



ЖУРНАЛ
БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

БИОЛОГИЯ

JOURNAL
OF THE BELARUSIAN STATE UNIVERSITY

BIOLOGY

Издается с января 1969 г.
(до 2017 г. – под названием «Вестник БГУ.
Серия 2, Химия. Биология. География»)

Выходит три раза в год

3

2021

МИНСК
БГУ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

| | |
|---|--|
| Главный редактор | СИДОРОВ А. В. – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь. E-mail: sidorov@bsu.by |
| Заместитель главного редактора | ДЕМИДЧИК В. В. – доктор биологических наук, доцент; декан биологического факультета Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь. E-mail: dzemidchik@bsu.by |
| Ответственный секретарь | ХРАМЦОВА Е. А. – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь. E-mail: elena_khramtsova@inbox.ru |
| <i>Гельтман Д. В.</i> | Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия. |
| <i>Давыденко О. Г.</i> | Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь. |
| <i>Зинченко А. И.</i> | Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь. |
| <i>Кильчевский А. В.</i> | Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь. |
| <i>Кульчицкий В. А.</i> | Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь. |
| <i>Медведев С. С.</i> | Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия. |
| <i>Решетников В. Н.</i> | Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь. |
| <i>Семак И. В.</i> | Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. |
| <i>Титок М. А.</i> | Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. |
| <i>Усанов С. А.</i> | Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь. |

EDITORIAL BOARD

| | |
|-----------------------------------|--|
| Editor-in-chief | SIDOROV A. V. , doctor of science (biology), full professor; professor at the department of human and animal physiology of the faculty of biology of the Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: sidorov@bsu.by |
| Deputy editor-in-chief | DEMIDCHIK V. V. , doctor of science (biology), docent; dean of the faculty of biology of the Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: dzemidchik@bsu.by |
| Executive secretary | KHRAMTSOVA E. A. , PhD (biology), docent; associate professor at the department of genetics of the faculty of biology of the Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: elena_khramtsova@inbox.ru |
| <i>Geltman D. V.</i> | V. L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. |
| <i>Davydenko O. G.</i> | Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. |
| <i>Zinchenko A. I.</i> | Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. |
| <i>Kilchevsky A. V.</i> | National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. |
| <i>Kulchitsky V. A.</i> | Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. |
| <i>Medvedev S. S.</i> | Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia. |
| <i>Reshetnikov V. N.</i> | Central Botanical Garden, Minsk, Belarus. |
| <i>Semak I. V.</i> | Belarusian State University, Minsk, Belarus. |
| <i>Titok M. A.</i> | Belarusian State University, Minsk, Belarus. |
| <i>Usanov S. A.</i> | National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. |

ИСТОРИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ

HISTORICAL MATERIALS AND SIGNIFICANT DATES

УДК 57:378.4(476-25)096

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ В БЕЛОРУССКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ НА ПРОТЯЖЕНИИ 100 ЛЕТ

*В. В. ДЕМИДЧИК¹⁾, В. Н. ТИХОМИРОВ¹⁾, В. С. МАЦКЕВИЧ¹⁾, В. В. САХВОН¹⁾,
Т. И. ДИТЧЕНКО¹⁾, И. М. ПОПИНАЧЕНКО¹⁾, С. В. БУГА¹⁾, В. В. ГРИЧИК¹⁾,
А. Н. ЕВТУШЕНКОВ¹⁾, Н. П. МАКСИМОВА¹⁾, В. А. ПРОКУЛЕВИЧ¹⁾,
И. В. СЕМАК¹⁾, И. И. СМОЛИЧ¹⁾, А. Г. ЧУМАК¹⁾, В. В. ЛЫСАК¹⁾*

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Статья приурочена к столетию БГУ и биологического университетского образования в Беларуси. Описана история биологического факультета, представлена ретроспектива развития его подразделений с 1921 г. Выделены наиболее значительные личности и события. Продемонстрирована неразрывная связь жизни факультета и университета в целом.

Ключевые слова: биологический факультет; БГУ; история; учебный процесс; научные исследования.

BIOLOGICAL EDUCATION IN BELARUSIAN STATE UNIVERSITY FOR 100 YEARS

*V. V. DEMIDCHIK^a, V. N. TIKHOMIROV^a, V. S. MATSKEVICH^a,
V. V. SAKHVON^a, T. I. DITCHENKO^a, I. M. POPINACHENKO^a,
S. V. BUGA^a, V. V. GRICHIK^a, A. N. EVTUSHENKOV^a, N. P. MAXIMOVA^a,
V. A. PROKULEVICH^a, I. V. SEMAK^a, I. I. SMOLICH^a, A. G. CHUMAK^a, V. V. LYSAK^a*

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: V. N. Tikhomirov (tikhomirov_v_n@list.ru)

The article is dedicated to the centenary of Belarusian State University and the centenary of biological university education in Belarus. The history of the faculty of biology is described, a retrospective of the development of its units since 1921 is presented. The most significant personalities and events are highlighted. The inseparable connection between the life of the faculty and the university as a whole is demonstrated.

Keywords: faculty of biology; Belarusian State University; history; educational process; scientific research.

Образец цитирования:

Демидчик ВВ, Тихомиров ВН, Машкевич ВС, Сахвон ВВ, Дитченко ТИ, Попиначенко ИМ, Буга СВ, Гричик ВВ, Евтушенков АН, Максимова НП, Прокулевич ВА, Семак ИВ, Смолич ИИ, Чумак АГ, Лысак ВВ. Биологическое образование в Белорусском государственном университете на протяжении 100 лет. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:3–16. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-3-16>

For citation:

Demidchik VV, Tikhomirov VN, Matskevich VS, Sakhvon VV, Ditchenko TI, Popinachenko IM, Buga SV, Grichik VV, Evtushenkov AN, Maximova NP, Prokulevich VA, Semak IV, Smolich II, Chumak AG, Lysak VV. Biological education in Belarusian State University for 100 years. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:3–16. Russian. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-3-16>

Сведения об авторах см. на с. 15–16.

Information about the authors see p. 15–16.





Биологическое образование в БГУ появилось с момента организации в 1921 г. медицинского факультета, в состав которого входили кафедры ботаники и зоологии. В 1922 г. в университете открылся педагогический факультет с отделением естествознания, за которым было закреплено преподавание дисциплин биологического цикла, после чего названные кафедры перешли в его ведение.

Первый набор студентов на отделение естествознания в 1922 г. включал 151 человека, занятия проходили в вечернее время. В этот период благодаря стараниям сотрудников отделения были заложены основы национальной биологической науки, стали формироваться научные школы белорусских ботаников (Н. М. Гайдуков, Н. А. Збитковский), зоологов (П. А. Мавродиadi, А. В. Федюшин, Н. В. Добротворский), физиологов животных (Л. П. Розанов, Е. М. Зубкович), физиологов и биохимиков растений (Н. М. Гайдуков, Т. Н. Годнев). Тогда же были созданы зоологический музей, гербарий и ботанический сад. В период с 1921 по 1931 г. биологические кафедры являлись подразделениями педагогического и – в меньшей степени – медицинского факультетов, которые располагались в корпусах бывшего Минского женского духовного училища по ул. Широкой, 24 и ул. Широкой, 28 соответственно (сейчас эти здания в сильно перестроенном виде вписаны в объем корпусов Генерального штаба Вооруженных Сил Республики Беларусь на пересечении современных улиц Куйбышева и Коммунистической).

Работой отделений педагогического факультета руководили предметные комиссии. В начале 1925 г. предметная комиссия отделения естествознания признала целесообразным официально разделить его на три цикла обучения – физико-химический, биологический и геолого-географический, закрепив за одним из них специализацию каждого студента. Спустя 6 лет, в 1931 г., биологический цикл обучения был выделен в качестве самостоятельного биологического факультета. Кафедры факультета располагались в новом университетском городке: большинство из них разместились в корпусе природоведческих наук (в настоящее время – корпус факультета географии и геоинформатики БГУ), отдельные кабинеты имелись в химическом (сейчас – корпус Института ядерных проблем БГУ) и медицинском (здание снесено в 1970-х гг. при строительстве метрополитена) корпусах. В 1930-х гг. закладывается новый ботанический сад, который также располагался в университетском городке (сегодня на этой территории находятся внутренний дворик и главный корпус БГУ).

Первым деканом факультета (с 16 августа 1931 г.) стала доцент О. Д. Акимова, руководившая им до 1932 г., а затем с 1944 по 1948 г. В 1930-х гг. должность декана факультета являлась общественной нагрузкой, и ее поочередно занимали Ф. И. Дербенцов (с 1932 г.), Е. М. Зубкович (с 1936 г.), Т. Н. Годнев (с 1937 г.), М. Е. Макушок (с 1939 г.). Набор студентов на биологический факультет в 1931–1940 гг. не превышал 45 человек в год.

Начало Великой Отечественной войны в июне 1941 г. прервало работу университета и факультета на 2 года (1941–1942). Постановлением Совнаркома СССР от 15 мая 1943 г. БГУ возобновил свою деятельность в эвакуации на ст. Сходня в Московской области. В числе прочих к обучению приступили и 25 студентов биологического факультета. Занятия проводили преподаватели Т. Н. Годнев, С. В. Калишевич, М. Е. Макушок, О. Д. Акимова и др. В Минск университет возвратился в 1944 г. Вначале факультет расположился в двухэтажном доме по ул. Витебской, 9 (сейчас это здание по ул. Витебской, 21), а после восстановления корпусов университетского городка в 1948 г. вернулся в корпус природоведческих наук. К 1947 г. в полном объеме была возобновлена деятельность 5 кафедр, на факультете работал 21 преподаватель, в том числе 6 профессоров. В этот же период стал воссоздаваться фондовый гербарий при кафедре ботаники, восстанавливались зоологический музей, научно-исследовательская лаборатория фотосинтеза. Уже в 1946 г. начала работать биологическая станция на оз. Нарочь, инициатором создания которой выступил заведующий кафедрой зоологии беспозвоночных Л. А. Зенкевич, а в 1947 г. была организована кафедра дарвинизма и генетики.

С 1948 по 1953 г. деканом биологического факультета являлся доцент С. В. Калишевич, а с 1953 по 1971 г. – доцент П. Г. Петрович. В этот период были открыты новые кафедры – микробиологии (1960), биохимии (1964). На факультете работали ряд видных ученых: академики Н. В. Турбин, П. Ф. Рокицкий, Т. Н. Годнев, А. С. Вечер, профессора Г. Г. Винберг, Б. Я. Эльберт, П. А. Буланов, Е. П. Кесарева и др. В 1969 г. факультет переехал в новый корпус по ул. Ленинградской, 14.

В 1971–1973 гг. должность декана биологического факультета занимал заслуженный работник народного образования БССР, профессор Ю. К. Фомичев, в 1973–1980 гг. – заслуженный работник народного образования БССР, профессор А. Т. Пикулев, в 1980–1996 гг. – заслуженный работник высшей школы БССР, профессор А. С. Шуканов. В этот период на факультете произошел ряд значимых событий: была создана кафедра общей экологии (1974), получили развитие несколько новых направлений научных исследований, факультет переехал в новый учебный корпус по ул. Курчатова, 5. Количество обучающихся на факультете превысило 1000 человек, началась подготовка студентов по специальности



«биоэкология» и направлению «Биотехнология». Кроме непрерывно функционировавшей Нарочанской биостанции, с 1987 по 1992 г. работала Вилейская биостанция, построенная при активном участии студенческих стройотрядов факультета и являвшаяся одной из лучших в СССР.

С 1996 по 2019 г. деканом факультета являлся заслуженный работник образования Республики Беларусь В. В. Лысак. В этот период факультет активно рос и переоснащался. В начале 2001 г. был сдан в эксплуатацию новый учебно-лабораторный корпус биологического факультета по ул. Курчатова, 10. Открылись новые специальности – «биохимия» и «микробиология», началась подготовка в магистратуре по специальности «биология». К 2015 г. набор студентов на 1-й курс биологического факультета достиг 400 человек.

С марта 2019 г. деканом факультета является доктор биологических наук В. В. Демидчик. В этот период расширена подготовка в магистратуре: в 2019 г. открыты новые специальности – «микробиология» и «биохимия», впервые на факультете начата подготовка магистров на английском языке по специальности «Biology» (профилизации – «Molecular cell biology» и «Molecular and clinical biology»). Кроме того, разработана и утверждена программа специальности «биоинженерия и биоинформатика», прием на которую начнется в 2022 г.

В настоящее время на биологическом факультете работают 115 штатных преподавателей, функционируют 9 кафедр: ботаники, микробиологии, зоологии, клеточной биологии и биоинженерии растений, физиологии человека и животных, общей экологии и методики преподавания биологии, генетики, биохимии, молекулярной биологии. Имеются 9 научно-исследовательских лабораторий, зоологический музей, ботанический сад, гербарий, учебная лаборатория вычислительной техники и технических средств обучения и учебно-научный центр «Нарочанская биологическая станция имени Г. Г. Винберга». Ежегодно на факультете обучаются около 1900 студентов (дневная и заочная формы получения образования), 45 магистрантов и 35 аспирантов.

Кафедра ботаники – одна из первых кафедр БГУ – была основана в 1921 г. С момента своего открытия она претерпела ряд реорганизаций и переименований: в разные годы называлась кафедрой ботаники, кафедрой морфологии и систематики растений, кафедрой систематики растений и вновь кафедрой ботаники. В этот период на ней работали профессор В. В. Лепешкин, ассистенты И. В. Попов и Н. А. Збитковский, заложившие традицию флористических исследований. Материалы Н. А. Збитковского легли в основу созданного в 1924 г. научного гербария БГУ (в настоящее время его фонды насчитывают более 80 тыс. единиц хранения). В этом же году Н. А. Збитковский начал работы по организации первого ботанического сада БГУ.

В 1924 г. профессором и руководителем кафедр ботанического профиля стал известный альголог и физиолог растений, один из основоположников изучения фотосинтеза водорослей, профессор Н. М. Гайдуков. С его именем связано зарождение в Беларуси экспериментальных работ по альгологии и цитологии водорослей. В 1928 г. после очередной реорганизации кафедру возглавил еще один известный альголог, профессор Я. В. Ролл. В дальнейшем альгологические исследования активно развивала ученица Н. М. Гайдукова – доцент О. Д. Акимова.

С 1934 по 1936 г. кафедрой заведовал профессор С. П. Мельник – основатель Центрального ботанического сада НАН Беларуси и ботанического сада БГУ. В это время на кафедре работал член-корреспондент АН БССР, профессор М. П. Томин, с приходом которого на ней стали развиваться исследования лишайников Беларуси. С именами М. П. Томина и Н. О. Цеттерман связано становление на кафедре не только лихенологических, но и флористических исследований. Они приняли участие в написании пятитомного труда «Флора БССР» (1949–1959). Дальнейшие флористические исследования на кафедре связаны с именами А. К. Ефремкиной, Н. К. Кудряшевой, Г. И. Зубкевич, Т. А. Сауткиной, А. Т. Федорука, Ю. А. Бибилова, В. В. Черника, М. А. Джуса, В. Н. Тихомирова (заведующий кафедрой с 2018 г.) и др. В частности, ими проведено детальное обследование Налибокской пущи, Беловежской пущи, Национального парка «Нарочанский», Минской возвышенности и др., обосновано создание ряда заказников.

Долгие годы с кафедрой была связана деятельность академика АН БССР, профессора Н. А. Дорожкина. Он начал работать на кафедре в 1933 г., а с 1948 г. был избран ее заведующим. Н. А. Дорожкин сформировал научную школу по микологии, фитопатологии и иммунитету растений к болезням. В дальнейшем исследования в этом направлении развивали профессор А. С. Шуканов (заведующий кафедрой с 1971 по 1996 г.), доцент В. Д. Поликсенова (заведующий кафедрой с 1996 по 2018 г.), доцент А. К. Храпцов (при участии А. И. Стефановича, И. С. Гириловича, Н. А. Лемезы, В. И. Гулиса, С. Г. Сидоровой, М. А. Стадниченко и др.). В последние годы благодаря доценту З. Е. Грушецкой в практику классических ботанических и микологических исследований и преподавание на кафедре активно внедряются современные молекулярно-генетические методы.



