пособие для студентов геогр. фак. / П. С. Лопух, О. Ф. Якушко. – Мн.: БГУ, 2011. – 366 с.
5. Михеева, Т. М. Методы количественного учета нанофитопланктона (обзор) / Т. М. Михеева // *Гидробиологический журнал*. – 1989. – Т. 25, № 4. – С. 3–21.
6. Мордухай-Болтовский, Ф. Д. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов / Ф. Д. Мордухай-Болтовский. – М.: Наука, 1975. – 240 с.
7. Определитель пресноводных водорослей СССР: в 14 т. / АН СССР, Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова; отв. ред. М. М. Голлербах. – М.: Совет. наука; Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1951–1983. – 14 т.
8. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota. Oscillatoriales. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota. Oscillatoriales / J. Komárek, K. Anagnostidis. – München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, 2005. – 759 p.
9. Use of Phytoplankton Assemblages for Monitoring Ecological Status of Lakes within the Water Framework Directive: The Assemblage Index / J. Padisák, G. Borics, I. Grigorszky, É. Soróczki-Pintér // *Hydrobiologia*. – 2006. – Vol. 553. – P. 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-1393-9>
10. Armstrong, G. D. Colonies as defence in the freshwater phytoplankton genus *Dinobryon* (Chrysophyceae): Ph. D. Thesis / G. D. Armstrong; The University of British Columbia. – Vancouver, 1985. – 178 p.
11. Short Communication: Assessing phytoplankton species structure in trophically different water bodies of South Ural, Russia / A. Kostryukova, I. Mashkova, S. Belov [et al.] // *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. – 2021. – Vol. 22, N 8. – P. 3530–3538. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220853>
12. Кулицин, П. В. Опыт использования функциональной классификации фитопланктона для оценки качества воды некоторых левобережных притоков р. Волги (бассейн Чебоксарского водохранилища) / П. В. Кулицин, Е. Л. Воднеева, А. Г. Охапкин // *Принципы экологии*. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 48–59.
13. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters / U. Sommer, Z. M. Gliwicz, W. Lampert, A. Duncan // *Archiv für Hydrobiologie*. – 1986. – Vol. 106, N 4. – P. 433–471. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/106/1986/433>
14. Demir, A. N. Phytoplankton functional groups provide a quality assessment method by the Q assemblage index in Lake Mogan (Turkey) / A. N. Demir, O. Fakioglu, B. Dural // *Turkish Journal of Botany*. – 2014. – Vol. 38, N 1. – P. 169–179. <https://doi.org/10.3906/bot-1301-60>
15. Phytoplankton dynamics and structure, and ecological status estimation by the Q assemblage index: a comparative analysis in two shallow Mediterranean lakes / T. O. Sevindik, H. Tunca, A. Gönülol [et al.] // *Turkish Journal of Botany*. – 2017. – Vol. 41, N 1. – P. 25–36. <https://doi.org/10.3906/bot-1510-22>
16. Ochocka, A. Sensitivity of plankton indices to lake trophic conditions / A. Ochocka, A. Pasztaleniec // *Environmental Monitoring and Assessment*. – 2016. – Vol. 188. – Art. 622. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5634-3>
17. Phytoplankton Community Structure and Its Relationship with Environmental Factors in Nanhai Lake / D. Gong, Z. Guo, W. Wei [et al.] // *Diversity*. – 2022. – Vol. 14, N 11. – Art. 927. <https://doi.org/10.3390/d14110927>

18. Трифонова, И. С. Экология и сукцессия озерного фитопланктона / И. С. Трифонова. – Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1990. – 182 с.
19. Функциональная классификация фитопланктона и микробиологические параметры для оценки состояния прибрежных вод Южного Байкала / Д. В. Малашенков, И. В. Мошарова, В. В. Ильинский, С. А. Мошаров // Биология внутренних вод. – 2022. – № 1. – С. 3–13.

References

1. Korneva L. G., Solov'eva V. V. Dynamics of morphofunctional groups of phytoplankton of the Rybinsk Reservoir and assessment of the quality of its waters using the community index. *Vodnye resursy* [Water resources], 2021, vol. 48, no. 1, pp. 52–60 (in Russian).
2. Reynolds C. S., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L., Melo S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 2002, vol. 24, no. 5, pp. 417–428. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.5.417>
3. Semenchenko V. P., Razlutskiy V. I. *Ecological quality of surface waters*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2010. 330 p. (in Russian).
4. Lopukh P. S., Yakushko O. F. *General limnology: a manual for students of the Faculty of Geography*. Minsk, Belarussian State University, 2011. 366 p. (in Russian).
5. Mikheeva T. M. Methods of quantitative enumeration of nanophytoplankton (review). *Gidrobiologicheskii zhurnal* [Hydrobiological Journal], 1989, vol. 25, no. 4, pp. 3–21 (in Russian).
6. Mordukhai-Boltovskii F. D. *Methodology for studying biogeocenoses of inland water bodies*. Moscow, Nauka Publ., 1975. 240 p. (in Russian).
7. Gollerbakh M. M. (ed.). Identifier of freshwater algae of the USSR. 14 vol. Moskva, Sovetskaya nauka Publ., Leningrad, Nauka, Leningradskoe otделение Publ., 1951–1983 (in Russian).
8. Komárek J., Anagnostidis K. *Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota. Oscillatoriales*. München, Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, 2005. 759 p.
9. Padisak J., Borics G., Grigorszky I., Soroczki-Pinter E. Use of Phytoplankton Assemblages for Monitoring Ecological Status of Lakes within the Water Framework Directive: The Assemblage Index. *Hydrobiologia*, 2006, vol. 553, pp. 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-1393-9>
10. Armstrong G. D. *Colonies as defence in the freshwater phytoplankton genus Dinobryon (Chrysophyceae)*. Ph. D. Thesis. Vancouver, 1985. 178 p.
11. Kostryukova A., Mashkova I., Belov S., Shchelkanova E., Trofimenko V. Short Communication: Assessing phytoplankton species structure in trophically different water bodies of South Ural, Russia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 2021, vol. 22, no. 8, pp. 3530–3538. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220853>
12. Kulizin P. V., Vodeneeva E. L., Okhapkin A. G. Experience of using functional classification of phytoplankton to assess the water quality of some left-bank tributaries of the Volga River (Cheboksary Reservoir basin). *Printsiipy ekologii* [Principles of Ecology], 2020, vol. 9, no. 2, pp. 48–59 (in Russian).
13. Sommer U., Gliwicz, Z. M., Lampert W., Duncan A. 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>
14. Demir A. N., Fakioglu O., Dural, B. Phytoplankton functional groups provide a quality assessment method by the Q assemblage index in Lake Mogan (Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 2014, vol. 38, no. 1, pp. 169–179. <https://doi.org/10.3906/bot-1301-60>
15. Sevidik T. O., Tunca H., Gönülol A., Gürsoy N., Küçükaya Ş. N. Phytoplankton dynamics and structure, and ecological status estimation by the Q assemblage index: a comparative analysis in two shallow Mediterranean lakes. *Turkish Journal of Botany*, 2017, vol. 41, no. 1, pp. 25–36. <https://doi.org/10.3906/bot-1510-22>
16. Ochocka A., Pasztaleniec A. Sensitivity of plankton indices to lake trophic conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2016, vol. 188, art. 622. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5634-3>
17. Gong D., Guo Z., Wei W., Bi J., Wang Zh., Ji X. Phytoplankton Community Structure and Its Relationship with Environmental Factors in Nanhai Lake. *Diversity*, 2022, vol. 14, no. 11, art. 927. <https://doi.org/10.3390/d14110927>
18. Trifonova I. S. *Ecology and succession of lake phytoplankton*. Leningrad, Nauka. Leningradskoe otделение Publ., 1990. 182 p. (in Russian).
19. Malashenkov D. V., Mosharova I. V., Il'inskiy V. V., Mosharov S. A. Functional classification of phytoplankton and microbiological parameters for assessing the state of coastal waters of Southern Baikal. *Biologiya vnutrennikh vod* [Biology of inland waters], 2022, no. 1, pp. 3–13.