Корпуса Минского женского духовного училища, в которых в 1921–1930 гг. располагались первые кафедры биологического профиля БГУ (фото 1914–1916 гг.)
The buildings of the Minsk Women's Theological School, in which in 1921–1930 the first departments of the biological profile of BSU were located (photo 1914–1916)



Корпус природоведческих наук (слева) и химический корпус (справа) университетского городка, в которых в 1931–1969 гг. находились кафедры биологического факультета
The building of natural sciences (left) and the chemical building (right) of the university campus, in which there were departments of the faculty of biology in 1931–1969



Вид на университетский городок с заложенным ботаническим садом (фото 1936 г.)
View of the university campus with the established botanical garden (photo 1936)



О. Д. Акимова – первый декан биологического факультета
O. D. Akimova, first dean of the faculty of biology



С. В. Калишевич – декан биолого-почвенного факультета с 1948 по 1953 г., заведующий кафедрой физиологии растений с 1960 по 1971 г.
S. V. Kalishevich, dean of the faculty of biology and soil science from 1948 to 1953, head of the department of plant physiology from 1960 to 1971



П. Г. Петрович – декан биологического факультета с 1953 по 1971 г., заведующий кафедрой зоологии беспозвоночных с 1967 по 1974 г.
P. G. Petrovich, dean of the faculty of biology from 1953 to 1971, head of the department of invertebrate zoology from 1967 to 1974



Ю. К. Фомичев – декан
биологического факультета с 1971 по 1973 г.,
заведующий кафедрой микробиологии с 1969 по 1988 г.,
а также кафедрой генетики и биотехнологии с 1988 по 1993 г.
Yu. K. Fomichev, dean of the faculty of biology from 1971 to 1973,
head of the department of microbiology from 1969 to 1988, as well as
the department of genetics and biotechnology from 1988 to 1993



А. Т. Пикулев – декан
биологического факультета с 1973 по 1980 г.,
заведующий кафедрой биохимии с 1964 по 1993 г.
A. T. Pikulev, dean of the faculty
of biology from 1973 to 1980,
head of the department of biochemistry from 1964 to 1993



А. С. Шуканов – декан
биологического факультета с 1980 по 1996 г.,
заведующий кафедрой ботаники с 1971 по 1996 г.
A. S. Shukanov, dean of the faculty of biology from 1980 to 1996,
head of the department of botany from 1971 to 1996



В. В. Лысак – декан
биологического факультета с 1996 по 2019 г.
V. V. Lysak, dean of the faculty
of biology from 1996 to 2019



В. В. Демидчик – декан биологического факультета
с 2019 г. по настоящее время
V. V. Demidchik, dean of the faculty of biology from 2019 to the present



Н. М. Гайдуков – профессор кафедр ботанического профиля с 1924 по 1928 г.
N. M. Gaidukov, professor at the departments of botanical profile from 1924 to 1928



Н. А. Дорожкин – заведующий кафедрой ботаники с 1948 по 1971 г. (с перерывом в 1965–1966 гг.)
N. A. Dorozhkin, head of the department of botany from 1948 to 1971 (with a break in 1965–1966)



А. В. Федюшин – основатель белорусской зоологической школы, с момента организации БГУ преподаватель, а с 1927 по 1933 г. профессор кафедры зоологии
A. V. Fedyushin, founder of the Belarusian zoological school, lecturer since the establishment of BSU, and from 1927 to 1933 professor at the department of zoology



М. Е. Макушок – заведующий кафедрой зоологии с 1937 по 1941 и с 1943 по 1952 г., а также кафедрой дарвинизма и генетики с 1950 по 1952 г.
M. E. Makushok, head of the department of zoology from 1937 to 1941 and from 1943 to 1952, as well as the department of darwinism and genetics from 1950 to 1952



Г. Г. Винберг – заведующий кафедрой зоологии с 1946 по 1948 и с 1950 по 1955 г., а также кафедрой зоологии беспозвоночных с 1955 по 1967 г.
G. G. Vinberg, head of the department of zoology from 1946 to 1948 and from 1950 to 1955, as well as the department invertebrate zoology from 1955 to 1967



П. Ф. Рокицкий – заведующий кафедрой зоологии позвоночных с 1960 по 1969 г.

P. F. Rokitsky, head of the department of vertebrate zoology from 1960 to 1969



И. К. Лопатин – заведующий кафедрой зоологии с 1974 по 1998 г.

I. K. Lopatin, head of the department of zoology from 1974 to 1998



Т. Н. Годнев – заведующий кафедрой физиологии растений и микробиологии с 1928 по 1960 г.

T. N. Godnev, head of the department of plant physiology and microbiology from 1928 to 1960



И. А. Ветохин – заведующий кафедрой физиологии человека и животных с 1935 по 1941 г.

I. A. Vetokhin, head of the department of human and animal physiology from 1935 to 1941



В. М. Юрин – заведующий кафедрой физиологии и биохимии растений с 1991 по 2011 г.

V. M. Yurin, head of the department of plant physiology and biochemistry from 1991 to 2011



Г. С. Юньев – заведующий кафедрой физиологии человека и животных с 1951 по 1953 и с 1957 по 1972 г.
G. S. Yun'ev, head of the department of human and animal physiology from 1951 to 1953 and from 1957 to 1972



А. Р. Жебрак – заведующий кафедрой дарвинизма и генетики с 1947 по 1950 г.
A. R. Zhebrak, head of the department of darwinism and genetics from 1947 to 1950



Н. В. Турбин – заведующий кафедрой дарвинизма и генетики с 1953 по 1970 г.
N. V. Turbin, head of the department of darwinism and genetics from 1953 to 1970



А. В. Константинов – заведующий кафедрой дарвинизма и генетики с 1970 по 1979 г.
A. V. Konstantinov, head of the department of darwinism and genetics from 1970 to 1979



Б. Я. Эльберт – заведующий кафедрой микробиологии с 1962 по 1963 г.
B. Ya. Elbert, head of the department of microbiology from 1962 to 1963



В. П. Ляхнович – заведующий кафедрой общей экологии с 1974 по 1985 г.
V. P. Lyakhovich, head of the department of general ecology from 1974 to 1985



Кафедра зоологии – еще одна из старейших кафедр университета – организована в конце 1921 г. Первыми ее профессорами были П. А. Мавродиادي и А. С. Щепотьев. Формирование кафедры неразрывно связано с именем А. В. Федюшина – заслуженного деятеля науки РСФСР, который с момента основания БГУ работал на кафедре зоологии сначала в должности преподавателя, а с 1927 г. – профессором. Уже в июле – августе 1921 г. А. В. Федюшин организовал первую зоологическую экспедицию по Минской области. Материалы, собранные в ходе этой и последующих экспедиций, составили основу для создания зоологического музея, который долгие годы являлся структурным подразделением кафедры. Впервые после революции были начаты целенаправленные планомерные исследования фауны наземных позвоночных республики. С 1933 по 1935 г. кафедрой зоологии руководил профессор И. Г. Соболев, изучавший состав микрофлоры и микрофауны желудочно-кишечного тракта копытных. В 1935 г. кафедра зоологии была разделена на кафедру зоологии беспозвоночных, которую возглавила доцент С. А. Гусева (в 1939–1941 гг. ею руководил академик АН СССР Л. А. Зенкевич), и кафедру зоологии позвоночных, ею заведовал доцент Е. М. Зубкович. В первые послевоенные годы они снова были объединены в кафедру зоологии, которой вначале руководил профессор М. Е. Макушок, впоследствии ставший академиком АН БССР, основателем школы белорусских ихтиологов. В 1950-х гг. на кафедре работал член-корреспондент АН БССР, профессор И. Н. Сержанин. Его труды, посвященные млекопитающим Беларуси, до настоящего времени занимают центральное место в отечественной териологии. С 1946 по 1948 и с 1950 по 1955 г. кафедрой зоологии, а с 1955 по 1967 г. отделившейся кафедрой зоологии беспозвоночных руководил член-корреспондент АН СССР, профессор Г. Г. Винберг – основоположник комплексных гидробиологических исследований в Беларуси, создатель нового направления научных исследований, а именно продукционной экологии. Выдающийся ученый и блестящий педагог Г. Г. Винберг создал школу белорусских гидробиологов, подготовил многих крупных специалистов, среди которых десятый президент АН Беларуси, академик НАН Беларуси и АН СССР Л. М. Сушеня, член-корреспондент НАН Беларуси А. П. Остапеня, доктора биологических наук Н. М. Крючкова, Л. В. Камлюк, Г. А. Галковская, З. З. Финенко, Т. М. Михеева (все они являются выпускниками кафедры зоологии). Основанное профессором Г. Г. Винбергом направление гидробиологических исследований и сегодня остается одним из ведущих в республике, ближнем и дальнем зарубежье. В 1960–1969 гг. кафедрой зоологии и позвоночных руководил академик АН БССР, профессор П. Ф. Рокицкий, с именем которого связано начало широкого использования в СССР математических методов в биологии и медицине. Изданный им в 1973 г. учебник «Биологическая статистика» долгое время оставался основным пособием для студентов биологических специальностей университетов СССР. В 1974 г. кафедры зоологии беспозвоночных и зоологии позвоночных вновь были объединены в кафедру зоологии. Более четверти века (с 1970 г. – кафедру зоологии позвоночных, с 1974 по 1998 г. – объединенную кафедру) ее возглавлял выдающийся ученый, лауреат Государственной премии БССР, профессор И. К. Лопатин. Им была создана до сих пор активно функционирующая научная школа по таксономии, экологии и зоогеографии насекомых Евразии. С 1998 г. кафедрой заведовал доцент Л. Д. Бурко, а с 2004 г. по настоящее время ее возглавляет профессор С. В. Буга. На кафедре продолжается выполнение исследований животных разных таксонов по широкому спектру зоологической и экологической проблематики, в том числе в кооперации со специалистами НАН Беларуси и научных учреждений ближнего и дальнего зарубежья. Основное внимание уделяется проблеме беспозвоночных – вредителей растений и биологических инвазий (профессор С. В. Буга, доценты Ф. В. Сауткин, О. Ю. Круглова, Ж. Е. Мелешко и др.), а также экзволюционной динамике на примере позвоночных животных (доцент В. В. Сахвон).

История кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений ведет свое начало с 1922 г., когда в БГУ была организована кафедра анатомии и физиологии растений. Одним из инициаторов ее создания являлся профессор кафедры ботаники В. В. Лепешкин – выдающийся физиолог растений, известнейший специалист в области физико-химической биологии растительной клетки начала XX в., ученик А. С. Фаминцына (основатель школы по физиологии растений в Российской империи). До переезда в Беларусь в 1921 г. В. В. Лепешкин заведовал кафедрой ботаники Казанского университета. В 1924 г. первым руководителем кафедры анатомии и физиологии растений стал известный физиолог растений, ботаник и альголог, профессор Н. М. Гайдуков. В 1928 г. она была переименована в кафедру физиологии растений и микробиологии, после чего ее возглавил другой выдающийся ученый-биолог СССР, создатель белорусской научной школы по физиологии растений и биофизике, академик АН БССР Т. Н. Годнев. Он заведовал кафедрой вплоть до 1960 г. За время его руководства она стала крупнейшим центром в области биохимии и клеточной биологии растений не только в Беларуси, но и в СССР. Т. Н. Годневу и созданной им научно-исследовательской лаборатории фотосинтеза впервые в мире удалось расшифровать и детально исследовать биохимические пути биосинтеза хлорофилла, раскрыть природу биофизических взаимодействий между хлорофиллами и каротиноидами в фотосинтетическом аппарате



листа. По инициативе Т. Н. Годнева был создан Институт фотобиологии АН БССР (сейчас – Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси). Долгие годы на кафедре работал академик НАН Беларуси А. С. Вечер – один из создателей отечественной биохимии, а также многие другие выдающиеся ученые Беларуси. Была основана ведущая в СССР научная школа по физиологии растений, биохимии и биофизике пигментов, структуре и функции фотосинтетического аппарата, абиотической и гормональной регуляции фотосинтеза, а также по установлению молекулярных основ продуктивности растений.

С 1960 по 1971 г. кафедрой заведовал доцент С. В. Калишевич, а с 1971 по 1991 г. – доцент Л. В. Кахнович. В 1950–60-х гг. часть коллектива кафедры стала основой для формирования двух новых кафедр факультета – микробиологии (1960) и биохимии (1965). С 1991 по 2011 г. кафедру возглавлял профессор В. М. Юрин, являющийся одним из создателей белорусской научной школы по физиологии минерального питания, ионному транспорту и электрофизиологии растений. С 1991 г. на кафедре в качестве заведующего научно-исследовательской лабораторией также работает доцент А. И. Соколик – классик восточноевропейской электрофизиологии растений. С 2011 по 2019 г. кафедру возглавлял доктор биологических наук В. В. Демидчик – один из ведущих специалистов в области клеточной физиологии растений, долгое время работавший научным сотрудником и лектором в Кембриджском университете и Эссекском университете. С 2019 г. В. В. Демидчик является деканом биологического факультета и научным руководителем кафедры. Им создана и поддерживается научная школа по клеточной биологии, электрофизиологии, физиологии стресса, минерального питания, клеточной сигнализации и биотехнологии растений. Уровень исследовательской и публикационной активности кафедры стал одним из самых высоких не только в Беларуси, но и в СНГ. С 2019 г. кафедрой заведует доцент И. И. Смолич – специалист в области биохимии, генетики и нанобиологии растений.

Кафедра физиологии человека и животных была создана в 1922 г. Ее первым руководителем стал профессор Л. П. Розанов, положивший начало аналитическим экспериментам в области физиологии пищеварения на кафедре. С 1935 г. кафедру возглавлял профессор И. А. Ветохин, вошедший в историю как автор крупного открытия в области сравнительной физиологии возбудимых тканей, выполненной на краевом органе медуз. Под его руководством проводились исследования по физиологии пищеварения и физиологии сердечно-сосудистой системы, в частности касающиеся так называемых периферических сердец. В послевоенные годы (1949–1951) кафедрой заведовал профессор А. А. Зубков, научные интересы которого лежали в области физиологии межклеточной коммуникации. А. А. Зубков выступил автором нескольких разделов востребованного в СССР учебника по физиологии человека и животных под общей редакцией Е. Б. Бабского. В 1951 г. кафедру возглавил профессор Г. С. Юньев, являвшийся одним из авторов метода дефибрилляции сердца током – гордости советской медицины. В этот период на кафедре были развернуты исследования в области эволюционной нейрофизиологии и кардиологии, широко стали использоваться электрофизиологические методы исследования. С 1973 по 1975 г. кафедрой заведовал профессор А. М. Сташков, с 1975 по 1977 г. – профессор В. Н. Калюнов, один из пионеров и признанных лидеров в сфере изучения физиологической роли фактора роста нервов. С 1977 г. под руководством профессора Е. Ф. Лунца, организовавшего на кафедре научно-исследовательскую лабораторию биоэнергетики (в настоящее время – научно-исследовательская лаборатория физиологии), область интересов коллектива кафедры смещается в сторону исследований гипоксии тканей и поиска средств противогипоксического действия. С 1985 по 1991 г. кафедру возглавлял доцент В. Т. Шалатонин, под руководством которого были проведены комплексные исследования ишемии миокарда, протестированы вещества, обладающие эффективным антиаритмическим действием. С 1991 по 2003 г. кафедрой заведовал академик НАН Беларуси, профессор В. Н. Гурин – известный специалист в области термофизиологии. Научные разработки В. Н. Гурина осуществлялись в тесном сотрудничестве с научными центрами стран СНГ, а также с учреждениями и университетами США, Англии, Германии, Канады, Венгрии, Чехии, Польши. С 2003 г. по настоящее время кафедрой заведует профессор А. Г. Чумак, научные интересы которого лежат в области физиологии автономной нервной системы. Сейчас на кафедре проводится ряд исследований, центральное место среди которых принадлежит выяснению физиологической роли монооксида азота (NO) – одной из ключевых и древних сигнальных молекул (под руководством А. Г. Чумака и профессора А. В. Сидорова), а также изучению биологической активности комплексов природных полифенолов с ионами металлов (заведующий научно-исследовательской лабораторией физиологии доктор химических наук В. А. Костюк).

В 1947 г. на факультете была создана кафедра дарвинизма и генетики. Первый заведующий кафедрой – ученый с мировым именем, академик АН БССР А. Р. Жебрак. В период с 1950 по 1952 г. кафедрой руководил академик АН БССР М. Е. Макушок. С 1952 г. ее возглавлял кандидат сельскохозяйственных наук И. А. Орловский. Становление кафедры в эти годы совпало с окончанием драматического периода



истории генетики, так называемой лысенковщины. В 1953 г. кафедра дарвинизма и генетики была объединена с кафедрой физиологии человека и животных. Объединенную кафедру дарвинизма, генетики и физиологии человека и животных возглавил академик АН БССР, заслуженный деятель науки, лауреат Государственной премии БССР Н. В. Турбин. Он оставался заведующим кафедрой до 1970 г., совмещая эту должность с руководством Институтом генетики и цитологии АН БССР. Научным направлением кафедры в то время было экспериментальное получение полиплоидных форм растений и изучение генетики алкалоидности люпина. В 1963 г. при кафедре была создана группа радиационной генетики, позднее реорганизованная в группу цитогенетики растений, которую возглавил профессор А. В. Константинов, ставший в 1970 г. заведующим кафедрой. Под его руководством начало развиваться новое направление – цитогенетика растений. А. В. Константинов также известен как автор ряда книг по цитологии, цитогенетике, теории эволюции, биологии индивидуального развития, изданных в период с 1966 по 1979 г. Начиная с 1975 г. при кафедре стала функционировать исследовательская группа под руководством доцента В. С. Анохиной, научным направлением которой стала генетика и селекция безалкалоидных сортов люпина. На основе этих двух групп был образован отдел цитогенетики растений, вошедший в состав проблемной научно-исследовательской лаборатории экспериментальной биологии. В 1979 г. заведующим кафедрой стала доцент В. С. Анохина, в 1988 г. эту должность занял профессор Ю. К. Фомичев, который одновременно руководил проблемной научно-исследовательской лабораторией экспериментальной биологии на факультете. С приходом Ю. К. Фомичева началась модернизация учебного процесса. Кафедра стала называться кафедрой генетики и биотехнологии. Ю. К. Фомичевым было сформировано новое для Республики Беларусь научное направление – молекулярная генетика важных в биотехнологическом отношении микроорганизмов. В 1993 г. на должность заведующего кафедрой генетики и биотехнологии был приглашен член-корреспондент НАН Беларуси О. Г. Давыденко – специалист в области селекции сои. В 1995 г. руководить кафедрой стала профессор Н. П. Максимова.

В настоящее время на кафедре генетики функционирует научно-исследовательская лаборатория молекулярной генетики и биотехнологии (заведующий – кандидат биологических наук И. Н. Феклистова), включающая два подразделения: сектор молекулярной генетики и биотехнологии микроорганизмов и сектор генетики растений. Кафедра ведет исследования по таким основным научным направлениям, как биотехнологии биопестицидных препаратов для защиты растений от патогенов и повышения их урожайности; анализ особенностей организации и функционирования транскриптомов лейкозных и нормальных клеток крови человека; геномика, транскриптомика и протеомика штаммов – продуцентов феназиновых антибиотиков, пригодных для использования в медицине; создание трансгенных растений, несущих бактериальный ген АЦК-дезаминазы, устойчивых к засолению почв и засухе; генетика и селекция люпина.