Информация об авторе

Карпаева Анастасия Юрьевна – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: karpaevanastya1@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0008-9240-7647>

Information about the author

Anastasiya Yu. Karpaeva – Junior Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: karpaevanastya1@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0008-9240-7647>

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 57.045
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-167-176>

Поступила в редакцию 21.10.2025
Received 21.10.2025

О. А. Лескова¹, Е. А. Бондаревич¹, Н. Н. Коцюржинская¹, Г. Ю. Самойленко¹, А. П. Лесков²

¹Читинская государственная медицинская академия, Чита, Российская Федерация

²Забайкальский государственный университет, Чита, Российская Федерация

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В *ARTEMISIA GMELINII*, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ

Аннотация. В статье приводятся данные об особенностях накопления некоторых химических элементов в почвах и органах *Artemisia gmelinii*, произрастающей на территории Забайкальского края (7 пунктов исследования). Содержание химических элементов в исследуемых образцах определяли методом рентгенофлуоресцентного анализа. Установлено, что в почвах исследуемых районов содержатся высокие концентрации валовых и подвижных форм (ВФ, ПФ) элементов, особенно железа, марганца, цинка, титана и хрома. Зафиксированы превышения предельно допустимой концентрации по Cr для ВФ элемента. Превышение кларка для почв по Mn, Zn, Co отмечено на двух точках исследования. По содержанию элементов в органах изучаемого вида в целом можно выстроить ряд: Fe > Mn > Zn > Ti > Cr > Cu > Ni > Co. Отмечено превышение кларка для железа, цинка, титана, хрома и никеля для надземных частей растений. Цинк и медь преимущественно концентрируются в листьях исследуемого вида, а железо, титан, хром и никель – в корнях. Расчет коэффициентов корневого барьера показал, что для большей части микроэлементов характерен барьерный тип накопления. Выявлено техногенное загрязнение изучаемого вида хромом, никелем, железом и титаном. Обнаружена прямая взаимосвязь между содержанием Co, Ni, Cr в почве и в растении.

Ключевые слова: *Artemisia gmelinii*, тяжелые металлы, надземные и подземные органы, Забайкальский край, рентгенофлуоресцентный метод, кларк

Для цитирования: Особенности накопления тяжелых металлов в *Artemisia gmelinii*, произрастающей на территории Забайкальского края / О. А. Лескова, Е. А. Бондаревич, Н. Н. Коцюржинская [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 167–176. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-167-176>

Olga A. Leskova¹, Evgeny A. Bondarevich¹, Natalia N. Kotsyurzhinskaya¹, Galina Yu. Samoilenko¹, Artem P. Leskov²

¹Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

²Transbaikalsk State University, Chita, Russian Federation

FEATURES OF HEAVY METAL ACCUMULATION IN *ARTEMISIA GMELINII* GROWING IN THE TRANSBAIKAL REGION

Abstract. The study presents data on the peculiarities of accumulation of some chemical elements in soils and organs of *Artemisia gmelinii*, which grows in the Transbaikalsk Region (7 study sites).

The content of chemical elements in the studied samples was determined by X-ray fluorescence analysis. It has been established that the soils of the studied areas contain high concentrations of gross and mobile forms of elements, especially iron, manganese, zinc, titanium, and chromium.

Exceedances of the MPC for Cr in gross forms of the element have been recorded. Exceeding the clark value for Mn, Zn, and Co in soils was observed at two study sites. According to the content of elements in the organs of the studied species as a whole it is possible to build a series: Fe > Mn > Zn > Ti > Cr > Cu > Ni > Co. Exceedances of the clark value for iron, zinc, titanium, chromium, and nickel have been observed in above-ground plants. Zinc and copper are predominantly concentrated in the leaves of the species under study, while iron, titanium, chromium, and nickel are concentrated in the roots. The calculation of root barrier coefficients showed that most of the micronutrients have a barrier type of accumulation. Technogenic contamination of the studied species with chromium, nickel, iron, and titanium was detected. A direct relationship was found between the content of Co, Ni, and Cr in the soil and the plant.

Keywords: *Artemisia gmelinii*, heavy metals, above-ground and underground organs, Transbaikalsk Region, X-ray fluorescence method, clarkes

For citation: Leskova O. A., Bondarevich E. A., Kotsyurzhinskaya N. N., Samoilenko G. Yu., Leskov A. P. Features of heavy metal accumulation in *Artemisia gmelinii* growing in the Transbaikalsk Region. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalogichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 167–176 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-167-176>

Введение. На современном этапе развития медицины значительный интерес вызывает применение лекарственного сырья растительного происхождения. Это может быть связано с его хо-

рошим лечебным эффектом, низкой стоимостью и относительной безвредностью. Лекарственное сырье должно быть экологически чистым и без содержания высоких концентраций загрязняющих элементов. Лекарственные растения, произрастающие на территории Забайкальского края, широко используются местным населением. Учитывая возможность сбора растительного сырья в зонах с повышенной техногенной или антропогенной нагрузкой, в биогеохимически неблагоприятных районах произрастания, необходим его химический анализ на содержание макро- и микроэлементов, включая тяжелые металлы.

Artemisia gmelinii Web. ex Stechm. – многолетний полукустарник из семейства сложноцветные. В России произрастает преимущественно в степных районах Алтая, Забайкалья и Дальнего Востока [1]. Вид используется в народной медицине как жаропонижающее, отхаркивающее, противоотечное, противовоспалительное средство [2–4].

Цель работы – изучить особенности накопления и распределения некоторых химических элементов (Ti, Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co) в почве и растениях *A. gmelinii*.

Объекты и методы исследования. Исследования проводились на определенных территориях Забайкальского края, которые условно можно разделить на две группы:

условно незагрязненные районы [5], где отсутствует интенсивный техногенез, – Дульдургинский р-н, окр. с. Иля (белоберезовый остепненный лес с мерзлотно-таежными дерновыми почвами); Акшинский р-н, окр. с. Курулга (сосново-лиственничный лес с мерзлотно-лугово-черноземными почвами);

техноземы – Агинский р-н, окр. п. г. т. Орловский, расположенного вблизи Орловского горно-обогатительного комбината, с 1962 г. добывающего и перерабатывающего литиевые, танталовые и вольфрамовые руды [6]; сильно урбанизированные территории – Сретенский р-н, окр. п. г. т. Кокуй, где длительно функционировал Сретенский судостроительный завод (мерзлотно-таежные типичные почвы); разные районы г. Читы и его окр. – стадион Восточного военного округа (ВВО), окр. поселков Песчанка и Молоковка (мерзлотно-таежные оподзоленные почвы).