Кафедра микробиологии была создана в 1960 г. В это время микробиология вошла в цикл обязательных дисциплин биологических факультетов университетов и заняла важное место в системе высшей школы. Первым заведующим кафедрой (с 1962 по 1963 г.) стал основоположник белорусской микробиологической науки, заслуженный деятель науки Киргизской ССР, лауреат Государственной премии СССР, профессор Б. Я. Эльберт, который определил направления исследований, проводимых на кафедре в течение последующих лет (изучение биохимических свойств клебсиелл, их серотипирование и фаготипирование, изучение азотфиксирующих бактерий и др.). С 1964 по 1969 г. кафедру возглавлял член-корреспондент АН Казахской ССР, профессор П. А. Буланов. В этот период на кафедре активно развивались такие направления, как почвенная микробиология и экология бактерий. В 1969–1988 гг. заведующим кафедрой был заслуженный работник народного образования БССР, профессор Ю. К. Фомичев, который с 1971 по 1973 г. являлся деканом биологического факультета. Профессор Ю. К. Фомичев создал первую в Беларуси группу молодых исследователей, которая положила начало работ в области генетики микроорганизмов в республике. Большинство преподавателей кафедры микробиологии, в частности заведующий кафедрой В. А. Прокулевич, профессора М. А. Титок, В. В. Лысак, доценты А. Г. Песняквич, О. В. Фомина, Р. А. Желдакова, являются учениками Ю. К. Фомичева. Благодаря его усилиям и высокому научному авторитету кафедра на протяжении 20 лет поддерживала связи с ведущими научными учреждениями бывшего СССР и ряда зарубежных стран. В рамках таких контактов на базе кафедры была организована лаборатория Всесоюзного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов. С 1989 г. по настоящее время кафедрой заведует профессор В. А. Прокулевич, работа которого направлена на поддержание современного уровня научных исследований и высокого качества учебного процесса. В структуре кафедры функционирует научно-исследовательская лаборатория биотехнологии (заведующий – М. И. Потапович).

Научно-исследовательская работа проводится сразу по нескольким актуальным направлениям, таким как изучение генетической организации фитопатогенных и сапротрофных бактерий; изучение свойств



и генетической организации внехромосомных генетических элементов грамотрицательных и грамположительных бактерий; изучение природных бактерий – деструкторов нефти. В. А. Прокулевич сформулировал научно-практическую концепцию белковой ветеринарии, согласно которой болезни животных следует лечить белками иммунной системы, например интерферонами, для активизации собственных защитных функций организма. В связи с этим ведутся разработка технологий и организация производства принципиально новых, не имеющих мировых аналогов лечебно-профилактических средств для сельскохозяйственных и домашних животных.

Кафедра биохимии была создана в 1964 г. Первым ее заведующим (с 1964 по 1993 г.) стал профессор А. Т. Пикулев. С 1994 г. кафедрой руководил доцент В. В. Сенчук, а с 2006 г. по настоящее время ею руководит доцент И. В. Семак. Научно-исследовательская работа на кафедре осуществляется в двух научно-исследовательских лабораториях – биохимии обмена веществ (заведующий – доцент М. В. Шолух) и биохимии и фармакологии биологически активных веществ (заведующий – С. М. Жарская). Последняя аккредитована на соответствие требованиям СТБ ИСО/МЭК 17025–2019. За кафедрой закреплена экспериментально-биологическая клиника (виварий) (заведующий – С. М. Дронов).

Становление научной деятельности кафедры начиналось с фундаментальных исследований в области изучения влияния экстремальных факторов на обмен веществ. Впервые были открыты закономерности радиационно-биохимических сдвигов азотистого и углеводно-энергетического метаболизма в центральной нервной системе животного организма и установлена роль нейроэндокринной системы в механизмах опосредованного воздействия радиации. Результаты 30-летних исследований биохимических сдвигов в центральной нервной системе под действием различных видов ионизирующего излучения в относительно малых дозах приобрели особую актуальность после катастрофы на Чернобыльской АЭС. Они послужили концептуальным базисом для выяснения ранних и отдаленных последствий изменения наиболее чувствительных звеньев обмена веществ в результате облучения в относительно малой дозе. Последующее развитие научно-исследовательской работы кафедры тесно связано с исследованиями, направленными на идентификацию метаболических маркеров патобиохимических процессов, выяснение молекулярных механизмов заболеваний и поиск путей их направленной коррекции с помощью биологически активных веществ природного происхождения. В настоящее время на кафедре активно ведутся работы в сфере метаболомных и протеомных исследований, в результате которых были открыты новые пути метаболизма нейрого르몬а мелатонина и обнаружены альтернативные каталитические активности цитохрома P450_{ssc}. В рамках исследований в области фармацевтической биотехнологии на кафедре из молока трансгенных коз, выведенных в НАН Беларуси, выделен рекомбинантный лактоферрин человека и доказана его идентичность лактоферрину, выделенному из женского молока. В настоящее время ведутся работы по созданию на его основе инновационных биофармацевтических препаратов.

Важным современным направлением научной деятельности кафедры является разработка и валидация методик количественного определения лекарственных соединений в крови человека. С помощью разработанных методик изучена фармакокинетика и проведена оценка биоэквивалентности более 100 лекарственных препаратов отечественных и зарубежных производителей.

В 1974 г. на факультете была создана кафедра общей экологии, гидробиологии и охраны природы – одна из первых университетских кафедр этого профиля в СССР. Этому предшествовал длительный период гидробиологических исследований, которыми руководил Г. Г. Винберг. Благодаря его деятельности Беларусь стала крупным гидробиологическим центром, получившим широкую известность не только в СССР, но и за рубежом. Еще в 1946 г. была создана Нарочанская биологическая станция, сыгравшая исключительно важную роль в развитии гидробиологических исследований и функционирующая до настоящего времени. Первым заведующим кафедрой стал доцент В. П. Ляхнович. С 1985 по 1996 г. ее возглавляла профессор Н. М. Крючкова, которая внесла большой вклад в изучение функционирования зоопланктонного сообщества. В этот период исследования, начатые В. П. Ляхновичем, были продолжены профессором Л. В. Камлюк. В 1996 г. название кафедры было изменено и дополнено: она стала называться кафедрой общей экологии и методики преподавания биологии. С 1997 по 2000 г. кафедру возглавил один из первых ее выпускников профессор А. Ю. Каратаев. Исследования этого периода связаны с установлением биологии дрейссены в Беларуси, а также факторов, лимитирующих ее появление в водоемах, изучением закономерностей распространения моллюска и разработкой прогноза заселения им озер Беларуси. С 2001 г. по настоящее время кафедрой руководит профессор В. В. Гричик. Под его руководством на кафедре начаты исследования в области популяционной экологии наземных позвоночных, в частности птиц и некоторых млекопитающих, а также экологии и феногеографии наземных насекомых. С приходом на кафедру доктора биологических наук Я. К. Куликова получили развитие исследования почвенной экологии агроценозов. Доцентами Т. А. Макаревич и А. А. Жуковой активно ведется изучение структуры и функционирования сообществ автотрофного звена озерных и речных экосистем. С 2020 г. в состав кафедры вошла научно-исследовательская лаборатория прикладных проблем биологии (заведующий – доцент В. П. Курченко).



Кафедра молекулярной биологии создана 1 сентября 2002 г. Заведующий кафедрой – профессор А. Н. Евтушенков. Подразделением кафедры является научно-исследовательская лаборатория трансгенных растений (заведующий – доцент Е. В. Кулик). В 2002 г. при кафедре организована студенческая научно-исследовательская лаборатория молекулярной биотехнологии, которой руководит доцент Е. А. Николайчик. Основными направлениями научной деятельности кафедры являются создание продуцентов биотехнологически значимых ферментов с помощью генно-инженерных технологий; изучение молекулярных взаимодействий в системе растение – микробные фитопатогены; анализ геномов фитопатогенных бактерий *Erwinia amylovora* и *Pectobacterium carotovorum*; создание генетических конструкций и последующее получение на их основе растений с заданными свойствами. Сотрудниками кафедры впервые в Беларуси проведено секвенирование полной геномной последовательности штамма бактерий *P. atrosepticum* 21A и определены геномные последовательности трех фитопатогенных бактерий и одного бактериофага. Помимо этого, созданы трансгенный яровой рапс и трансгенная линия картофеля, устойчивые к гербициду глифосату.

За почти 100 лет своей деятельности биологический факультет выпустил более 15 тыс. высококвалифицированных специалистов-биологов, из которых около 100 человек защитили докторские диссертации и примерно 650 – кандидатские. Он стал крупнейшим факультетом по количеству обучающихся студентов в Восточной Европе и ведущим научно-исследовательским центром в области биологии по числу опубликованных научных работ в стране. Биологический факультет гордится своими выпускниками, среди которых много ученых, педагогов, служащих, работников биотехнологической и пищевой промышленности, системы здравоохранения, специалистов экспертно-криминалистических ведомств, природоохранных служб и других отраслей экономики.

Получена 22.08.2021 / принята 22.09.2021.
Received 22.08.2021 / accepted 22.09.2021.

Авторы:

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, доцент, декан биологического факультета.

Валерий Николаевич Тихомиров – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой ботаники биологического факультета.

Вера Сергеевна Мацкевич – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Виталий Валерьевич Сахвон – кандидат биологических наук, доцент, заместитель декана по учебно-воспитательной работе и социальным вопросам биологического факультета.

Татьяна Ивановна Дитченко – кандидат биологических наук, доцент, заместитель декана по учебной работе биологического факультета.

Ирина Михайловна Попиначенко – заведующий учебно-методическим кабинетом биологического факультета.

Сергей Владимирович Буга – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой зоологии биологического факультета.

Василий Витальевич Гричик – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Authors:

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), docent; dean of the faculty of biology.

Valery N. Tikhomirov, PhD (biology), docent; head of the department of botany, faculty of biology.
tikhomirov_v_n@list.ru

Vera S. Matskevich, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

Vitaly V. Sakhvon, PhD (biology), docent, deputy dean for teaching and social relations, faculty of biology.

Tatyana I. Ditchenko, PhD (biology), docent; deputy dean for teaching, faculty of biology.

Irina M. Popinachenko, head of the teaching methodology cabinet, faculty of biology.

Sergey V. Buga, doctor of science (biology), full professor; head of the department of zoology, faculty of biology.

Vasily V. Grichik, doctor of science (biology), full professor; head of the department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.



Анатолий Николаевич Евтушенко – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой молекулярной биологии биологического факультета.

Наталья Павловна Максимова – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой генетики биологического факультета.

Владимир Антонович Прокулевич – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой микробиологии биологического факультета.

Игорь Викторович Семак – кандидат биологических наук, доцент; заведующий кафедрой биохимии биологического факультета.

Игорь Иванович Смолич – кандидат биологических наук, доцент; заведующий кафедрой клеточной биологии и биотехнологии растений биологического факультета.

Анатолий Георгиевич Чумак – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета.

Владимир Васильевич Лысак – кандидат биологических наук, доцент; профессор кафедры микробиологии биологического факультета.

Anatoly N. Evtushenkov, doctor of science (biology), full professor; head of the department of molecular biology, faculty of biology.

Natalia P. Maximova, doctor of science (biology), full professor; head of the department of genetics, faculty of biology.

Vladimir A. Prokulevich, doctor of science (biology), full professor; head of the department of microbiology, faculty of biology.

Igor V. Semak, PhD (biology), docent; head of the department of biochemistry, faculty of biology.

Igor I. Smolich, PhD (biology), docent; head of the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

Anatoly G. Chumak, doctor of science (biology), full professor; head of the department of human and animal physiology, faculty of biology.

Vladimir V. Lysak, PhD (biology), docent; professor at the department of microbiology, faculty of biology.

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

УДК 577.15:611.81.018.82:599.323.4

АТФ-СИНТАЗА В НЕЙРОНАХ МОЗГА КРЫСЫ

Е. В. УЗЛОВА¹⁾, С. М. ЗИМАТКИН¹⁾

¹⁾Гродненский государственный медицинский университет,
ул. М. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Беларусь

Выявлены закономерности и особенности регионального распределения АТФ-синтазы в нейронах структур мозга крысы, проведена количественная оценка ее содержания на клеточном уровне. Исследование выполнено на материале от 5 беспородных белых крыс-самцов. Парафиновые срезы были подвергнуты окрашиванию по Нисслю для идентификации структур головного мозга и шейного отдела спинного мозга, а также иммуногистохимическому окрашиванию на АТФ-синтазу. Цитофотометрически изучены 102 структуры мозга крысы. Иммунореактивность АТФ-синтазы, отличающаяся высокой гетерогенностью, обнаружена во всех исследованных структурах, при этом для большинства из них характерно умеренное содержание АТФ-синтазы. Высокий уровень данного фермента выявлен в крупных нейронах и в нейронах структур филогенетически более старых отделов мозга. Установлено, что содержание АТФ-синтазы также зависит от слоя коры и положения нейронов в рефлекторной дуге, в спинном мозге определяется не только размером нейронов, но и слоем серого вещества.

Ключевые слова: АТФ-синтаза; нейроны; иммуногистохимия; мозг; крыса.

Образец цитирования:

Узлова ЕВ, Зиматкин СМ. АТФ-синтаза в нейронах мозга крысы. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:17–27.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-17-27>

For citation:

Uzlova EV, Zimatkin SM. ATP synthase in rat brain neurons. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:17–27. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-17-27>

Авторы:

Елизавета Валентиновна Узлова – аспирантка кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии педиатрического факультета. Научный руководитель – С. М. Зиматкин.
Сергей Михайлович Зиматкин – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии педиатрического факультета.

Authors:

Elizaveta V. Uzlova, postgraduate student at the department of histology, cytology and embryology, faculty of pediatrics.
uzlovaliza@gmail.com
Siarhei M. Zimatkin, doctor of science (biology), full professor; head of the department of histology, cytology and embryology, faculty of pediatrics.
zimatkin@grsmu.by





ATP SYNTHASE IN RAT BRAIN NEURONS

E. V. UZLOVA^a, S. M. ZIMATKIN^a

^aGrodno State Medical University, 80 M. Horkaha Street, Hrodna 230009, Belarus

Corresponding author: E. V. Uzlova (uzlovaliza@gmail.com)

Mitochondrial ATP synthase is the main enzyme of ATP synthesis. A large number of diseases, including neurodegenerative ones, are associated with disorders of its assembly and functioning. The aim of the work is to reveal the patterns and features of the regional distribution of ATP synthase in the neurons of the rat brain structures, with a quantitative assessment of its content at the cellular level. The study was carried out on material from 5 outbred white male rats. Paraffin sections were stained by the Nissl method to identify structures of the brain and cervical segments of the spinal cord, and for ATP synthase by immunohistochemical method; 102 structures of the rat brain were studied cytophotometrically. Immunoreactivity of ATP synthase was found in all structures of the rat brain with high heterogeneity, while most structures are characterised with a moderate content of ATP synthase. A high content of ATP synthase was found in large neurons and in neurons of structures of phylogenetically older brain divisions. The content of ATP synthase also depends on the layer of the cortex and the position of neurons in the reflex arc. In the spinal cord the content of ATP synthase depends not only on the size of neurons, but also on the gray matter layer.

Keywords: ATP synthase; neurons; immunohistochemistry; brain; rat.

Введение

Процесс синтеза АТФ – универсального источника энергии в живых организмах – является результатом работы комплексов электронтранспортной цепи (ЭТЦ) и АТФ-синтазы митохондрий. АТФ-синтаза, располагающаяся на внутренней мембране, использует созданный комплексами ЭТЦ протонный градиент для фосфорилирования АДФ в АТФ [1]. Наряду с энергоснабжением она участвует в формировании крист внутренней мембраны митохондрий [2], а также может осуществлять гидролиз АТФ и перекачивать протоны через внутреннюю мембрану при сбое нормального течения дыхания [3]. С нарушениями сборки и (или) функционирования АТФ-синтазы ассоциировано множество заболеваний, в том числе нейродегенеративных [4–10].

Нервная ткань требует большого количества энергии [8; 11] и, как следствие, наиболее зависит от работы митохондрий, а АТФ-синтаза является основным компонентом в процессе синтеза АТФ. Поскольку мозг сложно организован, логично предположить и гетерогенность распределения АТФ-синтазы. Имеющаяся в литературе информация затрагивает малую часть структур и исключительно патологические состояния, чего определенно недостаточно для оценки содержания АТФ-синтазы в структурах мозга крысы [12], т. е. их энергетического потенциала.

Цель настоящего исследования – выявить закономерности и особенности регионального распределения АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы и провести количественную оценку ее содержания на клеточном уровне.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлся материал от 5 беспородных белых крыс-самцов массой 220–250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария на полноценном рационе с соблюдением всех требований Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза № 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. «О защите животных, используемых для научных целей». На проведение исследования получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 15 января 2020 г.).

Выполняли быструю декапитацию крыс в утренние часы, извлекали головной мозг и шейный отдел спинного мозга. Головной мозг делили на три части фронтальными разрезами. Проводили фиксацию в цинк-этанол-формальдегиде [13] при +4 °С в течение 20 ч, затем образцы обезжизивали в спиртах, просветляли в ксилолах и заключали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм изготавливали через каждые 500 мкм с использованием микротомы Leica 2125 RTS (*Leica Biosystems*, Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла.

Один срез из каждой серии окрашивали по методу Ниссля для идентификации структур мозга по атласу [14], другой – иммуногистохимически для выявления содержания АТФ-синтазы. Применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-ATP5A antibody (ab14748) (*Abcam*, Великобритания)



в оптимальном разведении 1 : 2400 (экспозиция – 20 ч при +4 °С во влажной камере). Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit (ab80436) (*Abcam*).

Положительным контролем выступали ткани с известным высоким содержанием АТФ-синтазы, отрицательным – срезы, которые вместо первичных антител обрабатывали нормальной кроличьей сывороткой (иммунопозитивная окраска в них отсутствовала). Дополнительным внутренним отрицательным контролем служили мозговые оболочки и ядра нейронов (иммунопозитивная окраска в них должна была отсутствовать).