Объектами исследования являлись корнеобитаемый слой почвы и органы растений *A. gmelinii*. Отбор проб растений для анализа (не менее 5 экз.) проводили на стадии цветения или активной вегетации (для большинства растений в эту фазу отмечается максимальная продуктивность и накопление веществ). В работе использовали надземную и подземную части исследуемого вида. Растения очищали от загрязнений, промывали в проточной, а затем в дистиллированной воде и сушили до воздушно-сухого состояния. Образцы почв отбирали на месте произрастания растений на глубине 0–10 см, очищали от крупных примесей, просеивали и составляли смешанную пробу методом конверта для проведения химического анализа.

Определение микроэлементов (Ti, Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co) в почве (валовое содержание (ВС) и подвижные формы (ПФ)) и растительных образцах выполнено методом рентгенофлуоресцентного анализа на спектрометре S2 Picofox (Bruker, Nano, Germany). Образцы предварительно подвергались разложению: почвы – смесью минеральных кислот или экстракции подвижных форм аммонийно-ацетатным буферным раствором (рН 4,7), растения – концентрированными кислотами и перекисью водорода.

Водородный показатель водной суспензии почвы измеряли потенциометрическим методом с помощью рН-метра Hanna HI 98128. Содержание органического углерода выполнялось по методу Тюрина со спектрофотометрическим окончанием на спектрофотометре ПЭ-5400УФ. Пересчет на количество гумуса (в %) проводили через коэффициент Шпренгеля (1,724) [7].

Для оценки степени аккумуляции химических элементов рассчитан коэффициент корневого барьера (Ккб) – отношение величин содержания элементов в корне растения и надземных органах. Для выявления связей между содержанием химических элементов в почве и их аккумуляцией в растениях был проведен корреляционный анализ (по Пирсону) с использованием программного пакета PAST 3.25 [8]. Анализировались парные связи между содержанием подвижных форм элементов в почве и их концентрацией в средней надземной части растения для всех точек отбора проб. Описательная статистика и визуализация данных проведены в программах Microsoft Excel 2019 и PAST 5.2.1 [8].

Результаты и их обсуждение. Почвы исследованных районов – мерзлотно-таежные дерновые, мерзлотно-лугово-черноземные и мерзлотно-таежные оподзоленные – характеризуются низким

содержанием гумуса (табл. 1). Кислотность почв близка к нейтральной. Согласно полученным данным максимальные показатели суммарного содержания валовых форм (ВФ) исследуемых элементов в почвах обнаружены на территории п. Песчанка. В соответствии с этим показателем исследуемые территории можно ранжировать в следующий ряд: п. Песчанка > п. Молоковка > с. Иля > п. г. т. Орловский > с. Курулга > г. Чита > п. г. т. Кокуй. Максимальные концентрации по ВФ зафиксированы для железа, марганца и титана; среди ПФ – для железа, марганца, цинка. Количество ВФ химических элементов превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) по хрому, однако по ПФ элемента значений выше нормирующих не зафиксировано. Выявлено превышение ПДК по ПФ марганца в Сретенском р-не и на территории стадиона ВВО (г. Чита). Содержание цинка и марганца выше кларковых величин отмечено для почв поселков Молоковка и Песчанка.

Таблица 1. Валовое содержание и количество подвижных форм химических элементов в почвах пунктов исследования, мг/кг

Table 1. Total content and quantity of mobile forms of chemical elements in soils of study sites, mg/kg

Формы элементов	pH	Гумус, %	Ti	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
с. Иля, Дульдургинский р-н										
ВФ	7,2	3,76	103,42	5,6	279,19	6 927,89	0,19	3,63	5,71	24,64
ПФ			0,71	0,65	0,19	6,51	0,07	0,19	0,16	2,93
с. Курулга, Акшинский р-н										
ВФ	7,2	3,15	53,86	3,5	32,29	1 189,28	0,53	1,09	1,26	34,3
ПФ			1,54	0,93	6,36	15,85	0,06	0,22	0,19	4,1
п. г. т. Кокуй, Сретенский р-н										
ВФ	7,3	8,42	11,24	–	577,85	152,45	7,13	6,92	0,73	42,33
ПФ			3,3	–	235,35	10,33	0,38	0,83	0,34	1,59
п. г. т. Орловский, Агинский р-н										
ВФ	8,00	1,73	45,58	4,91	169,84	3 928,75	0,16	3,26	5,11	41,14
ПФ			2,1	0,58	96,38	383,25	0,06	0,63	2,48	10,58
п. Песчанка (г. Чита)										
ВФ	7	6,2	190,61	11,74	958,74	15 202,77	0,46	9,98	15,98	82,63
ПФ			6,92	1,26	66,72	134,69	0,08	1,15	1,36	2,07
п. Молоковка (г. Чита)										
ВФ	6,7	6,08	10,27	3,26	1 172,34	7 560,61	11,74	18,41	1,52	155
ПФ			0,29	0,33	69,79	243,35	0,22	3,89	0,11	3,09
ВВО (г. Чита)										
ВФ	7	7,1	17,67	–	331,57	833,71	0,91	6,63	2,39	48,43
ПФ			2,1	–	46,26	168,44	0,74	0,61	1,71	18,23
Кларк почв Земли [9]			4 600	200	850	38 000	8	40	20	50
ПДК/ОДК (ВФ) [10]			–	0,05/	1 500/	–	–	/80	/132	/220
ПДК/ОДК (ПФ) [10]			–	6,0/	100/	–	5,0/	4,0/	3,0/	23,0/

Примечание. ОДК – ориентировочно допустимая концентрация.

На содержание химических элементов в растении оказывают влияние различные факторы: почвенные, микроклиматические и биологические (вид растения, его возраст, физиология и биохимия). Максимальное содержание микроэлементов в фитомассе *A. gmelinii* среди всех исследуемых проб было зафиксировано в образцах, отобранных на территории п. Песчанка (3 012 мг/кг), а минимальное – на территории стадиона ВВО (г. Чита) (207 мг/кг) (рис. 1).

Исследование особенностей аккумуляции элементов *A. gmelinii* показало, что фитомасса интенсивно накапливает железо, марганец и цинк (рис. 2). При этом содержание железа отличается высокой вариабельностью в образцах растений. Следует отметить, что для данного элемента отсутствуют нормативные показатели (ПДК). Максимальные величины концентрации железа зафиксированы у растений, произрастающих в окр. п. Песчанка (2 241 мг/кг) и с. Иля в Дульдургинском р-не (1 598 мг/кг), а минимальные – в окр. г. Читы (163 мг/кг). Кларк элемента в наземных растениях составляет 140 мг/кг; для всех исследованных образцов отмечено превышение данного показателя от 1,2 (min) до 16 (max) раз.

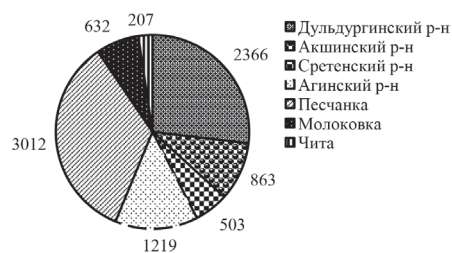


Рис. 1. Суммарное содержание восьми микроэлементов в растениях *A. gmelinii* по районам исследования, мг/кг

Fig. 1. Total content of eight microelements in *A. gmelinii* plants by study areas, mg/kg

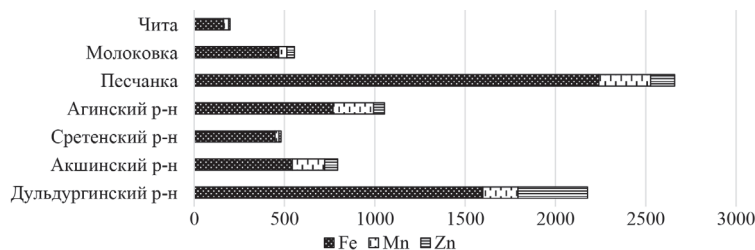


Рис. 2. Содержание Fe, Mn, Zn в растениях *A. gmelinii*, мг/кг

Fig. 2. Content of Fe, Mn, Zn in *A. gmelinii* plants, mg/kg

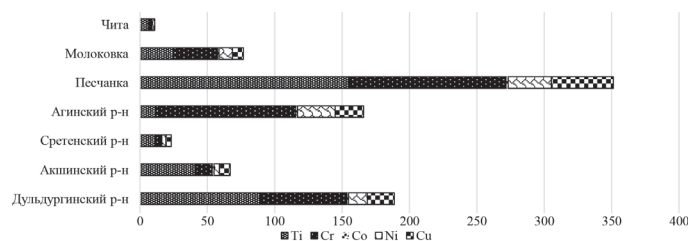


Рис. 3. Распределение химических элементов в растениях *A. gmelinii*, мг/кг

Fig. 3. Distribution of chemical elements in *A. gmelinii*, mg/kg

Для марганца характерна высокая подвижность по растению в связи с преобладанием его низкомолекулярных ПФ [11], что дает возможность растению быстро захватывать элемент в большом количестве. Выявлено, что максимальные концентрации Mn отмечены для растений *A. gmelinii* из окр. п. Песчанка (287 мг/кг) и п. г. т. Орловский Агинского р-на (224 мг/кг), минимальные – для п. г. т. Кокуй Сретенского р-на (22 мг/кг). Следует отметить, что почвы Сретенского р-на богаты элементом, но имеют щелочную реакцию среды, что, вероятно, способствует связыванию марганца в малорастворимые комплексы и затрудняет захват элемента растением. Для Mn наблюдается отрицательная корреляция с pH почв и положительная – с содержанием органического вещества [11]. Превышения кларка в надземных органах растений по элементу не зафиксировано. Среди исследуемых элементов наибольшую растворимость имеет цинк. Растения активно его поглощают, что связано с важным биологическим значением этого элемента: участвует в процессах фотосинтеза, пигментообразования, активации ферментов, поддержании пространственной структуры биополимеров. Содержание Zn в одном и том же виде растения может существенно различаться, что связано с разной кислотностью почв [12]. Оптимальная концентрация элемента в растениях колеблется в пределах 27–150 мг/кг, токсичная – 150–400 мг/кг [11]. В нашем случае максимальные величины содержания Zn зафиксированы в растениях *A. gmelinii* из окр. с. Иля Дульдургинского р-на (385 мг/кг) и п. Песчанка (133 мг/кг). Эти показатели превышают кларк (100 мг/кг) в наземных растениях в 3,85 и 1,33 раза соответственно. Другие изучаемые элементы обнаружены в значительно меньшем количестве (рис. 3).

Необходимо отметить высокое содержание титана в фитомассе *A. gmelinii*. Согласно литературным данным элемент повышает активность некоторых ферментов, а также увеличивает концентрацию железа в листьях и хлоропластах [13, 14]. Максимальные значения для элемента отмечены для вида, обитающего в окр. п. Песчанка (155 мг/кг) и в с. Иля Дульдургинского р-на (98 мг/кг). Кларк Ti в наземных растениях составляет 1 мг/кг. Для всех районов исследования наблюдается значительное превышение этого нормирующего показателя. Также следует отметить и высокие ВС элемента в почвах исследуемых районов. Элемент хром необходим для роста и развития растения, однако по токсичности уступает только ртути. В среднем в наземных растениях содержание Cr составляет 0,02–1,0 мг/кг [11], оптимальная концентрация – 0,4–0,6 мг/кг, а избыточная – >5 мг/кг. Анализ полученных данных показывает, что во всех образцах

A. gmelinii наблюдаются высокие концентрации Cr , значительно превышающие кларк для наземных растений (0,23 мг/кг сухого вещества). При этом максимальные значения зафиксированы в растениях, произраставших в окр. п. Песчанка (117 мг/кг) и в п. г. т. Орловский Агинского р-на (104 мг/кг). Считается, что медь в почвах является относительно малоподвижным элементом, а также интенсивно связывается веществами клеточной стенки и ее передвижение в надземную часть растения затруднено [11]. В среднем в растении содержится около 20 мг/кг сухой массы Cu , кларк для наземных растений – 14 мг/кг [13]. Для *A. gmelinii* выявлено, что средняя концентрация Cu в растении колебалась в пределах от 0,61 до 46,15 мг/кг. Максимальные значения зафиксированы в фитомассе *A. gmelinii* в окр. п. Песчанка (46 мг/кг) и в п. г. т. Орловский Агинского р-на (21 мг/кг). Никель относится к элементам, принимающим участие в жизнедеятельности растений [14, 15]. Содержание Ni в наземных растениях колеблется от 1 до 10 мг/кг. Небольшая концентрация Ni в растениях *A. gmelinii*, вероятно, связана с его низким содержанием в почвах и малой биодоступностью для растений. Границы токсичного уровня Ni для большинства видов растений лежат в пределах 5–30 мг/кг [11], а кларк для наземных растений – 3 мг/кг. Для *A. gmelinii* наблюдается превышение содержания микроэлемента в фитомассе в сравнении с кларковым числом практически на всех исследуемых участках. Максимальные значения зафиксированы в растениях из окр. п. Песчанка (32 мг/кг) и п. г. т. Орловский Агинского р-на (28 мг/кг). Кобальт также необходим для жизнедеятельности растений, поскольку входит в состав витамина B_{12} , ферментов, участвует в функционировании микробиома ризосферы, стимулируя процесс азотфиксации. Содержание Co в почвах нормируется, и ПДК для подвижных форм составляет 5 мг/кг. В исследовании выявлено, что концентрация данной формы элемента значительно ниже. Нормальное содержание Co в растительной продукции колеблется в пределах 0,02–1,0 мг/кг, токсичная концентрация – 15–50 мг/кг [11]. Кларк Co для наземных растений составляет 0,5 мг/кг. По среднему содержанию элемента в растениях *A. gmelinii* наблюдается превышение кларка для большей части участков. Максимальные значения Co зафиксированы в растениях, собранных в окр. п. Песчанка (1,23 мг/кг) и п. г. т. Орловский Агинского р-на (0,92 мг/кг).