Изучение препаратов, микрофотографирование и цитофотометрию в структурах мозга проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (*Zeiss*, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC320 (*Leica Microsystems*, Германия) и программы компьютерного анализа изображения *ImageWarp* (*Bit Flow*, США). Всего изучено 102 структуры мозга. В них у каждого животного измеряли иммунореактивность (содержание) АТФ-синтазы в цитоплазме 20–30 нейронов, которую выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.) или условных единицах (усл. ед.).

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы *Statistica 10.0* для *Windows* (серийный номер 31415926535897) (*StatSoft Inc.*, США). Результаты цитофотометрии представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана; LQ – верхняя граница нижнего квартиля; UQ – нижняя граница верхнего квартиля.

Результаты и их обсуждение

Иммунореактивность АТФ-синтазы разной интенсивности обнаружена в нейронах всех структур мозга крысы. При этом в цитоплазме нейронов отчетливо наблюдаются скопления окрашенных продуктов иммуногистохимической реакции в виде гранул, соответствующие представлениям о расположении митохондрий в цитоплазме тел нейронов и их отростках. В ядрах нейронов АТФ-синтаза не выявляется.

Региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы характеризуется высокой гетерогенностью: нейроны разных типов и отделов мозга содержат неодинаковое количество данного фермента, что отражает разный энергетический потенциал этих нейронов (табл. 1). Так, содержание АТФ-синтазы варьирует от 159–172 усл. ед. в нейронах медиального ядра миндалины, митральных клетках обонятельной луковицы и нейронах ядра подъязычного нерва до 519–545 усл. ед. в вестибулокохлеарном ганглии и центральном шейном ядре спинного мозга крысы (см. табл. 1).

Таблица 1

Содержание АТФ-синтазы
в нейронах структур мозга крысы, $\times 10^3$ ед. опт. пл.

Table 1

ATP synthase content
in neurons of rat brain structures, $\times 10^3$ optical units

| Структура | Содержание АТФ-синтазы (Me (LQ; UQ)) |
|--|---|
| Конечный мозг | |
| Митральные клетки обонятельной луковицы | 163,3 (117,7; 225,0) |
| Латеральная передняя обонятельная кора (слой II) | 287,4 (266,6; 318,2) |
| Пириформная кора (слой II) | 313,2 (274,4; 364,8) |
| Гиппокамп (слой II): | |
| поле СА1 | 255,8 (223,0; 272,2) |
| поле СА2 | 314,8 (247,8; 385,3) |
| поле СА3 | 344,4 (280,3; 390,3) |
| Зубчатая извилина (слой II) | 309,3 (226,6; 374,7) |
| Пресубикулум: | |
| слой II | 323,2 (293,3; 367,2) |
| слой III | 324,2 (291,6; 344,3) |
| слой IV | 334,0 (240,1; 427,0) |
| слой V | 344,0 (312,7; 380,3) |
| слой VI | 341,0 (300,8; 394,3) |



Продолжение табл. 1
Continuation table 1

| Структура | Содержание АТФ-сигназы (Me (LQ; UQ)) |
|--|--|
| Париетальная кора: слой II слой III слой V слой VI | 209,3 (170,5; 234,4) 238,5 (196,2; 293,7) 295,5 (267,7; 336,2) 297,4 (256,0; 309,2) |
| Поясная (цингулярная) кора: слой II слой III слой V слой VI | 255,4 (200,7; 317,1) 297,2 (255,3; 350,1) 373,3 (348,0; 419,6) 344,2 (311,0; 392,4) |
| Фронтальная кора: слой II слой III слой IV слой V слой VI | 245,2 (193,4; 289,3) 248,1 (209,4; 276,2) 245,0 (213,0; 290,6) 331,1 (255,8; 373,9) 287,0 (246,5; 335,1) |
| Височная кора: слой II слой III слой IV слой V слой VI | 267,0 (204,4; 317,4) 309,2 (269,5; 330,0) 310,3 (262,1; 365,6) 339,5 (286,5; 380,1) 360,4 (262,1; 411,6) |
| Затылочная (зрительная) кора: слой II слой III слой IV слой V слой VI | 249,6 (208,1; 339,1) 295,0 (269,5; 323,3) 299,4 (258,5; 358,0) 363,2 (301,1; 411,0) 326,3 (277,1; 413,7) |
| Ретроспленальная агранулярная кора: слой II слой III слой V слой VI | 275,5 (264,4; 312,8) 333,2 (274,1; 389,7) 295,5 (257,0; 340,6) 300,2 (255,6; 352,8) |
| Моторная кора: слой II слой III слой V слой VI | 199,5 (166,3; 208,5) 179,7 (165,1; 241,6) 200,4 (184,3; 220,2) 200,0 (192,2; 245,5) |
| Медиальное ядро миндалины | 158,7 (151,0; 176,4) |
| Базолатеральное ядро миндалины | 176,1 (155,2; 248,4) |
| Базомедиальное ядро миндалины | 193,0 (175,9; 226,4) |
| Латеральное ядро миндалины | 216,9 (190,4; 258,6) |
| Скорлупа | 271,8 (241,9; 302,0) |
| Промежуточный мозг | |
| <i>Таламус</i> | |
| Интермедидорсальное ядро | 249,9 (227,3; 278,6) |
| Ядра задней группы | 255,9 (216,9; 294,2) |
| Вентральное постеролатеральное ядро | 278,9 (256,5; 334,8) |
| Вентральное постеромедиальное ядро | 285,9 (250,3; 324,9) |
| Латеродорсальное вентролатеральное ядро | 307,9 (250,3; 376,9) |

Продолжение табл. 1
Continuation table 1

| Структура | Содержание АТФ-синтазы (Me (LQ; UQ)) |
|--|---|
| Латеральное постеральное ядро | 320,5 (286,0; 373,5) |
| Паравентрикулярное ядро | 321,8 (272,2; 371,4) |
| Медиальное габенулярное ядро | 334,4 (313,7; 359,1) |
| Центральное медиальное ядро | 348,8 (316,1; 401,0) |
| <i>Гипоталамус</i> | |
| Латеральная гипоталамическая область | 199,8 (163,7; 237,7) |
| Дорсомедиальное ядро | 250,6 (221,4; 323,8) |
| Вентролатеральное вентромедиальное ядро | 289,3 (265,1; 310,4) |
| Дорсомедиальное вентромедиальное ядро | 291,9 (215,7; 350,9) |
| Супрамаммилярное ядро | 380,4 (349,9; 432,9) |
| Медианное маммилярное (сосцевидное) ядро | 384,2 (351,9; 411,9) |
| Дугообразное ядро | 387,8 (357,3; 414,7) |
| Гистаминергическое ядро E2 | 433,3 (411,5; 476,1) |
| Средний мозг | |
| Верхняя область покрышки | 282,9 (242,2; 311,0) |
| Дорсальное ядро шва | 300,6 (239,2; 377,7) |
| Интерпедункулярное ядро | 345,3 (274,5; 435,7) |
| Красное ядро | 352,8 (312,6; 391,5) |
| Компактное вещество черной субстанции | 371,4 (324,7; 402,7) |
| Мезенцефалическое ядро тройничного нерва | 379,5 (328,7; 423,1) |
| Ретикулярное вещество черной субстанции | 413,0 (370,7; 444,7) |
| Мост и продолговатый мозг | |
| Ядро подъязычного нерва | 172,0 (157,5; 207,2) |
| Преопозитарное подъязычное ядро | 291,5 (264,9; 330,5) |
| Медиальное вестибулярное ядро | 298,1 (274,0; 391,9) |
| Адреналинергическая группа нейронов C1 | 324,6 (300,2; 382,6) |
| Большое ядро шва | 328,9 (285,9; 373,1) |
| Вентральное медуллярное ретикулярное ядро | 337,6 (290,1; 389,3) |
| Ядро нижней оливы | 348,9 (301,5; 360,0) |
| Ретровентролатеральное ретикулярное ядро | 349,0 (327,1; 424,3) |
| Ядро Бурдаха | 361,2 (315,5; 391,9) |
| Ядро лицевого нерва | 362,1 (320,3; 388,2) |
| Гигантоцеллюлярное ядро | 364,6 (318,1; 458,0) |
| Спинальное ядро тройничного нерва | 368,2 (323,1; 414,5) |
| Ядро Голля (ядро тонкого пучка) | 369,8 (350,0; 397,8) |
| Латеральное ретикулярное ядро | 395,2 (368,5; 463,9) |
| Ядро пучка Пробста | 398,5 (373,5; 437,4) |
| Дорсальное медуллярное ретикулярное поле | 409,7 (389,3; 420,2) |
| Дорсальное моторное ядро блуждающего нерва | 422,6 (356,6; 460,1) |
| Медианное добавочное ядро | 449,2 (417,3; 486,8) |
| Вестибулокохлеарный ганглий | 518,9 (444,6; 571,6) |



Окончание табл. 1
Ending table 1

| Структура | Содержание АТФ-синтазы (Me (LQ; UQ)) |
|--|---|
| Мозжечок | |
| Парамедианная доля (клетки Пуркинье) | 255,7 (211,7; 289,9) |
| Простая доля (клетки Пуркинье) | 262,3 (229,2; 283,5) |
| Околочлок (клетки Пуркинье) | 344,5 (304,1; 393,7) |
| Пирамида (клетки Пуркинье) | 364,2 (333,5; 389,6) |
| Медиальное ядро | 312,8 (283,1; 356,5) |
| Вставочное ядро | 349,6 (319,8; 402,4) |
| Латеральное ядро | 365,5 (329,0; 416,6) |
| Дорсолатеральное медиальное ядро | 388,7 (345,5; 412,5) |
| Спинальный мозг (шейный отдел) | |
| Вставочные нейроны задних рогов | 456,0 (419,9; 498,1) |
| Мотонейроны передних рогов: добавочное ядро | 491,6 (474,4; 516,8) |
| центральное шейное ядро | 545,4 (536,3; 561,5) |

Все исследованные структуры были разделены на четыре группы в зависимости от интенсивности иммуноокрашивания (низкая – 150–250 усл. ед., умеренная – 250–350 усл. ед., высокая – 350–450 усл. ед. и очень высокая – 450–550 усл. ед.) (см. табл. 1). К первой группе (15,6 % от общего количества структур) относятся преимущественно структуры конечного мозга. Вторая группа – самая многочисленная (56,9 %), в нее входят структуры из различных отделов головного мозга, преобладающего отдела нет. К третьей группе (22,6 %) относятся структуры ствола, а также нейроны слоев V и VI неокортекса. Четвертая группа – самая малочисленная (4,9 %), в нее входят нейроны шейного отдела спинного мозга, а также медианное добавочное ядро продолговатого мозга и вестибулокохлеарный ганглий. Таким образом, для большинства структур мозга характерен умеренный уровень иммуноокрашивания в пределах от 250 до 350 усл. ед.

Для нейронов конечного мозга отмечена наибольшая гетерогенность содержания АТФ-синтазы: обнаружены нейроны как с низкой, так и с умеренной и высокой интенсивностью окрашивания (рис. 1). Эта гетерогенность, вероятно, обусловлена большим количеством и функциональным разнообразием структур конечного мозга. Не была обнаружена связь между интенсивностью иммуноокрашивания в конечном мозге и филогенетическим возрастом. Для структур нео-, палео- и архикортекса характерны различные уровни содержания АТФ-синтазы (см. табл. 1). В целом более высокие уровни АТФ-синтазы в пределах конечного мозга выявлены в крупных нейронах (пирамидных и клетках-канделябрах).

Крайне низким содержанием АТФ-синтазы характеризуются митральные клетки обонятельной луковицы и нейроны ядер миндалина, в то время как боковое обонятельное ядро и нейроны слоя II зубчатой извилины содержат умеренные количества АТФ-синтазы (см. рис. 1; табл. 1). Относительно слабое развитие энергетического аппарата в митральных клетках обонятельной луковицы можно объяснить уникальным типом их работы – ритмической активностью (при вдыхании пахучих веществ) [15], что, возможно, приводит к меньшей скорости расхода энергии и, как следствие, менее развитому энергетическому аппарату, чем у большинства других нейронов.

Достаточно высокое содержание АТФ-синтазы обнаруживается в крупных (ганглиозных) нейронах, таких как нейроны слоя II гиппокампа (особенно поля СА3), нейронах внутреннего пирамидного слоя неокортекса, нейронах ядер мозжечка, нейронах ядер продолговатого мозга и мотонейронах спинного мозга (рис. 2–4). Следовательно, размеры нейронов оказывают влияние на степень развития энергетического аппарата.

Если рассматривать интенсивность иммуноокрашивания отдельно в многослойных структурах конечного мозга, можно заметить, что она зависит от функций, выполняемых нейронами в пределах конкретного слоя (см. табл. 1). Нейроны слоев II и III, отвечающие за внутрикорковые связи (их аксоны образуют ассоциативные волокна), характеризуются менее развитым энергетическим аппаратом, чем нейроны слоев V и VI (образуют комиссуральные и проекционные волокна).

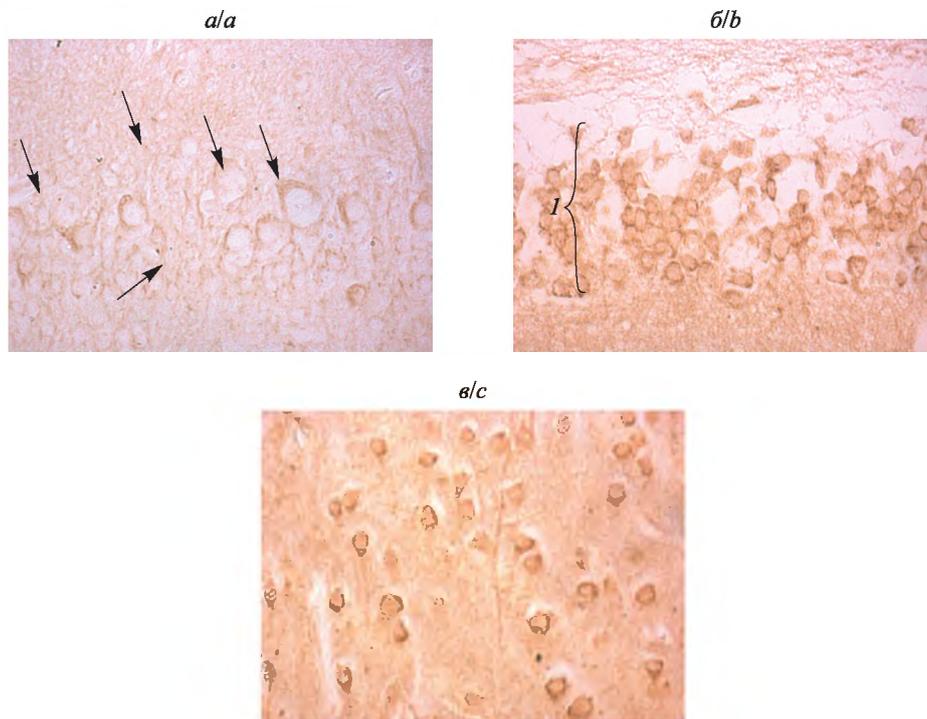


Рис. 1. Иммуноокрашивание на АТФ-синтазу (увеличение $\times 400$):
a – митральные клетки обонятельной луковицы (низкая интенсивность иммуноокрашивания);
б – нейроны слоя II зубчатой извилины (умеренная интенсивность) (*I*);
в – нейроны слоя III парietальной коры (высокая интенсивность)

Fig. 1. Immunostaining for ATP synthase (magnification $\times 400$):
a – mitral cells of the olfactory bulb (low intensity of immunostaining);
b – neurons of the layer II of the dentate gyrus (moderate intensity) (*I*);
c – neurons of the layer III of the parietal cortex (high intensity)

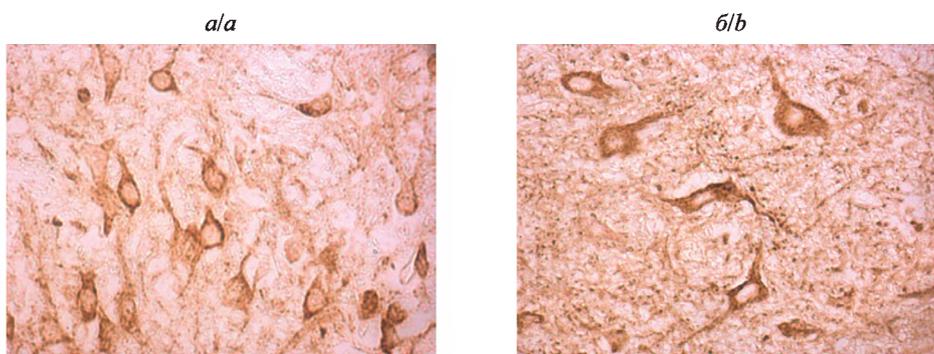


Рис. 2. Иммуногистохимическая окраска на АТФ-синтазу (увеличение $\times 400$):
a – нейроны слоя II гиппокампа (поле СА3); *б* – медиальное ядро мозжечка

Fig. 2. Immunostaining for ATP synthase (magnification $\times 400$):
a – neurons of the layer II of the hippocampus (field CA3);
b – medial nucleus of the cerebellum

Отдельного внимания заслуживает гетерогенное распределение АТФ-синтазы в нейронах слоя II гиппокампа и зубчатой извилины. Прежде всего это связано с размером клеток: нейроны поля СА1, эквивалентного мелкоклеточной области, имеют менее развитый энергетический аппарат, чем нейроны полей СА2 и СА3 крупноклеточной области. Также немалый вклад вносит характер функций нейронов полей: нейроны поля СА3 крупноклеточной области соединяют потоки информации древних структур ствола мозга и ассоциативных областей коры и отличаются несколько более развитым энергетическим аппаратом, чем нейроны поля СА2. Исключением являются нейроны зернистого слоя зубчатой извилины, которые, несмотря на незначительные размеры, по уровню развития энергетического аппарата близки к нейронам полей СА2 и СА3. Вполне вероятно, это связано с продолжением их дифференцировки во взрослых организмах [16].