Анализ содержания металлов в органах *A. gmelinii* показал, что железо, хром, титан, никель активно аккумулируются корневой системой, тогда как листья интенсивно поглощают и накапливают цинк и медь (табл. 2). Аналогичная закономерность накопления элементов для данного вида была описана в работах [19, 20]. Кроме того, имеются литературные данные [21, 22] о том, что выявленная особенность накопления характерна и для других видов полыней. Хром чаще концентрируется в наземной фитомассе. Элемент является токсичным для растений, и у них вырабатываются защитные механизмы в условиях загрязнения [23, 24]. В исследовании выявлено, что высокие концентрации хрома зафиксированы в растениях *A. gmelinii*, произрастающих в окр. г. Читы (поселки Песчанка и Молоковка), что, вероятно, связано с фолитарным путем поступления элемента. Кобальт относится к элементам незначительного накопления и равномерно распределен по органам изучаемого вида растения. При высоких концентрациях металлов в почве элементы активно поступают и в надземную часть растения, что возможно связано с нарушениями защитных механизмов вида. Из подземной фитомассы растений *A. gmelinii* элементы активно поступают в надземную, особенно при отсутствии развитых барьерных механизмов.

Для анализа возможности поступления химических элементов по системам «корень-лист», «корень-стебель» был рассчитан Ккб. Значения >1 свидетельствуют о наличии барьера при поступлении элементов в надземную фитомассу [25]. Расчет Ккб показал, что для большей части изучаемых микроэлементов характерным является барьерный тип накопления (табл. 2).

Для оценки фонового и аномального содержания микроэлементов в *A. gmelinii* целесообразно сопоставить полученные данные с результатами исследований в других регионах. Показатели среднего содержания элементов в надземной фитомассе растений *A. gmelinii* из относительно фоновых точек настоящего исследования (например, Акшинский р-н, окр. г. Читы) в целом сопоставимы с данными по надземной части растений из Тувы [17] и укосам трав из с. Бургень и окр. г. Нерчинска [18] (табл. 2). В то же время выявлены значительные превышения регионального фона для большинства изученных элементов в образцах из поселков Песчанка, Молоковка и п. г. т. Орловский Агинского р-на. Так, содержание хрома в растениях из п. г. т. Орловский

Таблица 2. Содержание химических элементов в надземной и подземной фитомассе *A. gmelinii* и коэффициент корневого барьераTable 2. The content of chemical elements in the aboveground and underground phytomass of *A. gmelinii* and the root barrier coefficient

Территория исследования	Орган растения	Среднее содержание элемента, мг/кг (Ккб)							
		Ti	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
с. Иля, Дульдургинский р-н	Корни	173,38	135,43	285,88	3 349,37	0,72	25,54	13,67	321,4
	Стебли	57,19 (3)	41,36 (3,3)	147,78 (1,9)	851,91 (3,9)	0,61 (1,2)	10,55 (2,4)	13,76 (1)	228,36 (1,4)
	Листья	35,67 (4,8)	18,96 (7)	151,71 (1,9)	592,31 (5,7)	0,84 (0,9)	4,93 (5,2)	31,08 (0,4)	604,09 (0,5)
	Средняя надземная часть	46,43 (3,73)	30,16 (4,5)	149,75 (1,9)	722,11 (4,6)	0,73 (0,9)	7,74 (3,3)	22,38 (0,6)	416,23 (0,8)
с. Курулга, Акшинский р-н	Корни	30,36	21,79	66,58	680,32	0,76	4,49	6,96	42,49
	Стебли	5,81 (5,2)	5,73 (3,8)	59,72 (1,1)	161,96 (4,2)	0,42 (1,8)	1,83 (2,5)	6,06 (1,1)	64,78 (0,7)
	Листья	49,83 (0,6)	12,65 (1,7)	250,75 (0,3)	588,78 (1,2)	1,01 (0,7)	2,59 (1,7)	5,36 (1,3)	83,58 (0,5)
	Средняя надземная часть	27,82 (1,1)	9,19 (2,4)	155,24 (0,4)	375,37 (1,8)	0,72 (1)	2,21 (2)	5,71 (1,2)	74,18 (0,6)
п. г. т. Кокуй, Сретенский р-н	Корни	17,35	8,12	33,65	658,6	0,21	4,27	4,59	9,07
	Стебли	0,53 (32,7)	1 (8,12)	4,33 (7,8)	21,67 (30,1)	0,2 (1,1)	0,53 (8,1)	1,47 (3,1)	6,27 (1,4)
	Листья	13,85 (1,3)	7,36 (1,1)	26,59 (1,3)	662,4 (1)	0,23 (0,9)	4,7 (0,9)	6,03 (0,8)	17,56 (0,5)
	Средняя надземная часть	7,19 (2,4)	4,18 (1,9)	15,46 (2,2)	342,04 (1,9)	0,22 (0,9)	2,62 (1,6)	3,75 (1,2)	11,92 (0,8)
п. г. т. Орловский, Агинский р-н	Корни	8,61	219,01	212,68	1027,07	0,7	63,62	25,11	57,12
	Стебли	15,78 (0,5)	43,45 (5)	136,0 (1,6)	645,87 (1,6)	0,46 (1,5)	9,84 (6,5)	18,38 (1,4)	77,99 (0,7)
	Листья	1,27 (6,8)	23,07 (9,5)	447,11 (0,5)	67,89 (15,1)	2,17 (0,3)	11,93 (5,3)	23,43 (1,1)	67,23 (0,8)
	Средняя надземная часть	8,53 (1)	33,26 (6,6)	291,56 (0,7)	356,88 (2,9)	1,32 (0,5)	10,89 (5,8)	20,91 (1,2)	72,61 (0,8)
п. Песчанка	Корни	29,68	27,96	164,5	574,43	1,34	14,5	29,68	87,69
	Стебли	55,29 (0,5)	20,38 (1,4)	425,45 (0,4)	1 037,4 (0,6)	1,2 (1,4)	16,94 (0,9)	34,82 (0,9)	150,99 (0,6)
	Листья	380,57 (0,1)	301,62 (0,1)	272,86 (0,6)	5 110,6 (1,1)	1,16 (1,2)	63,15 (0,3)	73,94 (0,4)	161,14 (0,5)
	Средняя надземная часть	217,93 (0,1)	161,0 (0,2)	349,16 (0,5)	3 074,0 (0,2)	0,59 (2,3)	40,04 (0,4)	54,38 (0,5)	156,07 (0,6)
п. Молоковка	Корни	16,61	35,23	24,22	374,22	0,73	9,36	5,96	30,18
	Стебли	16,61 (1)	17,32 (2)	45,09 (0,5)	306,88 (1,2)	0,63 (1,2)	10,54 (0,9)	8,3 (0,7)	54,55 (0,6)
	Листья	40,42 (0,4)	47,31 (0,7)	65,88 (0,4)	722,86 (0,5)	0,67 (1)	10,25 (0,9)	10,92 (0,5)	40,25 (0,7)
	Средняя надземная часть	28,52 (0,6)	32,32 (1)	55,89 (0,4)	514,87 (0,7)	0,65 (1,1)	10,40 (0,9)	9,61 (0,6)	47,40 (0,6)
ВВО (г. Чита)	Корни	12,08	2,63	45,14	369,67	0,27	1,18	1,45	8,63
	Стебли	0,81 (14,9)	1,04 (2,5)	7,88 (5,7)	28,85 (12,8)	0,12 (2,3)	0,23 (5,1)	1,39 (5,1)	3,48 (2,5)
	Листья	3,81 (3,2)	0,94 (2,8)	30,67 (1,5)	98,24 (4,1)	0,5 (0,5)	0,39 (3)	1,99 (0,7)	10,76 (0,8)
	Средняя надземная часть	2,31 (5,3)	0,99 (2,6)	19,28 (2,3)	59,05 (6,3)	0,31 (0,9)	0,31 (3,8)	1,69 (0,9)	7,12 (1,2)
Кларк наземных растений [16]		1,0	0,23	630	140	0,5	3	14	100
Среднее содержание микроэлементов в надземной части растений из Тувы [17]		54,6	1,92	85,2	561,4	0,30	1,19	9,8	40,3
Среднее содержание элемента в укосе трав Забайкалья [18]	с. Бургень, Читинский р-н	–	0,19	138,0	330	0,9	109,8	25,20	73,8
	г. Нерчинск	–	0,22	162,0	318,0	0,7	3,0	9,0	17,4

(33,26 мг/кг) и п. Песчанка (161,0 мг/кг) значительно превышает количество микроэлемента в пробах из с. Бургень (0,19 мг/кг), г. Нерчинска (0,22 мг/кг) и из Тувы (1,92 мг/кг). Аналогичная ситуация наблюдается для никеля: 10,89 мг/кг в п. г. т. Орловский Агинского р-на и 40,04 мг/кг в п. Песчанка против 3,0 мг/кг в г. Нерчинске и 1,19 мг/кг в Туве. Тем не менее в условиях с. Бургень количество никеля было аномально высоким (табл. 2). Исключительно высокое содержание железа в растениях из п. Песчанка (3 074,0 мг/кг) и с. Иля Дульдургинского р-на (722,11 мг/кг) также значительно превышает фоновые уровни, характерные для г. Нерчинска (318 мг/кг) и Тувы (561,4 мг/кг). Полученные данные убедительно свидетельствуют о сильном техногенном влиянии на экосистемы в точках отбора проб в поселках Песчанка, Молоковка и п. г. т. Орловский Агинского р-на, что делает собранное там растительное сырье потенциально опасным для медицинского и пищевого использования.

Анализ взаимосвязи между концентрацией подвижных форм элементов в почве и в надземной части растения позволил выявить статистически значимые сильные положительные корреляции между содержанием для таких элементов, как кобальт ($r = 0,91$), никель ($r = 0,88$) и хром ($r = 0,82$) (табл. 3).

Таблица 3. Коэффициенты корреляции Пирсона (r) между содержанием подвижных форм элементов в почве и их концентрацией в надземной части *A. gmelinii*

Table 3. Pearson correlation coefficients (r) between the content of mobile forms of elements in the soil and their concentration in the aboveground part of *A. gmelinii*

Элемент	Коэффициент корреляции (r) и p -уровень	Сила связи
Ti	0,15 ($p > 0,05$)	Слабая, незначимая связь
Mn	0,28 ($p > 0,05$)	
Fe	0,10 ($p > 0,05$)	
Cu	0,45 ($p > 0,05$)	
Zn	-0,30 ($p > 0,05$)	Слабая отрицательная, незначимая связь
Cr	0,82 ($p < 0,05$)	Сильная положительная связь
Co	0,91 ($p < 0,05$)	
Ni	0,88 ($p < 0,05$)	

Полученные величины корреляционной связи указывают на то, что аккумуляция Co, Ni и Cr в *A. gmelinii* происходит напрямую и пропорционально уровню почвенного загрязнения их ПФ. Элементы обладают высокой биологической доступностью в изученных условиях. Для других изученных элементов (Ti, Mn, Fe, Cu, Zn) достоверной сильной корреляционной связи не обнаружено (табл. 3), что свидетельствует о сложном характере их поглощения, который не ограничивается простым градиентом концентрации между почвой и растением. На их поступление и транслокацию значительное влияние оказывают другие факторы. Для железа и марганца выявлено влияние на накопление в почве величины pH и окислительно-восстановительных условий, что подтверждается аномально низким содержанием Mn в растении из Сретенского р-на при его высоком содержании в почве. Для меди и цинка, в связи с их эссенциальностью, можно предположить наличие активных физиологических механизмов для регуляции поступления, что нивелирует прямую зависимость от их почвенных концентраций. Для титана отмечено интенсивное накопление в надземной части *A. gmelinii*, что может указывать на возможность фолиарного поступления пылевых частиц, обогащенных титаном. Таким образом, прогнозировать накопление Co, Ni и Cr в *A. gmelinii* можно на основе данных о содержании их подвижных форм в почве. Для других элементов необходимо учитывать комплекс почвенных и физиологических факторов.

Выводы

1. В результате проведенных исследований было определено содержание Ti, Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co в почвах и растении *A. gmelinii*, произрастающем на территории Забайкальского края. Установлено, что ВС хрома в почвах всех исследованных районов Забайкальского края превышает ПДК, но по ПФ превышения не зафиксированы. Отмечены превышения ОДК по подвижным формам марганца в п. г. т. Кокуй Сретенского р-на и окр. г. Читы. Превышение региональ-

ного фонового содержания (кларка) – для почв по Mn, Zn, Co выявлено в поселках Молоковка и Песчанка.

2. Содержание химических элементов в *A. gmelinii* значительно варьирует в зависимости от района произрастания. По суммарному содержанию элементов в растении можно выстроить следующий ряд: п. Песчанка > с. Иля (Дульдургинский р-н) > п. г. т. Орловский (Агинский р-н) > п. Молоковка > с. Курулга (Акшинский р-н) > п. г. т. Кокуй (Сретенский р-н) > г. Чита.

3. Во всех изученных образцах растения *A. gmelinii* зафиксировано превышение кларковых значений для наземных растений по Fe, Zn, Ti, Cr, Ni. Содержание марганца, напротив, во всех случаях было ниже кларка.

4. Выявлены особенности распределения элементов по органам растения: железо, титан, хром и никель преимущественно аккумулируются в корневой системе *A. gmelinii*, а цинк и медь – в листьях.

5. Расчет Ккб подтвердил, что для большей части изученных микроэлементов характерен барьерный тип накопления, при котором их концентрация в подземных органах значительно выше, чем в надземных.

6. Сравнительный анализ показал, что содержание Cr, Ni, Fe, Ti в растениях из поселков Песчанка, Молоковка и п. г. т. Орловский Агинского р-на аномально высокое и значительно превышает фоновые уровни, характерные для других районов Забайкалья и сопредельных территорий (Тува, с. Бургень, г. Нерчинск), что свидетельствует о сильном техногенном загрязнении данных территорий.