Нельзя не отметить тенденцию к повышенному содержанию АТФ-синтазы в нейронах структур филогенетически более старых отделов – промежуточного мозга, среднего мозга, моста и продолговатого мозга крысы (см. рис. 3 и 4). Доля структур ствола в группах возрастает по мере увеличения интенсивности иммуноокрашивания (табл. 2). Данная тенденция объясняется прежде всего характером структур, расположенных в стволе: они включают ядра черепных нервов и жизненно важные центры, что предполагает значительную функциональную нагрузку и, вероятно, требует хорошо развитого энергетического аппарата.

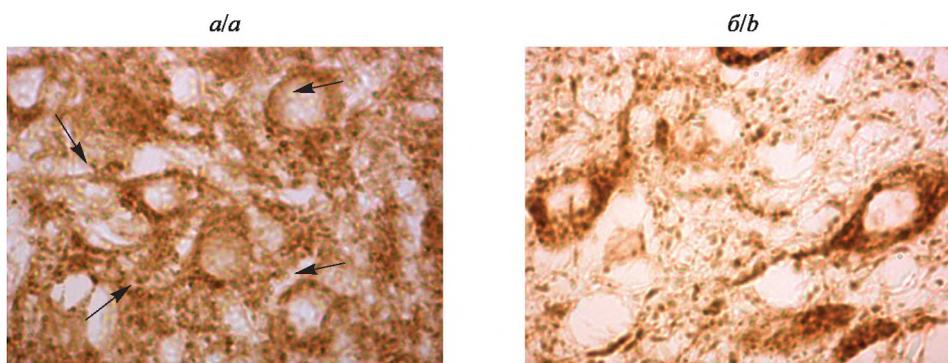


Рис. 3. Иммуноокрашивание на АТФ-синтазу (увеличение $\times 1000$):
a – нейроны большого ядра шва; *б* – нейроны ядра одиночного пути
Fig. 3. Immunostaining for ATP synthase (magnification $\times 1000$):
a – neurons of the nucleus raphe magnus; *b* – neurons of the solitary tract nucleus

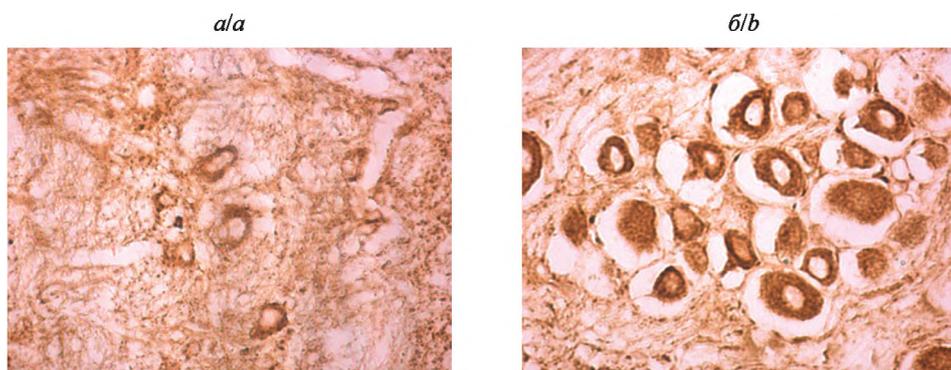


Рис. 4. Иммуногистохимическая окраска на АТФ-синтазу (увеличение $\times 400$):
a – нейроны мезенцефалического ядра тройничного нерва; *б* – вестибулокохлеарный ганглий
Fig. 4. Immunostaining for ATP synthase (magnification $\times 400$):
a – neurons of the mesencephalic nucleus of trigeminal nerve; *b* – vestibulocochlear ganglion

Лишь небольшая часть исследованных структур головного и спинного мозга крысы содержат рецепторные и эффекторные нейроны. Данные структуры характеризуются высоким и очень высоким уровнем АТФ-синтазы. Из этого следует, что в некоторой степени выраженность энергетического аппарата нейронов определяется их функциональным типом и расположением в рефлекторных дугах, причем рецепторные нейроны вестибулокохлеарного ганглия содержат больше АТФ-синтазы, чем рецепторные нейроны мезенцефалического ядра тройничного нерва, располагающегося в среднем мозге (см. рис. 4; табл. 2). Мезенцефалическое ядро состоит в основном из типичных для ганглиев черепных нервов псевдоуниполярных нейронов [17] и имеет только электрические синапсы [18], а вестибулокохлеарный ганглий содержит преимущественно биполярные нейроны [19]. Возможно, различие в развитии энергетических аппаратов нейронов данных структур обусловлено разными структурными типами нейронов и (или) превалирующим типом синапсов.

В нейронах мозжечка содержание АТФ-синтазы варьирует от умеренного до высокого уровня. В коре мозжечка оно различается по слоям, достигая наибольшей величины в клетках Пуркинье (рис. 5, *a*). Это можно объяснить значительным количеством синаптических связей, клеток Пуркинье, что, без сомнения, требует существенных энергетических затрат, а также большим размером данных нейронов. При этом ядра мозжечка содержат больше АТФ-синтазы, чем клетки Пуркинье (см. рис. 5).

В нейронах спинного мозга содержание АТФ-синтазы выше, чем в нейронах головного мозга. Но оно варьирует и зависит как от размера нейронов, так и от слоя серого вещества, в котором располагаются эти нейроны (см. табл. 1; рис. 6).

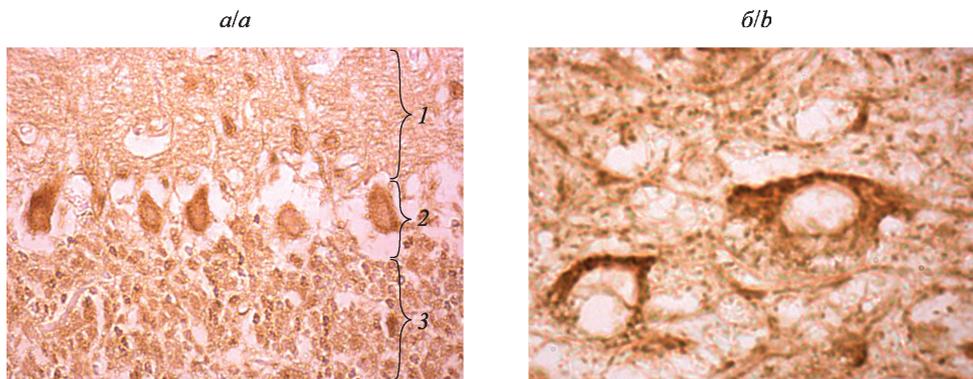


Рис. 5. Иммуноокрашивание на АТФ-синтазу (увеличение $\times 400$ (а) и увеличение $\times 1000$ (б)): а – кора мозжечка, червь (1 – молекулярный слой, 2 – клетки Пуркинье, 3 – зернистый слой); б – нейроны вставочного ядра мозжечка

Fig. 5. Immunostaining for ATP synthase (magnification $\times 400$ (a) and magnification $\times 1000$ (b)): a – cerebellar cortex, vermis (1 – molecular layer, 2 – Purkinje cells, 3 – granular layer); b – neurons of the interposed cerebellar nucleus

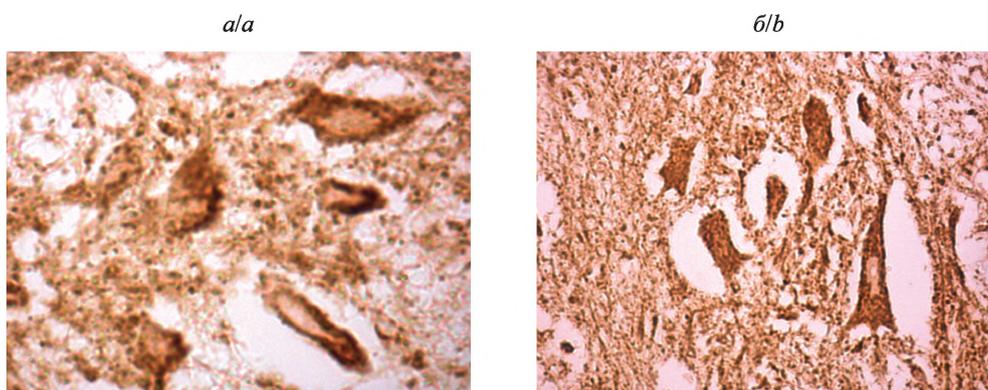


Рис. 6. Иммуноокрашивание на АТФ-синтазу (увеличение $\times 1000$ (а) и увеличение $\times 400$ (б)): а – вставочные нейроны шейного отдела спинного мозга; б – мотонейроны шейного отдела спинного мозга

Fig. 6. Immunostaining for ATP synthase (magnification $\times 1000$ (a) and magnification $\times 400$ (b)): a – interneurons of the cervical area of the spinal cord; b – motor neurons of the cervical area of the spinal cord

Таблица 2

Распределение структур отделов
мозга крысы по содержанию АТФ-синтазы, %

Table 2

Distribution of rat brain structures by ATP synthase content, %

| Интенсивность иммуноокрашивания | Конечный мозг | Промежуточный мозг | | Средний мозг | Мост и продолговатый мозг | Мозжечок | Спинной мозг (шейный отдел) |
|----------------------------------|---------------|--------------------|-------------|--------------|---------------------------|----------|-----------------------------|
| | | Таламус | Гипоталамус | | | | |
| Низкая (150–250 усл. ед.) | 75,0 | 6,25 | 12,5 | 0 | 6,25 | 0 | 0 |
| Умеренная (250–350 усл. ед.) | 56,9 | 13,8 | 3,4 | 5,2 | 12,1 | 8,6 | 0 |
| Высокая (350–450 усл. ед.) | 13,05 | 0 | 17,4 | 17,4 | 39,1 | 13,05 | 0 |
| Очень высокая (450–550 усл. ед.) | 0 | 0 | 0 | 0 | 40,0 | 0 | 60,0 |



Заклучение

АТФ-синтаза обнаружена в нейронах всех отделов головного мозга и шейного отдела спинного мозга крысы. Ее распределение в структурах мозга гетерогенно. Большинство нейронов мозга характеризуются умеренным содержанием АТФ-синтазы в цитоплазме. Высокий уровень данного фермента выявлен в рецепторных и эффекторных нейронах ствола мозга, нейронах ядер мозжечка и спинного мозга. Крупные (ганглиозные) нейроны мозга отличаются более высоким содержанием АТФ-синтазы. Связи между нейромедиаторной природой нейронов и содержанием в них АТФ-синтазы не обнаружено.

Учитывая важнейшую роль АТФ-синтазы в энергообеспечении клеток, полученные данные можно использовать для оценки энергетического потенциала нейронов в норме и его изменений при различных экспериментальных воздействиях и патологических состояниях (например, при ишемии мозга). Представляет интерес выяснение взаимосвязей между содержанием АТФ-синтазы и функциональным состоянием нейронов.

Библиографические ссылки

1. Capaldi RA, Aggeler R. Mechanism of the F_1F_0 -type ATP synthase, a biological rotary motor. *Trends in Biochemical Sciences*. 2002;27(3):154–160. DOI: 10.1016/S0968-0004(01)02051-5.
2. Paumard P, Vaillier J, Coulyar B, Schaeffer J, Soubannier V, Mueller DM, et al. The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. *The EMBO Journal*. 2002;21(3):221–230. DOI: 10.1093/emboj/21.3.221.
3. Campanella M, Casswell E, Chong S, Farah Z, Wiecekowski MR, Abramov AY, et al. Regulation of mitochondrial structure and function by the F_1F_0 -ATPase inhibitor protein, IF_1 . *Cell Metabolism*. 2008;8(1):13–25. DOI: 10.1016/j.cmet.2008.06.001.
4. García JJ, Ogilvie I, Robinson BH, Capaldi RA. Structure, functioning, and assembly of the ATP synthase in cells from patients with the T8993G mitochondrial DNA mutation. Comparison with the enzyme in Rho(0) cells completely lacking mtDNA. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(15):11075–11081. DOI: 10.1074/jbc.275.15.11075.
5. Reed T, Perluigi M, Sultana R, Pierce WM, Klein JB, Turner DM, et al. Redox proteomic identification of 4-hydroxy-2-nonenal-modified brain proteins in amnesic mild cognitive impairment: insight into the role of lipid peroxidation in the progression and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*. 2008;30(1):107–120. DOI: 10.1016/j.nbd.2007.12.007.
6. Kucharczyk R, Zick M, Bietenhader M, Rak M, Couplan E, Blondel M, et al. Mitochondrial ATP synthase disorders: molecular mechanisms and the quest for curative therapeutic approaches. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*. 2009;1793(1):186–199. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.06.012.
7. Terni B, Boada J, Portero-Otin M, Pamplona R, Ferrer I. Mitochondrial ATP synthase in the entorhinal cortex is a target of oxidative stress as stages I/II of Alzheimer's disease pathology. *Brain Pathology*. 2010;20(1):222–233. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2009.00266.x.
8. Filosto M, Scarpelli M, Cotelli MS, Vielmi V, Todeschini A, Gregorelli V, et al. The role of mitochondria in neurodegenerative diseases. *Journal of Neurology*. 2011;258(10):1763–1774. DOI: 10.1007/s00415-011-6104-z.
9. Federico A, Cardaioli E, Da Pozzo P, Formichi P, Gallus GN, Radi E. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the Neurological Sciences*. 2012;322(1–2):254–262. DOI: 10.1016/j.jns.2012.05.030.
10. Dautant A, Meier T, Hahn A, Tribouillard-Tanvier D, di Rago J-P, Kucharczyk R. ATP synthase diseases of mitochondrial genetic origin. *Frontiers in Physiology*. 2018;9:329. DOI: 10.3389/fphys.2018.00329.
11. Magistretti PJ, Pellerin L. Cellular mechanisms of brain energy metabolism. Relevance to functional brain imaging and to neurodegenerative disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1996;777(1):380–387. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb34449.x.
12. Узлова ЕВ, Зиматкин СМ. Распределение АТФ-синтазы в структурах мозга крысы. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2020;19(3):11–16. DOI: 10.37903/vsgma.2020.3.2.
13. Коржевский ДЭ, Гилерович ЕГ, Кирик ОВ, Григорьев ИП, Сухорукова ЕГ, Алексеева ОС и др. *Иммуногистохимическое исследование головного мозга*. Коржевский ДЭ, редактор. Санкт-Петербург: СпецЛит; 2016. 143 с.
14. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th edition. Amsterdam: Academic Press; 2007. [448 p.].
15. Yamaguchi K, Ueda K. Rhythmic discharge of mitral cells in the carp olfactory bulb. *Brain Research*. 1984;322(2):378–381. DOI: 10.1016/0006-8993(84)90138-0.
16. Bayer SA, Yackel JW, Puri PS. Neurons in the rat dentate gyrus granular layer substantially increase during juvenile and adult life. *Science*. 1982;216(4548):890–892. DOI: 10.1126/science.7079742.
17. Mameli O, Caria MA, Biagi F, Zedda M, Farina V. Neurons within the trigeminal mesencephalic nucleus encode for the kinematic parameters of the whisker pad macrovibrissae. *Physiological Reports*. 2017;5(10):e13206. DOI: 10.14814/phy2.13206.
18. Baker R, Llinás R. Electrotonic coupling between neurones in the rat mesencephalic nucleus. *The Journal of Physiology*. 1971;212(1):45–63. DOI: 10.1113/jphysiol.1971.sp009309.
19. Carricondo F, Romero-Gómez B. The cochlear spiral ganglion neurons: the auditory portion of the VIII nerve. *The Anatomical Record*. 2019;302(3):463–471. DOI: 10.1002/ar.23815.

References

1. Capaldi RA, Aggeler R. Mechanism of the F_1F_0 -type ATP synthase, a biological rotary motor. *Trends in Biochemical Sciences*. 2002;27(3):154–160. DOI: 10.1016/S0968-0004(01)02051-5.
2. Paumard P, Vaillier J, Coulyar B, Schaeffer J, Soubannier V, Mueller DM, et al. The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. *The EMBO Journal*. 2002;21(3):221–230. DOI: 10.1093/emboj/21.3.221.