7. Корреляционный анализ выявил прямую сильную зависимость накопления в надземной массе растения кобальта, никеля и хрома от содержания их ПФ в почве ($r = 0,91; 0,88$ и $0,82$ соответственно). Накопление остальных изученных элементов находится под сложным влиянием почвенных условий и физиологических барьеров растения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Флора Сибири: в 14 т. / сост.: И. М. Краснобородов, М. Н. Ломоносова, Г. К. Жирова [и др.]; под ред. И. М. Краснобородова. – Новосибирск: Наука, 1997. – Т. 13: Asteraceae (Compositae). – 472 с.
2. Телятьев, В. В. Полезные растения Центральной Сибири / В. В. Телятьев. – Иркутск: Вост.-Сиб. кн. изд-во, 1987. – 398 с.
3. Жигжитжапова, С. В. Химический состав эфирного масла *Artemisia gmelinii* Web. et Stechm, произрастающей в Центральной Азии / С. В. Жигжитжапова, Т. Э. Соктоева, Л. Д. Раднаева // Химия растительного сырья. – 2010. – № 2. – С. 131–133.
4. Чимитцыренова, Л. И. Применение в народной медицине *Artemisia gmelinii* травы / Л. И. Чимитцыренова, С. В. Жигжитжапова, Л. Д. Раднаева // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2019. – № 3. – С. 29–34.
5. Накопление и распределение химических элементов в растениях *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F. H. Wigg Забайкальского края / О. А. Лескова, Е. А. Бондаревич, Н. Н. Коцюржинская, А. П. Лесков // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2025. – Т. 33, № 2. – С. 204–218.
6. Быбин, Ф. Ф. Орловский горно-обогатительный комбинат / Ф. Ф. Быбин // Энциклопедия Забайкалья. – URL: <https://ez.chita.ru/encycl/concepts/?id=4450> (дата обращения: 10.02.2025).
7. Воробьева, Л. А. Химический анализ почв / Л. А. Воробьева. – М.: МГУ, 1998. – 272 с.
8. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis / Ø. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontologia Electronica. – 2001. – Vol. 4, N 1. – Art. 4. – URL: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf (date of access: 10.02.2025).
9. Алексеенко, В. А. Химические элементы в городских почвах / В. А. Алексеенко, А. В. Алексеенко. – М.: Логос, 2014. – 310 с.
10. Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания»: Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 2: с изм. от 24 дек. 2025 г. № 19 // КонсультантПлюс. Россия: справ. правовая система (дата обращения: 16.04.2025).
11. Кабата-Пендиас, А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. – 439 с.
12. Побилат, А. Е. Микроэлементы в сельскохозяйственных растениях (обзор) / А. Е. Побилат, Е. И. Волошин // Микроэлементы в медицине. – 2021. – Т. 22, № 3. – С. 3–14.
13. Иванов, В. В. Экологическая геохимия элементов: справочник: в 6 кн. / В. В. Иванов. – М.: Экология, 1995. – Кн. 4: Главные d-элементы. – 407 с.

14. Кашин, В. К. Условно необходимые микроэлементы в лекарственных растениях Забайкалья / В. К. Кашин // Химия в интересах устойчивого развития. – 2011. – Т. 19, № 3. – С. 259–266.
15. Протасова, Н. А. Формы соединений никеля, свинца и кадмия в черноземах Центрально-Черноземного региона / Н. А. Протасова, Н. С. Горбунова // Агрохимия. – 2006. – № 8. – С. 68–76.
16. Справочник по геохимии / Г. В. Войткевич, А. В. Кокин, А. И. Мирошников, В. Г. Прохоров. – М.: Недра, 1990. – 480 с.
17. Круглов, Д. С. Микроэлементный состав наиболее распространенных растений рода *Artemisia* L. / Д. С. Круглов, Д. Л. Прокушева // Химия растительного сырья. – 2022. – № 3. – С. 139–149.
18. Концентрирование металлов растениями рода *Salix* и их значение при выявлении кадмиевых аномалий / В. В. Ермаков, Н. С. Петрунина, С. Ф. Тютиков [и др.] // Геохимия. – 2015. – № 11. – С. 978–990.
19. Гудкова, О. В. Содержание тяжелых металлов в полыни Гмелина на территории Шерловогорского горнорудного района / О. В. Гудкова, Г. А. Юргенсон // Минералогия и геохимия ландшафта горнорудных территорий. Современное минералообразование: материалы II Всерос. симпозиума с междунар. участием и VIII Всерос. чтений памяти акад. А. Е. Ферсмана, Чита, 24–27 нояб. 2008 г. / Забайкал. гос. гуманитар.-пед. ун-т им. Н. Г. Чернышевского – Чита, 2008. – С. 56–58.
20. Юргенсон, Г. А. Свинец и висмут в полыни Гмелина хвостохранилища Шерловогорского ГОКа (Юго-Восточное Забайкалье) / Г. А. Юргенсон, Д. Н. Горбань // Вестник Забайкальского государственного университета. – 2015. – № 10. – С. 20–32.
21. Самойленко, Г. Ю. Изучение содержания тяжёлых металлов в почвах и дикорастущих растениях инверсионно-вольтамперометрическим методом / Г. Ю. Самойленко, Е. А. Бондаревич, Н. Н. Коцюркинская // Ученые записки Забайкальского государственного университета. – 2017. – Т. 12, № 1. – С. 31–39.
22. Дьякова, Н. А. Накопление тяжелых металлов и мышьяка лекарственным растительным сырьем полыни горькой / Н. А. Дьякова // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. – 2020. – Т. 20, № 4. – С. 445–453.
23. Дьякова, Н. А. Изучение особенностей накопления тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье синантропной флоры Воронежской области / Н. А. Дьякова // Химия растительного сырья. – 2023. – № 2. – С. 163–170.
24. Sharma, D. A. Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism / D. A. Sharma, C. Chatterjee, C. D. Sharma // Plant Science. – 1995. – Vol. 111, N 2. – P. 145–151. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(95\)04230-r](https://doi.org/10.1016/0168-9452(95)04230-r)
25. Афанасьева, Л. В. Накопление и распределение микроэлементов в растениях *Arctostaphylos uva-ursi* / Л. В. Афанасьева, Т. А. Аюшина // Химия растительного сырья. – 2018. – № 3. – С. 123–128.

References

1. Krasnoborov I. M., Lomonosova M. N., Zhirova G. K., Zhirova O. S., Ovchinnikova S. V., Tupitsyna N. N., Kurbatskii V. I., Korobkov A. A., Polozhii A. V., Shaulo D. N. *Flora of Siberia. Vol. 13. Asteraceae (Compositae)*. Novosibirsk, Nauka Publ., 1997. 472 p. (in Russian).
2. Telyat'ev V. V. *Useful plants of Central Siberia*. Irkutsk, East Siberian Book Publishing House, 1987. 398 p. (in Russian).
3. Zhigzhitzhapova S. V., Soktoeva T. E., Radnaeva L. D. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia gmelinii* Web. et Stechm, which grows in Central Asia. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2010, no. 2, pp. 131–133 (in Russian).
4. Chimittsyrenova L. I., Zhigzhitzhapova S. V., Radnaeva L. D. Use of *Artemisia gmelinii* herb in folk medicine. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Meditsina i farmatsiya* [Bulletin of Buryat State University. Medicine and Pharmacy], 2019, no. 3, pp. 29–34 (in Russian).
5. Leskova O. A., Bondarevich E. A., Kotsyurzhinskaya N. N., Leskov A. P. Accumulation and distribution of chemical elements in plants of *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F. H. Wigg of the Transbaikal Territory. *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti = RUDN Journal of Ecology and Life Safety*, 2025, vol. 33, no. 2, pp. 204–218 (in Russian).
6. Bybin F. F. Oryol Mining and Processing Plant. *Encyclopedia of Transbaikalia*. Available at: <https://ez.chita.ru/encycl/concepts/?id=4450> (accessed 10.02.2025) (in Russian).
7. Vorob'eva L. A. *Chemical analysis of soils*. Moscow, Moscow State University, 1998. 272 p. (in Russian).
8. Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001. vol. 4, no. 1, art. 4. Available at: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf (accessed 10.02.2025).
9. Alekseenko V. A., Alekseenko A. V. *Chemical elements in urban soils*. Moscow, Logos Publ., 2014. 310 p. (in Russian).
10. On approval of sanitary rules and regulations SanPiN 1.2.3685-21 “Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans”: Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated January 28, 2021 No. 2: as amended on December 24, 2025 No. 19. *ConsultantPlus. Russia: reference legal system* (accessed 16.04.2025) (in Russian).
11. Kabata-Pendias A., Pendias Kh. *Microelements in soils and plants*. Moscow, Mir Publ., 1989. 439 p. (in Russian).
12. Pobilat A. E., Voloshin E. I. Micronutrients in agricultural plants (review). *Mikroelementy v meditsine* [Microelements in medicine], 2021, vol. 22, no. 3, pp. 3–14 (in Russian).

13. Ivanov V. V. *Ecological geochemistry of the elements: handbook. Bk 4. Main d-elements*. Moscow, Ecology, 1995. 407 p. (in Russian).
14. Kashin V. K. Conditionally necessary microelements in the medicinal herbs of Transbaikalia. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya = Chemistry for Sustainable Development*, 2011, vol. 19, no. 3, pp. 259–266 (in Russian).
15. Protasova N. A., Gorbunova N. S. Nickel, lead, and cadmium forms in chernozems of the central chernozemic zone. *Agrokhimiya [Agrochemistry]*, 2006, no. 8. pp. 68–76 (in Russian).
16. Voitkevich G. V., Kokin A. V., Miroshnikov A. E., Prokhorov V. G. *Handbook of Geochemistry*. Moscow, Nedra Publ., 1990. 480 p. (in Russian).
17. Kruglov D. S., Prokusheva D. L. The trace-element constituents of the most widespread plants of genus *Artemisia* L. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya [Chemistry of plant raw materials]*, 2022, no. 3, pp. 139–149 (in Russian).
18. Ermakov V. V., Petrunina N. S., Tyutikov S. F., Danilova V. N., Khushvakhtova S. D., Degtyarev A. P., Krechetova E. V. Concentrating metals by plants of the genus *Salix* and their importance for identification of Cd anomalies. *Geochemistry International*, 2015, vol. 53, no. 11, pp. 951–963. <https://doi.org/10.1134/S0016702915110026>
19. Gudkova O. V., Yurgenson G. A. Quantity of heavy metals in the Gmelin wormwood on the territory of Sherlovogorsk mining district. *Mineralogiya i geokhimiya landshafta gornorudnykh territorii. Sovremennoe mineraloobrazovanie: materialy II Vserossiiskogo simpoziuma s mezhdunarodnym uchastiem i VIII Vserossiiskikh chtenii pamyati akademika A. E. Fersmana, Chita, 24–27 noyabrya 2008 goda [Mineralogy and Geochemistry of the Landscape of Mining Territories. Modern Mineral Formation: Proceedings of the 2nd All-Russian Symposium with International Participation and the 8th All-Russian Readings in Memory of Academician A. E. Fersman, Chita, November 24–27, 2008]*. Chita, 2008, pp. 155–157 (in Russian).
20. Yurgenson G. A., Gorban' D. N. Lead and bismuth in the wormwood *Artemisia Gmelini* in the tailing pond Sherlovogorsk mine (South-Eastern Transbaikalie). *Vestnik Zabaikal'skogo gosudarstvennogo universiteta [Bulletin of the Transbaikal State University]*, 2015, no. 10, pp. 20–32 (in Russian).
21. Samoilenko G. Yu., Bondarevich E. A., Kotsyurzhinskaya N. N. Studying the quantitative indices of heavy metals in soils and wild-growing plants by an inversion-voltamperometric method. *Uchenye zapiski Zabaikal'skogo gosudarstvennogo universiteta [Scientific Notes of the Transbaikal State University]*, 2017, vol. 12, no. 1, pp. 31–39 (in Russian).
22. D'yakova N. A. Accumulation of heavy metals and arsenic by medicinal plant raw material of bitter hollow. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya [News of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology]*, 2020, vol. 20, no. 4, pp. 445–453 (in Russian).
23. D'yakova N. A. Study of peculiarities of accumulation of heavy metals and arsenic in medicinal plant raw materials of synanthropic flora of Voronezh region. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya [Chemistry of plant raw materials]*, 2023, no. 2, pp. 163–170 (in Russian).
24. Sharma D. A., Chatterjee C., Sharma C. D. Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism. *Plant Science*, 1995, vol. 111, no. 2, pp. 145–151. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(95\)04230-r](https://doi.org/10.1016/0168-9452(95)04230-r)
25. Afanas'eva L. V., Ayushina T. A. Accumulation and distribution of microelements in *Arctostaphylos uva-ursi* plants. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya [Chemistry of plant raw materials]*, 2018, no. 3, pp. 123–128 (in Russian).

Информация об авторах

Лескова Ольга Александровна – канд. биол. наук, доцент. Читинская государственная медицинская академия (ул. Горького, д. 39а, 672000, г. Чита, Российская Федерация). E-mail: leskova-olga@inbox.ru. <https://orcid.org/0000-0001-9565-3546>

Бондаревич Евгений Александрович – канд. биол. наук, доцент. Читинская государственная медицинская академия (ул. Горького, д. 39а, 672000, г. Чита, Российская Федерация). E-mail: ev.bond123@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-0032-3155>

Кожуржинская Наталья Николаевна – канд. биол. наук, доцент, заведующий кафедрой. Читинская государственная медицинская академия (ул. Горького, д. 39а, 672000, г. Чита, Российская Федерация). E-mail: kotsyurzhinskaya@inbox.ru. <https://orcid.org/0000-0003-0061-8014>

Самойленко Галина Юрьевна – канд. биол. наук, ассистент. Читинская государственная медицинская академия (ул. Горького, д. 39а, 672000, г. Чита, Российская Федерация). E-mail: g.s.311278@mail.ru. <https://orcid.org/0009-0006-0671-3388>

Лесков Артем Петрович – канд. биол. наук, доцент. Забайкальский государственный университет (ул. Александрово-Заводская, д. 30, 672039, г. Чита, Российская Федерация). E-mail: leskov-artem80@inbox.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4158-5952>

Information about the authors

Olga A. Leskova – Ph. D. (Biol.), Associate Professor Chita State Medical Academy (39a, Gorky Str., 672000, Chita, Russian Federation). E-mail: leskova-olga@inbox.ru. <https://orcid.org/0000-0001-9565-3546>

Evgeny A. Bondarevich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Chita State Medical Academy (39a, Gorky Str., Chita, 672000, Russian Federation). E-mail: bondarevich84@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-0032-3155>

Natalia N. Kotsyurzhinskaya – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Department. Chita State Medical Academy (39a, Gorky Str., 672000, Chita, Russian Federation). E-mail: nata_nik_k@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-0061-8014>

Galina Yu. Samoilenko – Ph. D. (Biol.), Assistant. Chita State Medical Academy (39a, Gorky Str., 672000, Chita, Russian Federation). E-mail: g.s.311278@mail.ru. <https://orcid.org/0009-0006-0671-3388>

Artem P. Leskov – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Transbaikal State University (30, Alexandro-Zavodskaya Str., 672039, Chita, Russian Federation). E-mail: leskov-artem80@inbox.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4158-5952>