3. Campanella M, Casswell E, Chong S, Farah Z, Wieckowski MR, Abramov AY, et al. Regulation of mitochondrial structure and function by the F_1F_0 -ATPase inhibitor protein, IF₁. *Cell Metabolism*. 2008;8(1):13–25. DOI: 10.1016/j.cmet.2008.06.001.
4. García JJ, Ogilvie I, Robinson BH, Capaldi RA. Structure, functioning, and assembly of the ATP synthase in cells from patients with the T8993G mitochondrial DNA mutation. Comparison with the enzyme in Rho(0) cells completely lacking mtDNA. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(15):11075–11081. DOI: 10.1074/jbc.275.15.11075.
5. Reed T, Perluigi M, Sultana R, Pierce WM, Klein JB, Turner DM, et al. Redox proteomic identification of 4-hydroxy-2-nonenal-modified brain proteins in amnesic mild cognitive impairment: insight into the role of lipid peroxidation in the progression and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*. 2008;30(1):107–120. DOI: 10.1016/j.nbd.2007.12.007.
6. Kucharczyk R, Zick M, Bietenhader M, Rak M, Couplan E, Blondel M, et al. Mitochondrial ATP synthase disorders: molecular mechanisms and the quest for curative therapeutic approaches. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*. 2009;1793(1):186–199. DOI: 10.1016/j.bbamer.2008.06.012.
7. Terni B, Boada J, Portero-Otin M, Pamplona R, Ferrer I. Mitochondrial ATP synthase in the entorhinal cortex is a target of oxidative stress as stages I/II of Alzheimer's disease pathology. *Brain Pathology*. 2010;20(1):222–233. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2009.00266.x.
8. Filosto M, Scarpelli M, Cotelli MS, Vielmi V, Todeschini A, Gregorelli V, et al. The role of mitochondria in neurodegenerative diseases. *Journal of Neurology*. 2011;258(10):1763–1774. DOI: 10.1007/s00415-011-6104-z.
9. Federico A, Cardaioli E, Da Pozzo P, Formichi P, Gallus GN, Radi E. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the Neurological Sciences*. 2012;322(1–2):254–262. DOI: 10.1016/j.jns.2012.05.030.
10. Dautant A, Meier T, Hahn A, Tribouillard-Tanvier D, di Rago J-P, Kucharczyk R. ATP synthase diseases of mitochondrial genetic origin. *Frontiers in Physiology*. 2018;9:329. DOI: 10.3389/fphys.2018.00329.
11. Magistretti PJ, Pellerin L. Cellular mechanisms of brain energy metabolism. Relevance to functional brain imaging and to neurodegenerative disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1996;777(1):380–387. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb34449.x.
12. Uzlova EV, Zimatkin SM. Distribution of ATP synthase in rat brain structures. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj meditsinskoj akademii*. 2020;19(3):11–16. Russian. DOI: 10.37903/vsgma.2020.3.2.
13. Korzhevskii DE, Gilerovich EG, Kirik OV, Grigor'ev IP, Sukhorukova EG, Alekseeva OS, et al. *Immunogistokhimicheskoe issledovanie golovnogo mozga* [Immunohistochemical study of the brain]. Korzhevskii DE, editor. Saint Petersburg: SpetsLit; 2016. 143 p. Russian.
14. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th edition. Amsterdam: Academic Press; 2007. [448 p.].
15. Yamaguchi K, Ueda K. Rhythmic discharge of mitral cells in the carp olfactory bulb. *Brain Research*. 1984;322(2):378–381. DOI: 10.1016/0006-8993(84)90138-0.
16. Bayer SA, Yackel JW, Puri PS. Neurons in the rat dentate gyrus granular layer substantially increase during juvenile and adult life. *Science*. 1982;216(4548):890–892. DOI: 10.1126/science.7079742.
17. Mameli O, Caria MA, Biagi F, Zedda M, Farina V. Neurons within the trigeminal mesencephalic nucleus encode for the kinematic parameters of the whisker pad macrovibrissae. *Physiological Reports*. 2017;5(10):e13206. DOI: 10.14814/phy2.13206.
18. Baker R, Llinás R. Electrotonic coupling between neurones in the rat mesencephalic nucleus. *The Journal of Physiology*. 1971; 212(1):45–63. DOI: 10.1113/jphysiol.1971.sp009309.
19. Carricondo F, Romero-Gómez B. The cochlear spiral ganglion neurons: the auditory portion of the VIII nerve. *The Anatomical Record*. 2019;302(3):463–471. DOI: 10.1002/ar.23815.

Получена 28.05.2021 / исправлена 28.06.2021 / принята 07.07.2021.
Received 28.05.2021 / revised 28.06.2021 / accepted 07.07.2021.



СПОСОБНОСТЬ ПРИРОДНОГО ХИМИОПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО АГЕНТА КУРКУМИНА ФУНКЦИОНИРОВАТЬ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ УФ-ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР

А. И. ПОТАПОВИЧ¹⁾, Т. Г. ШУТОВА²⁾, Т. В. КОСТЮК¹⁾, В. А. КОСТЮК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Институт химии новых материалов НАН Беларуси, ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Беларусь

Некоторые полифенолы и алкалоиды растительного происхождения способны действовать как эффективные фотосенсибилизаторы УФ-излучения. Данный феномен может усилить как их лечебные, так и побочные эффекты. Поскольку информация о способности куркуминоидов функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизаторов отсутствует, было исследовано влияние УФ-излучения на цитотоксическое действие куркумина, а также его наноструктурированных форм в отношении кератиноцитов линии HaCaT и раковых клеток MDA-MB-231. Полученные результаты свидетельствуют, что куркумин является эффективным фотосенсибилизатором, который под воздействием УФ-излучения диапазонов А и В может инициировать фотохимические реакции, ведущие к образованию химически активных интермедиатов, нарушению целостности мембран и гибели клеток. При включении куркумина в наноструктуры на основе гидрохлорида полиаллиламина /сульфата полистирола и сульфата хитозана /декстрана сохраняется его способность функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизатора.

Ключевые слова: УФ-излучение; куркумин; фотосенсибилизатор; наноструктуры; HaCaT; MDA-MB-231.

Образец цитирования:

Потапович АИ, Шутова ТГ, Костюк ТВ, Костюк ВА. Способность природного химиопротективного агента куркумина функционировать как эффективный УФ-фотосенсибилизатор. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:28–37.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-28-37>

For citation:

Potapovich AI, Shutava TG, Kostyuk TV, Kostyuk VA. The ability of the natural chemoprotective agent curcumin to function as an effective UV photosensitizer. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:28–37. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-28-37>

Авторы:

Алла Ивановна Потапович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Татьяна Геннадьевна Шутова – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биополимерных капсулированных структур отдела физикохимии тонкопленочных материалов.

Татьяна Владимировна Костюк – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Владимир Андреевич Костюк – доктор химических наук, доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Authors:

Alla I. Potapovich, PhD (biology); leading researcher at the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.
pot-alla@rambler.ru

Tatsiana G. Shutava, PhD (chemistry); leading researcher at the laboratory of biopolymer encapsulated structures, department of physical chemistry of thin-film materials.
shutova@ichm.basnet.by

Tatyana V. Kostyuk, junior researcher at the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.
1011@tut.by

Vladimir A. Kostyuk, doctor of science (chemistry), docent; head of the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.
kostyuk@bsu.by





THE ABILITY OF THE NATURAL CHEMOPROPHYLACTIC AGENT CURCUMIN TO FUNCTION AS AN EFFECTIVE UV PHOTSENSITISER

A. I. POTAPOVICH^a, T. G. SHUTAVA^b, T. V. KOSTYUK^a, V. A. KOSTYUK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bInstitute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus,
36 F. Skaryny Street, Minsk 220141, Belarus

Corresponding author: V. A. Kostyuk (kostyuk@bsu.by)

It is known that some plant polyphenols and alkaloids can act as effective photosensitisers of UV radiation. This phenomenon can enhance both therapeutic and side effects. Since there is no information regarding curcuminoids on their ability to function as UV photosensitisers, this work investigated the effect of UV radiation on the cytotoxic effect of curcumin, as well as its nanostructured forms, against keratinocytes of the HaCaT line and cancer cells MDA-MB-231. The results obtained indicate that curcumin is an effective photosensitiser capable of initiating photochemical reactions under the influence of UV radiation of the A and B range, which lead to the formation of chemically active intermediates, disruption of membrane integrity and cell death. When curcumin is incorporated into nanostructures based on polyallylamine hydrochloride / polystyrene sulfate and chitosan / dextran sulfate, its ability to function as a UV photosensitiser is retained.

Keywords: UV radiation; curcumin; photosensitiser; nanostructures; HaCaT; MDA-MB-231.

Введение

Куркумин – желтый полифенольный пигмент из корневища *Curcuma longa* L. (куркума) – веками использовался в кулинарии как пищевой краситель. В настоящее время он выступает ингредиентом пищевых добавок, применяется в косметике, употребляется в качестве ароматизатора для продуктов питания, таких как напитки со вкусом куркумы, в Южной и Юго-Восточной Азии, а также красителя для приправы карри, горчицы, сливочного масла и сыров [1]. Основным компонентом коммерческой куркумы является диферулоилметан, или куркумин I (систематическое наименование – 1,7-бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)-1,6-гептадиен-3,5-дион (ИЮПАК)). Его доля достигает 77 % от всех куркуминоидов куркумы, около 17 % приходится на деметоксикуркумин, или куркумин II, и примерно 3 % – на бисдеметоксикуркумин, или куркумин III. При этом общее содержание куркуминоидов в порошке коммерческой куркумы составляет только 2–5 % [1; 2]. Диферулоилметан (химическая формула – C₂₁H₂₀O₆) представляет собой кристаллы желто-оранжевого цвета, его молекулярная масса равна 368,39 г/моль, температура плавления – 183 °С. В нейтральных и кислых растворах преобладает кетоформа диферулоилметана, тогда как в твердом состоянии и в щелочном растворе – более стабильная енольная форма [3].

На протяжении нескольких тысячелетий куркумин является компонентом лекарственных средств, широко используемых в восточной (аюрведа и атхарведа) и китайской медицине [1]. Это обстоятельство обусловило значительный интерес исследователей, работающих в различных областях медицины, фармакологии и молекулярной биологии, к куркуминоидам как потенциальным лекарственным средствам профилактики и терапии различных заболеваний. Химиопрофилактика рака давно признана важной лечебной стратегией [4], и использование куркумина зарекомендовало себя как многообещающий способ борьбы с опухолями [5; 6]. Эффективность и безопасность куркумина в качестве дополнительной терапии показаны в рандомизированных контролируемых клинических испытаниях при язвенном колите [7; 8] и воспалительном заболевании кишечника [9].

Фармакологическую активность куркумина связывают с его способностью модулировать различные внутриклеточные сигнальные пути, оказывая противовоспалительное, противоопухолевое, антиоксидантное, иммуномодулирующее и противовирусное действие [10–12]. Один из механизмов противовоспалительного действия куркумина, которое считается наиболее важным, заключается в ингибировании внутриклеточной передачи сигналов посредством ядерного фактора NF-κB, тем самым подавляется экспрессия мРНК провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 и TNF в клетках, участвующих в развитии воспаления [1; 12].

Несмотря на убедительные экспериментальные доказательства высокой фармакологической активности *in vitro* и *ex vivo*, существуют и обоснованные сомнения в перспективах фармакологического использования куркуминоидов. Согласно обзору результатов 120 исследований, проведенных к 2017 г., куркумин не был успешным ни в одном клиническом испытании, это привело авторов к выводу, что он является нестабильным, реактивным, небиодоступным соединением и, следовательно, неперспективен для терапевтического использования [13]. В число факторов, ограничивающих биоактивность



куркумина и его аналогов, входят химическая нестабильность, нерастворимость в воде, отсутствие сильной и селективной целевой активности, низкая биодоступность, ограниченное тканевое распределение [13]. Также следует отметить, что крайне мало куркумина всасывается из желудочно-кишечного тракта, большая же часть соединения выводится с калом в неизменном виде [14]. Но если куркумин попадает в плазму в достаточных количествах, существует высокий риск его токсичности, поскольку в процессе биотрансформации он взаимодействует с белком специфических калиевых каналов сердца, кодируемым геном *hERG*, цитохромами P450s и глутатион-S-трансферазами, что увеличивает вероятность побочных эффектов [13].

Известно, что некоторые растительные полифенолы и алкалоиды, способные подавлять процесс канцерогенеза, в частности пиперин [15] и силимарин [16], могут действовать как эффективные фотосенсибилизаторы УФ-излучения. Данный феномен может усилить как лечебные, так и побочные эффекты химиопрофилактических агентов. Поскольку отсутствует информация о способности куркуминоидов функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизаторов, в настоящей работе было исследовано влияние УФ-излучения на цитотоксическое действие куркумина, а также его наноструктурированных форм в отношении кератиноцитов линии HaCaT и раковых клеток MDA-MB-231. Учитывая, что и опухолевые ткани, и эпидермис кожи обычно находятся в условиях низкого снабжения кислородом, эффекты свободного и наноструктурированного куркумина в сочетании с УФ-излучением оценивались в нормальных и аноксических условиях.

Материалы и методы исследования

Реактивы и среды. Куркумин, трипсин, соли, растворители, изотонический фосфатный буфер (ИФБ) (рН 7,4), диметилсульфоксид (ДМСО) были приобретены у фирмы *Sigma-Aldrich* (Италия), реактив PrestoBlue™ Reagent – у компании *Invitrogen* (США). В работе использовали ростовую среду DMEM фирмы *Lonza* (Бельгия), эмбриональную бычью сыворотку (ЭБС) фирмы *Capricorn Scientific* (Германия). Анаэробный индикатор приобретен у компании *Thermo Scientific* (Германия), система для анаэробной инкубации AnaeroGen Compact – у фирмы *Oxoid* (Великобритания).

Клеточные культуры. В качестве объекта исследования использовали культивируемые кератиноциты человека линии HaCaT, подарок доктора Н. Е. Фузенига (*Deutsches Krebsforschungszentrum*, Гейдельберг, Германия), и клетки линии аденокарциномы молочной железы человека MDA-MB-231 (карцинома протока груди). Клетки растили в полной среде DMEM с добавлением 10 % ЭБС, 2 ммоль/л L-глутамин и антибиотиков (100 МЕ/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) при стандартных условиях (37 °С; 5 % CO₂).

Наноструктурированный куркумин. Наноструктуры (PAH/PPS)₄ на основе гидрохлорида полиаллиламина/сульфата полистирола и наноструктуры (Hit/DS)₄ на основе сульфата хитозана/декстрана со средним размером (1,1 ± 0,3) мкм формировали путем послойной сборки в водных растворах. Полученные наноструктуры обладали хорошей диспергируемостью микрокристаллов куркумина. Оба типа наноструктур, содержащих 10 мг/мл куркумина, растворялись в 0,9 % NaCl.

Общая схема проведения экспериментов *in vitro*. Эксперименты проводили в 96- и 24-луночных планшетах. Для посева в 96-луночные планшеты в лунку вносили 100 мкл клеточной суспензии (0,7 · 10⁴ клеток на лунку) в полной среде DMEM, для посева в 24-луночные – 1 мл клеточной суспензии (5,0 · 10⁴ клеток на лунку). Клетки растили в планшетах до конfluence 80 %, непосредственно перед УФ-облучением полную среду в лунках заменяли на ИФБ, содержащий исследуемые вещества. В качестве источника УФ-излучения использовали облучатель ультрафиолетовой ОУФк-05 (Россия), обеспечивающий в эффективном спектральном диапазоне (280–400 нм) интенсивность облучения на расстоянии 0,1 м не менее 25 Вт/м² при соотношении УФА и УФВ, равном 2 : 1. После облучения ИФБ заменяли на среду DMEM, не содержащую ЭБС, и культивировали клетки в течение 24 ч при стандартных условиях (37 °С; 5 % CO₂).

Для создания аноксии использовали систему для анаэробной инкубации AnaeroGen Compact, позволяющую снизить содержание кислорода до уровня менее 1 % за 30 мин при уровне диоксида углерода от 8 до 14 %. Для визуального подтверждения анаэробных условий применяли кислородный анаэробный индикатор, который помещали на планшет с клетками.

Определение жизнеспособности клеток. Жизнеспособность клеток определяли в 96-луночных планшетах, используя реактив PrestoBlue™ Reagent, который разводили в культуральной среде (1 : 9) и добавляли к клеткам в количестве 100 мкл на лунку. На каждом планшете для определения базового уровня флуоресценции оставляли лунки с культуральной средой без клеток. Флуоресценцию измеряли после инкубации в течение 1,5 ч при 37 °С, применяя фильтр λ_{ex} = (560 ± 25) нм, λ_{em} = (590 ± 10) нм, на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Австралия).



Оценка повреждения клеточных мембран. Повреждение клеточных мембран оценивали по выходу цитоплазматического фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в 24-луночных планшетах. Активность ЛДГ в культуральной среде и лизатах, полученных путем добавления к адгезированным клеткам 1 % раствора тритона X-100 в ИФБ и последующего 30-минутного встряхивания на мини-шейкере PSU-2T Biosan (Латвия), определяли спектрофотометрически, по изменению оптической плотности при 340 нм.

Статистическая обработка результатов. Обработка полученных результатов выполнена с использованием стандартной компьютерной программы *Excel*. Статистические данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое; SD – стандартное отклонение. Количество измерений варьировало от 8 до 16. Для оценки разницы между экспериментальными группами применяли t -критерий Стьюдента, достоверными считались значения $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Влияние свободного и наноструктурированного куркумина на жизнеспособность раковых клеток MDA-MB-231 и кератиноцитов HaCaT. Влияние куркумина на жизнеспособность клеток MDA-MB-231 и HaCaT было исследовано в диапазоне концентраций 20–80 мкмоль/л (PrestoBlue™ Reagent). Установлено, что куркумин проявляет заметное цитотоксическое действие в отношении клеток MDA-MB-231 и HaCaT в концентрации 40 мкмоль/л и выше (табл. 1).

Таблица 1

Влияние куркумина на количество жизнеспособных клеток MDA-MB-231 и HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия

Table 1

Effect of curcumin on the number of viable cells MDA-MB-231 and HaCaT (as a percentage of control) after 24 h of exposure

| Клеточная линия | Контроль | Куркумин, мкмоль/л | | |
|-----------------|----------|--------------------|---------|----------|
| | | 20 | 40 | 80 |
| MDA-MB-231 | 100 ± 5 | 97 ± 5 | 83 ± 4* | 56 ± 7** |
| HaCaT | 100 ± 6 | 98 ± 9 | 80 ± 5* | 74 ± 3* |

Примечание. * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем.

Цитотоксическое действие наноструктурированного куркумина (PAH/PPS)₄ и (Hit/DS)₄ исследовалось в диапазоне концентраций 10–100 мкмоль/л (по куркумину). Установлено, что при всех использованных концентрациях наноструктурированный куркумин не оказывал влияния на количество жизнеспособных клеток MDA-MB-231 и HaCaT через 24 ч инкубации (результаты не приведены).

Совместное действие УФ-излучения и куркумина в отношении раковых клеток MDA-MB-231 и кератиноцитов HaCaT в условиях нормоксии и аноксии. В данной серии экспериментов была исследована жизнеспособность клеток MDA-MB-231 и HaCaT через 24 ч после воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) без куркумина и совместно с ним. При этом количество жизнеспособных клеток MDA-MB-231 оценивали как флуоресцентным методом с использованием PrestoBlue™ Reagent, так и спектрофотометрическим методом, основанным на определении выхода из поврежденных клеток цитоплазматического фермента ЛДГ. Установлено, что воздействие УФ-излучения в отсутствие куркумина через 24 ч инкубации в условиях и нормоксии, и аноксии приводит к достоверному снижению количества жизнеспособных клеток MDA-MB-231, могущих метаболизировать резазурин (PrestoBlue™ Reagent) в высокофлуоресцентное соединение красного цвета (табл. 2).

Однако снижение способности клеток метаболизировать резазурин не сопровождалось выраженным нарушением целостности клеточных мембран, ведущим к выходу цитоплазматических ферментов (в частности, выход ЛДГ был менее 10 %) (табл. 3). В том случае, когда воздействие УФ-излучения происходит в присутствии куркумина в диапазоне концентраций 1–5 мкмоль/л, через 24 ч инкубации в условиях нормоксии и аноксии отмечается достоверное дозозависимое снижение количества жизнеспособных клеток MDA-MB-231, определяемых как методом с использованием PrestoBlue™ Reagent, так и по выходу ЛДГ. Практически полное повреждение клеток (более чем на 90 %) наблюдается при концентрации куркумина 2,5 мкмоль/л (см. табл. 3).

При исследовании воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) на клетки HaCaT установлено, что количество жизнеспособных клеток через 24 ч достоверно снижается только в случае инкубации при аноксии (табл. 4). Воздействие УФ-излучения в присутствии куркумина через 24 ч инкубации в условиях нормоксии и аноксии приводит к достоверному дозозависимому снижению количества жизнеспособных клеток. Практически полное повреждение клеток (более чем на 90 %) наблюдается при концентрации куркумина 10 мкмоль/л (см. табл. 4).



Таблица 2

Оценка совместного цитотоксического действия куркумина и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 2

Estimation of the combined cytotoxic effect of curcumin and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + куркумин, мкмоль/л | | |
|----------------------|----------|----------------------------|-------------------------|----------|---------|
| | | | 1,0 | 2,5 | 5,0 |
| Нормоксия | 100 ± 20 | 73 ± 14* | 45 ± 12** | 16 ± 7** | 0 ± 1** |
| Аноксия | 100 ± 15 | 69 ± 14* | 36 ± 10** | 17 ± 8** | 0 ± 2** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие куркумина.

Таблица 3

Оценка совместного цитотоксического действия куркумина и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (по выходу ЛДГ из клеток)

Table 3

Estimation of the combined cytotoxic effect of curcumin and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (based on the release of LDH from cells)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + куркумин, мкмоль/л | | |
|----------------------|----------|----------------------------|-------------------------|----------|----------|
| | | | 1,0 | 2,5 | 5,0 |
| Нормоксия | 100 ± 2 | 92 ± 2* | 53 ± 6** | 9 ± 7*** | 0 ± 5*** |
| Аноксия | 100 ± 3 | 93 ± 1* | 35 ± 5** | 0 ± 2*** | 4 ± 1*** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,001$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие куркумина.

Таблица 4

Оценка совместного цитотоксического действия куркумина и УФ-излучения в отношении клеток HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 4

Estimation of the combined cytotoxic effect of curcumin and UV radiation on HaCaT cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + куркумин, мкмоль/л | | |
|----------------------|----------|----------------------------|-------------------------|------------|----------|
| | | | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
| Нормоксия | 100 ± 19 | 98 ± 15 | 54 ± 20*** | 19 ± 15*** | 1 ± 3*** |
| Аноксия | 100 ± 12 | 82 ± 12* | 54 ± 11** | 19 ± 9*** | 4 ± 2*** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,001$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие куркумина.

Совместное действие УФ-излучения и наноструктурированного куркумина в отношении кератиноцитов HaCaT в нормальных и аноксических условиях. В данной серии экспериментов была исследована жизнеспособность клеток HaCaT через 24 ч после воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) совместно с куркумином, заключенным в наноструктурах Кур-(ПАН/PPS)₄ и Кур-(Hit/DS)₄. Наноструктуры куркумина добавляли в культуральную среду в диапазоне концентраций 5–20 мкмоль/л (по куркумину). Установлено, что при содержании в культуральной среде 10 мкмоль/л структурированного куркумина количество жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации как при нормоксии, так и при аноксии снижается менее чем на 30 % в сравнении с клетками, подвергшимися воздействию только УФ-излучения, а при содержании 20 мкмоль/л структурированного куркумина – на 60–65 % (табл. 5 и 6).



Таблица 5

Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(РАН/PPS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 5

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(РАН/PPS)₄ and UV radiation on HaCaT cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + Кур-(РАН/PPS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину) | | |
|----------------------|----------|----------------------------|---|-----------|------------|
| | | | 5 | 10 | 20 |
| Нормоксия | 100 ± 19 | 98 ± 15 | 90 ± 12 | 72 ± 13** | 41 ± 9*** |
| Аноксия | 100 ± 12 | 82 ± 12* | 74 ± 13 | 70 ± 19** | 36 ± 14*** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,05$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.

Таблица 6

Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(Hit/DS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 6

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(Hit/DS)₄ and UV radiation on HaCaT cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + Кур-(Hit/DS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину) | | |
|----------------------|----------|----------------------------|--|-----------|------------|
| | | | 5 | 10 | 20 |
| Нормоксия | 100 ± 19 | 98 ± 15 | 90 ± 12 | 70 ± 11** | 35 ± 7*** |
| Аноксия | 100 ± 12 | 82 ± 12* | 72 ± 16 | 62 ± 9** | 33 ± 11*** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,05$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.

Совместное действие УФ-излучения и наноструктурированного куркумина в отношении раковых клеток MDA-MB-231 в нормальных и аноксических условиях. В данной серии экспериментов была исследована жизнеспособность клеток MDA-MB-231 через 24 ч после воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) совместно с куркумином, заключенным в наноструктурах Кур-(РАН/PPS)₄ и Кур-(Hit/DS)₄. Наноструктуры куркумина добавляли в культуральную среду в диапазоне концентраций 2,5–20,0 мкмоль/л (по куркумину). Установлено, что при содержании в среде 20 мкмоль/л структурированного куркумина количество жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации при нормоксии снижается на 45–50 % в сравнении с клетками, подвергшимися воздействию только УФ-излучения (табл. 7 и 8). При содержании 10 мкмоль/л структурированного куркумина достоверного снижения количества жизнеспособных клеток не выявлено. В случае аноксии небольшое (10–12 %), но достоверное снижение количества жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации в сравнении с клетками, подвергшимися воздействию только УФ-излучения, выявлено при содержании структурированного куркумина 10 мкмоль/л (см. табл. 7 и 8).

Приведенные выше результаты свидетельствуют, что куркумин может действовать как УФ-фотосенсибилизатор. Его молекулы, поглощая УФ-излучение диапазонов А и В, способны переходить в возбужденное состояние, инициировать фотохимические реакции, которые ведут к образованию активных форм кислорода и других химически активных интермедиатов [17; 18] и, как следствие, подавлению метаболизма, нарушению целостности мембран и гибели клеток при их темновой инкубации. При этом под воздействием УФ-излучения происходит дозозависимое разрушение хромофоров молекулы куркумина (см. рисунок).



Таблица 7

Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(РАН/PPS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 7

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(РАН/PPS)₄ and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + Кур-(РАН/PPS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину) | | | |
|----------------------|----------|----------------------------|---|---------|-----------|-----------|
| | | | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 20,0 |
| Нормоксия | 100 ± 19 | 73 ± 14* | 83 ± 10 | 89 ± 9 | 70 ± 7 | 26 ± 5*** |
| Аноксия | 100 ± 12 | 69 ± 14* | 70 ± 8 | 64 ± 10 | 57 ± 13** | 31 ± 5*** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,001$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.

Таблица 8

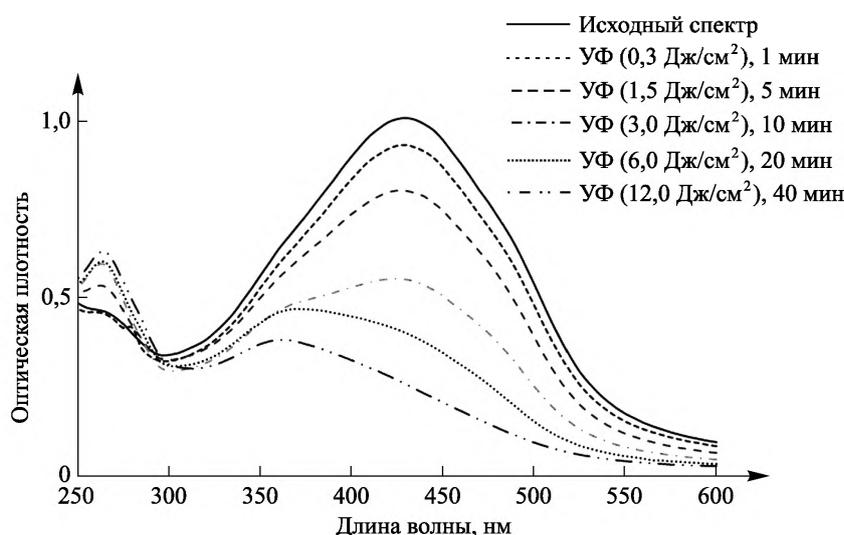
Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(Hit/DS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 8

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(Hit/DS)₄ and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

| Условия эксперимента | Контроль | УФ (6 Дж/см ²) | УФ + Кур-(Hit/DS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину) | | | |
|----------------------|----------|----------------------------|--|--------|-----------|-----------|
| | | | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 20,0 |
| Нормоксия | 100 ± 19 | 73 ± 14* | 92 ± 15 | 84 ± 7 | 73 ± 7 | 17 ± 4*** |
| Аноксия | 100 ± 12 | 69 ± 14* | 84 ± 16 | 75 ± 7 | 60 ± 12** | 22 ± 6*** |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,05$, *** – $p \leq 0,0001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.



Изменения в спектре поглощения куркумина (50 мкмоль/л) в УФ и видимой области после воздействия различных доз УФ-излучения
Changes in the absorption spectrum of curcumin (50 μmol/L) in the UV and visible region after exposure to various doses of UV radiation



Сравнив данные, приведенные в табл. 2 и 4, можно сделать вывод, что культура раковых клеток MDA-MB-231 более чувствительна к фотодинамическому действию куркумина, чем кератиноциты линии HaCaT. Следует отметить, что уровень кислорода в среде инкубации не оказывал существенного влияния на темновые процессы. Гибель клеток наступала как при их инкубации в нормальных аэробных условиях, так и при аноксии. Способность куркумина вовлекаться под действием УФ-излучения в фотохимические процессы может иметь не только положительные, но и отрицательные последствия при использовании его как средства дополнительной терапии. Известно, что УФ-излучение проникает в кожу в зависимости от длины волны. Кроме того, на глубину проникновения УФ-излучения влияют толщина эпидермиса и его рогового слоя, тип кожи (содержание меланина). Так, УФА с большей длиной волны проникает глубоко в дерму. Напротив, УФВ почти полностью поглощается эпидермисом и сравнительно мало достигает дермы, а УФС практически весь поглощается роговым слоем [19; 20]. К примеру, если на поверхность кожи воздействуют УФА (365 нм), УФВ (313 нм) и УФС (254 нм) в одинаковой дозе 100 кДж/м^2 , то окажется, что на глубине 30 мкм дозы УФА, УФВ и УФС будут 50; 33 и 5 кДж/м^2 , а на глубине 70 мкм – 19,0; 9,5 и менее $1,0 \text{ кДж/м}^2$ соответственно. Несмотря на то что куркумин обладает низкой биодоступностью [13; 14], существует возможность его накопления в коже, а следовательно, и вероятность усиления под влиянием солнечного света (или другого источника УФ-излучения) его цитотоксического действия в отношении как нормальных кератиноцитов, фибробластов и меланоцитов, так и опухолевых клеток, например клеток меланомы. Теоретически позитивный терапевтический эффект куркумина как УФ-фотосенсибилизатора может достигаться только в случае его избирательного накопления в опухолевых клетках. Биодоступность и избирательность куркумина могут быть увеличены при использовании наноструктурированных форм, что делает их создание и изучение возможности терапевтического использования весьма актуальной задачей [21]. Полисахариды (хитозан, альгиновая кислота, карбоксиметилцеллюлоза, пектин, декстрана сульфат) широко применяются при создании наноконтейнеров для фармакологически активных субстанций [22]. Как свидетельствуют полученные результаты, при включении куркумина в наноструктуры на основе гидрохлорида полиаллиламина /сульфата полистирола и сульфата хитозана /декстрана сохраняется его способность функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизатора и инициировать под действием УФ-излучения процессы, ведущие к гибели клеток при их последующей темновой инкубации. Этот феномен может быть обусловлен как действием свободного куркумина, высвобождающегося при захвате наноструктур клетками, так и способностью куркумина функционировать как УФ-фотосенсибилизатор в составе наноструктур.

Заключение

Таким образом, можно сделать вывод, что наряду со способностью модулировать различные внутриклеточные сигнальные пути, оказывая противовоспалительное, противоопухолевое, антиоксидантное, иммуномодулирующее и противовирусное действие, свободный и наноструктурированный куркумин проявляет свойства эффективного фотосенсибилизатора, который под воздействием УФ-излучения диапазонов А и В может инициировать фотохимические реакции, ведущие к образованию химически активных интермедиатов, подавлению метаболизма, нарушению целостности мембран и гибели клеток.

Библиографические ссылки

1. Sharifi-Rad J, Rayess YE, Rizk AA, Sadaka C, Zgheib R, Zam W, et al. Turmeric and its major compound curcumin on health: bioactive effects and safety profiles for food, pharmaceutical, biotechnological and medicinal applications. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:01021. DOI: 10.3389/fphar.2020.01021.
2. Buckingham J, editor. *Dictionary of natural products on DVD*. London: Chapman & Hall/CRC; 2018. 480 p.
3. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*. 2007;4(6):807–818. DOI: 10.1021/mp700113r.
4. Landis-Piwowar KR, Iyer NR. Cancer chemoprevention: current state of the art. *Cancer Growth and Metastasis*. 2014;7:19–25. DOI: 10.4137/CGM.S11288.
5. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(5):1033. DOI: 10.3390/ijms20051033.
6. Gupta SC, Prasad S, Kim JH, Patchva S, Webb LJ, Priyadarsini IK, et al. Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Natural Product Reports*. 2011;28(12):1937–1955. DOI: 10.1039/C1NP00051A.
7. Coelho MR, Romi MD, Ferreira DMTP, Zaltman C, Soares-Mota M. The use of curcumin as a complementary therapy in ulcerative colitis: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *Nutrients*. 2020;12(8):2296. DOI: 10.3390/nu12082296.
8. Baliga MS, Joseph N, Venkataranganna MV, Saxena A, Ponemone V, Fayad R. Curcumin, an active component of turmeric in the prevention and treatment of ulcerative colitis: preclinical and clinical observations. *Food & Function*. 2012;3(11):1109–1117. DOI: 10.1039/C2FO30097D.



9. Yang Z, Liu W, Zhou X, Zhu X, Suo F, Yao S. The effectiveness and safety of curcumin as a complementary therapy in inflammatory bowel disease: a protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(43):e22916. DOI: 10.1097/MD.00000000000022916.
10. Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012;39(3):283–299. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2011.05648.x.
11. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*. 2014;2014:186864. DOI: 10.1155/2014/186864.
12. Šudomová M, Hassan STS. Nutraceutical curcumin with promising protection against herpesvirus infections and their associated inflammation: mechanisms and pathways. *Microorganisms*. 2021;9(2):292. DOI: 10.3390/microorganisms9020292.
13. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The essential medicinal chemistry of curcumin. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(5):1620–1637. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00975.
14. Metzler M, Pfeiffer E, Schulz SI, Dempe JS. Curcumin uptake and metabolism. *BioFactors*. 2013;39(1):14–20. DOI: 10.1002/biof.1042.
15. Rather RA, Bhagat M. Cancer chemoprevention and piperine: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2018;6:10. DOI: 10.3389/fcell.2018.00010.
16. Fidrus E, Ujhelyi Z, Fehér P, Hegedűs C, Janka EA, Paragh G, et al. Silymarin: friend or foe of UV exposed keratinocytes? *Molecules*. 2019;24(9):1652. DOI: 10.3390/molecules24091652.
17. Красновский АА. Фотодинамическая регуляция биологических процессов. Первичные механизмы. В: Рубин АБ, редактор. *Проблемы регуляции в биологических системах. Биофизические аспекты*. Ижевск: Регулярная и хаотическая динамика; 2006. с. 223–254. Совместное издание с Институтом компьютерных исследований.
18. Chatterjee S. Oxidative stress, inflammation, and disease. In: Dziubla T, Butterfield DA, editors. *Oxidative stress and biomaterials*. New York: Academic Press; 2016. p. 35–58.
19. Bruls WAG, Slaper H, Van Der Leun JC, Berrens L. Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochemistry and Photobiology*. 1984;40(4):485–494. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1984.tb04622.x.
20. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(6):12222–12248. DOI: 10.3390/ijms140612222.
21. Masoodi M, Mahdiabadi MA, Mokhtare M, Agah S, Kashani AHF, Rezadoost AM, et al. The efficacy of curcuminoids in improvement of ulcerative colitis symptoms and patients’ self-reported well-being: a randomized double-blind controlled trial. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;119(11):9552–9559. DOI: 10.1002/jcb.27273.
22. Шутова ТГ. Нано- и микроконтейнеры на основе биополимеров и биологически активных соединений. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*. 2013;4:51–61.

References

1. Sharifi-Rad J, Rayess YE, Rizk AA, Sadaka C, Zgheib R, Zam W, et al. Turmeric and its major compound curcumin on health: bioactive effects and safety profiles for food, pharmaceutical, biotechnological and medicinal applications. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:01021. DOI: 10.3389/fphar.2020.01021.
2. Buckingham J, editor. *Dictionary of natural products on DVD*. London: Chapman & Hall/CRC; 2018. 480 p.
3. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmacology*. 2007;4(6):807–818. DOI: 10.1021/mp700113r.
4. Landis-Piwowar KR, Iyer NR. Cancer chemoprevention: current state of the art. *Cancer Growth and Metastasis*. 2014;7:19–25. DOI: 10.4137/CGM.S11288.
5. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(5):1033. DOI: 10.3390/ijms20051033.
6. Gupta SC, Prasad S, Kim JH, Patchva S, Webb LJ, Priyadarsini IK, et al. Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Natural Product Reports*. 2011;28(12):1937–1955. DOI: 10.1039/C1NP00051A.
7. Coelho MR, Romi MD, Ferreira DMTP, Zaltman C, Soares-Mota M. The use of curcumin as a complementary therapy in ulcerative colitis: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *Nutrients*. 2020;12(8):2296. DOI: 10.3390/nu12082296.
8. Baliga MS, Joseph N, Venkataranganna MV, Saxena A, Ponemone V, Fayad R. Curcumin, an active component of turmeric in the prevention and treatment of ulcerative colitis: preclinical and clinical observations. *Food & Function*. 2012;3(11):1109–1117. DOI: 10.1039/C2FO30097D.
9. Yang Z, Liu W, Zhou X, Zhu X, Suo F, Yao S. The effectiveness and safety of curcumin as a complementary therapy in inflammatory bowel disease: a protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(43):e22916. DOI: 10.1097/MD.00000000000022916.
10. Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012;39(3):283–299. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2011.05648.x.
11. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*. 2014;2014:186864. DOI: 10.1155/2014/186864.
12. Šudomová M, Hassan STS. Nutraceutical curcumin with promising protection against herpesvirus infections and their associated inflammation: mechanisms and pathways. *Microorganisms*. 2021;9(2):292. DOI: 10.3390/microorganisms9020292.
13. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The essential medicinal chemistry of curcumin. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(5):1620–1637. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00975.
14. Metzler M, Pfeiffer E, Schulz SI, Dempe JS. Curcumin uptake and metabolism. *BioFactors*. 2013;39(1):14–20. DOI: 10.1002/biof.1042.
15. Rather RA, Bhagat M. Cancer chemoprevention and piperine: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2018;6:10. DOI: 10.3389/fcell.2018.00010.
16. Fidrus E, Ujhelyi Z, Fehér P, Hegedűs C, Janka EA, Paragh G, et al. Silymarin: friend or foe of UV exposed keratinocytes? *Molecules*. 2019;24(9):1652. DOI: 10.3390/molecules24091652.



17. Krasnovskii AA. [Photodynamic regulation of biological processes. Primary mechanisms]. In: Rubin AB, editor. *Problemy regulatsii v biologicheskikh sistemakh. Biofizicheskie aspekty* [Problems of regulation in biological systems. Biophysical aspects]. Izhevsk: Regular and Chaotic Dynamics; 2006. p. 223–254. Co-published by the Institute of Computer Science. Russian.
18. Chatterjee S. Oxidative stress, inflammation, and disease. In: Dziubla T, Butterfield DA, editors. *Oxidative stress and biomaterials*. New York: Academic Press; 2016. p. 35–58.
19. Bruls WAG, Slaper H, Van Der Leun JC, Berrens L. Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochemistry and Photobiology*. 1984;40(4):485–494. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1984.tb04622.x.
20. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14(6):12222–12248. DOI: 10.3390/ijms140612222.
21. Masoodi M, Mahdiabadi MA, Mokhtare M, Agah S, Kashani AHF, Rezaeost AM, et al. The efficacy of curcuminoids in improvement of ulcerative colitis symptoms and patients’ self-reported well-being: a randomized double-blind controlled trial. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;119(11):9552–9559. DOI: 10.1002/jcb.27273.
22. Shutava TG. Nano- and microcontainers from biopolymers and biologically active compounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*. 2013;4:51–61. Russian.

Получена 22.06.2021 / исправлена 22.07.2021 / принята 06.08.2021.
Received 22.06.2021 / revised 22.07.2021 / accepted 06.08.2021.



УДК 581.192.7

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕПТИДНОГО ЭЛИСИТОРА AtPep1

Г. Г. ФИЛИПЦОВА¹⁾, В. М. ЮРИН¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Исследовано влияние пептидного элиситора AtPep1 на устойчивость растений сои и гороха к окислительному стрессу. Определена концентрация пептида, оказывающая максимальный элиситорный эффект на данные растения, – 10^{-9} моль/л. Показано, что обработка надземной части проростков этим пептидом приводит к увеличению активности пероксидазы и супероксиддисмутазы и снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов в растениях, подвергнутых окислительному стрессу, что и обуславливает повышение устойчивости растений к стрессовому воздействию.

Ключевые слова: пептидный элиситор AtPep1; окислительный стресс; активные формы кислорода; перекисное окисление липидов; пероксидаза; супероксиддисмутаза.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Химические технологии и материалы», подпрограммы «Биорегуляторы растений».

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL MECHANISMS OF PLANTS RESISTANCE TO OXIDATIVE STRESS UNDER PEPTIDE ELICITOR AtPep1

H. G. FILIPTSOVA^a, V. M. YURIN^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: H. G. Filiptsova (filiptsova@bsu.by)

The effect of the peptide elicitor AtPep1 on the resistance of soybean and pea plants to oxidative stress was studied. The concentration of the peptide 10^{-9} mol/L has the maximum elicitor effect on these plants. It was shown that treatment of the aerial part of seedlings with this peptide leads to an increase in the activity of peroxidase and superoxide dismutase and a decrease in the level of lipid peroxidation products in plants under oxidative stress. Revealed effects cause an increase in the plants resistance to stress.

Keywords: peptide elicitor AtPep1; oxidative stress; reactive oxygen species; lipid peroxidation; peroxidase; superoxide dismutase.

Acknowledgements. This work was supported by state program for scientific research «Chemical technologies and materials», subprogram «Bioregulators of plants».

Образец цитирования:

Филипцова ГГ, Юрин ВМ. Физиолого-биохимические механизмы формирования устойчивости растений к окислительному стрессу под действием пептидного элиситора AtPep1. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2021;3:38–46.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-38-46>

For citation:

Filiptsova HG, Yurin VM. Physiological and biochemical mechanisms of plants resistance to oxidative stress under peptide elicitor AtPep1. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;3:38–46. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-38-46>

Авторы:

Галина Григорьевна Филипцова – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Владимир Михайлович Юрин – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Authors:

Halina G. Filiptsova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

Vladimir M. Yurin, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.





Введение

Устойчивость растений к стрессовым воздействиям реализуется благодаря функционированию различных защитных механизмов. Значительную роль в этом процессе играет сигнальная система, связанная с восприятием веществ элиситоров и запуском механизмов индуцированной устойчивости. Элиситорными свойствами обладают соединения различной химической природы (углеводы, липиды, протеины, гликопротеиды и др.), имеющие разные источники происхождения (патогенные и непатогенные микроорганизмы, грибы, насекомые-вредители, а также сами растения) [1; 2]. Согласно современным представлениям эти соединения играют существенную роль в формировании многоуровневой иммунной системы растений [3; 4].

Одним из распространенных семейств растительных элиситоров являются элиситоры пептидной природы *Peeps* (*plant elicitor peptides*). В 2006 г. из листьев модельного растения *Arabidopsis thaliana* выделен первый пептидный элиситор, названный *AtPep1* [5]. Позже в растениях арабидопсиса были обнаружены еще семь гомологов данного олигопептида, участвующих в регуляции антимикробной защиты. Гены, кодирующие подобные пептиды, выявлены во многих растениях [4]. К настоящему времени эндогенные пептидные элиситоры идентифицированы у более чем 50 видов растений из различных семейств [6]. Вероятнее всего, образование эндогенных пептидных элиситоров широко распространено в растительном мире и представляет собой один из механизмов индукции иммунитета в ответ на повреждающее действие фитопатогенов или насекомых-вредителей. В работе [7] авторами был проведен анализ литературных данных о функциональной активности эндогенных пептидных элиситоров растений, механизмах *Peep*-сигналинга и их роли в устойчивости растений к биотическим стрессорам, тогда как роль данных пептидов в устойчивости растений к абиотическим стрессорам недостаточно исследована. Вместе с тем известно, что при любом стрессовом воздействии как биотической, так и абиотической природы развивается серия неспецифических стрессовых реакций, связанных с изменением проницаемости мембраны, а также увеличением скорости окислительных процессов и развитием окислительного, или оксидативного, стресса (ОС). Скорость окислительных реакций в растениях определяется балансом между двумя противоположными процессами – скоростью образования активных форм кислорода (АФК) и скоростью их детоксикации. Избыточное накопление АФК вызывает активацию свободнорадикального и перекисного окисления липидов, белков, ДНК, РНК и других клеточных компонентов и развитие ОС [8]. Повреждающему эффекту свободных радикалов и АФК противостоит система антиоксидантной защиты, мощность развития которой в значительной степени определяет устойчивость растений к стрессовым воздействиям. Многие элиситоры способны индуцировать запуск механизмов антиоксидантной защиты растений, тем самым повышая их устойчивость к стрессовым воздействиям [9; 10]. Индукция антиоксидантных систем веществами, обладающими элиситорными свойствами, в настоящее время рассматривается как один из перспективных способов повышения неспецифической устойчивости растений к действию стрессовых факторов. Применение пептидных элиситоров имеет ряд преимуществ перед традиционными методами: они действуют в наномолярных концентрациях, не являются чужеродными для живых организмов, не загрязняют окружающую среду и, что самое важное, «подготавливают» растительный организм к последующему действию стрессоров, повышая фитоиммунитет.

Цель настоящей работы – исследовать влияние экзогенной обработки растений сои и гороха пептидом *AtPep1* на их устойчивость к действию ОС, а также установить механизмы защитного эффекта данного соединения.

Материалы и методы исследования

Изучена элиситорная активность олигопептида *AtPep1*, полученного в Институте биоорганической химии НАН Беларуси посредством твердофазного пептидного синтеза с помощью автоматического пептидного синтезатора *ResPeep SL* (Германия) [11]. В качестве объектов исследования выступали проростки сельскохозяйственных бобовых культур – гороха посевного (*Pisum sativum*) сорта Натальевский и сои культурной (*Glycine max*) сорта Припять.

Схема постановки эксперимента. Семена растений замачивали в дистиллированной воде в течение 1 сут для набухания, после чего высаживали в бумажные рулоны и выращивали в водной культуре 14 сут при температуре 20–22 °С с фотопериодом 16 ч света, 8 ч темноты. Надземную часть 2-недельных проростков опрыскивали водными растворами пептида *AtPep1* в диапазоне концентраций 10^{-12} – 10^{-9} моль/л, контроль оставляли без обработки. Норма расхода рабочего раствора составляла примерно 1 мл на рулон (10–12 проростков). Через 24 ч после обработки проростки подвергали ОС путем погружения корневой системы в раствор, содержащий по 10^{-3} моль/л CuCl_2 , H_2O_2 и аскорбиновой кислоты. Спустя



1 сут раствор заменяли дистиллированной водой и продолжали выращивать проростки 7 сут в стандартных условиях, после чего определяли их морфометрические параметры – сырую и сухую массу надземной части и корней, а также площадь первых настоящих листьев.

В целях выявления механизмов элиситорного действия пептида было изучено его влияние на содержание первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), уровень АФК, активность пероксидазы и супероксиддисмутазы. Для этого 14-дневные проростки обрабатывали пептидом в концентрации 10^{-9} моль/л, на 2-е сутки проростки подвергали воздействию ОС, как это было описано ранее, через 24 и 48 ч, т. е. на 3-и и 4-е сутки после обработки, определяли указанные параметры. Кроме того, было исследовано изменение содержания АФК в листьях проростков гороха через 2; 24 и 48 ч после обработки пептидом, а также спустя 2; 4 и 24 ч действия ОС.

Методики исследования. Уровень продуктов ПОЛ (оксодисенных и триеновых конъюгатов) определяли методом прямой спектрофотометрии изопропанольных экстрактов из листьев опытных растений [12], содержание АФК в листьях – флуоресцентным методом с использованием 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата [13]. Интенсивность флуоресценции измеряли на спектрофлуориметре Saгу Eclipse (Германия). Активность пероксидазы определяли по Бояркину по скорости окисления бензидина, измеряемой на спектрофотометре Saгу (Германия) [14], активность супероксиддисмутазы – спектрофотометрически по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия [15].

Статистическая обработка. Опыты проводили в 3-кратной биологической повторности, в каждой серии экспериментов выращивали по 12–15 проростков. Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами биологической статистики, вычисляли средние значения показателей, стандартное отклонение и ошибку средней величины. Достоверными считались результаты при $p \leq 0,05$. Для статистической обработки использовался пакет программ *Microsoft Excel 2019*.

Результаты и их обсуждение

Для выявления элиситорных свойств пептида AtPep1 было изучено его влияние в диапазоне концентраций от 10^{-12} до 10^{-9} моль/л на морфометрические характеристики проростков сои и гороха, подвергнутых ОС. Согласно результатам, представленным на рис. 1, действие ОС приводит к уменьшению сырой массы надземной части проростков сои на 30 %, а корней – на 25 % по сравнению с контролем, у гороха эти параметры снижаются на 24 и 37 % соответственно. Ингибирование ростовых процессов под влиянием ОС может быть связано с активацией окислительных реакций в растениях, а также негативным действием ионов меди на различные метаболические процессы. При предварительной обработке проростков сои пептидом AtPep1 во всех исследованных концентрациях, за исключением самой низкой (10^{-12} моль/л), наблюдается тенденция к снижению негативного воздействия стрессора. Наиболее заметно защитное действие пептида проявляется на корнях сои, в меньшей степени – на надземной части. Достоверно значимое влияние пептида выявлено при концентрациях 10^{-9} и 10^{-11} моль/л, в этом случае сырая масса корней проростков сои сравнима с контролем, а масса надземной части примерно на 20 % ниже контрольного значения. Аналогичные результаты получены для проростков гороха. Предварительная обработка их пептидом в концентрациях 10^{-9} и 10^{-10} моль/л приводит к минимизации ингибирующего влияния ОС на морфометрические параметры. Так, масса надземной части проростков в данных вариантах опыта сравнима с контрольным значением, действие пептида на корневую систему проростков оказывается менее значимым и не является статистически достоверным, за исключением концентрации 10^{-9} моль/л. Таким образом, максимальный защитный эффект выявлен при обработке растений сои и гороха пептидом AtPep1 в концентрации 10^{-9} моль/л.

Скорость роста молодых растений первые 2 нед. зависит от запасов питательных веществ в семени, после чего во многом определяется мощностью развития фотосинтетического аппарата, так как растение полностью переходит на гетеротрофный тип питания. В связи с вышесказанным очевидно, что важным показателем роста и развития растений является площадь листьев. Результаты влияния пептида на площадь первых настоящих листьев 3-недельных проростков сои и гороха, подвергнутых ОС, представлены на рис. 2. Как свидетельствуют полученные данные, стрессовое воздействие оказывает значительный ингибирующий эффект на развитие листовой пластинки: у проростков сои площадь листьев уменьшается на 27 %, у проростков гороха – на 18 % по сравнению с контролем. Предстрессовая обработка растений пептидом обеспечивает защитное действие на исследованный параметр, максимальный эффект выявлен при обработке пептидом в концентрации 10^{-9} моль/л: в данном варианте опыта в условиях ОС площадь первых листьев обоих растений сравнима с контролем.

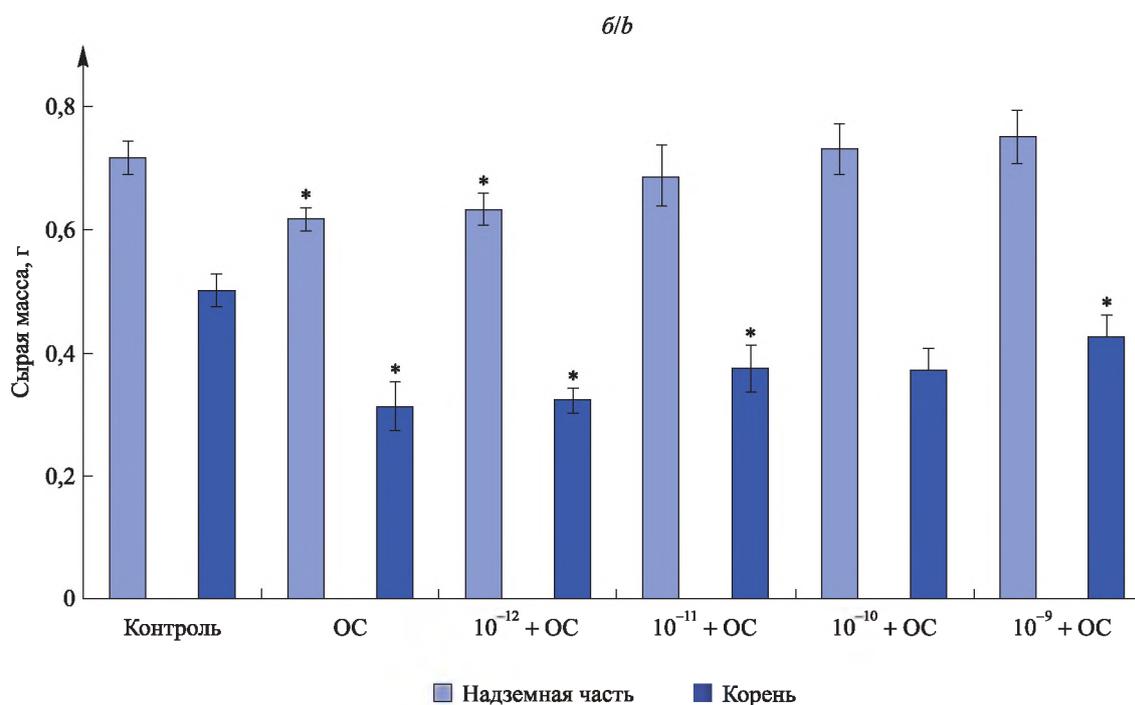
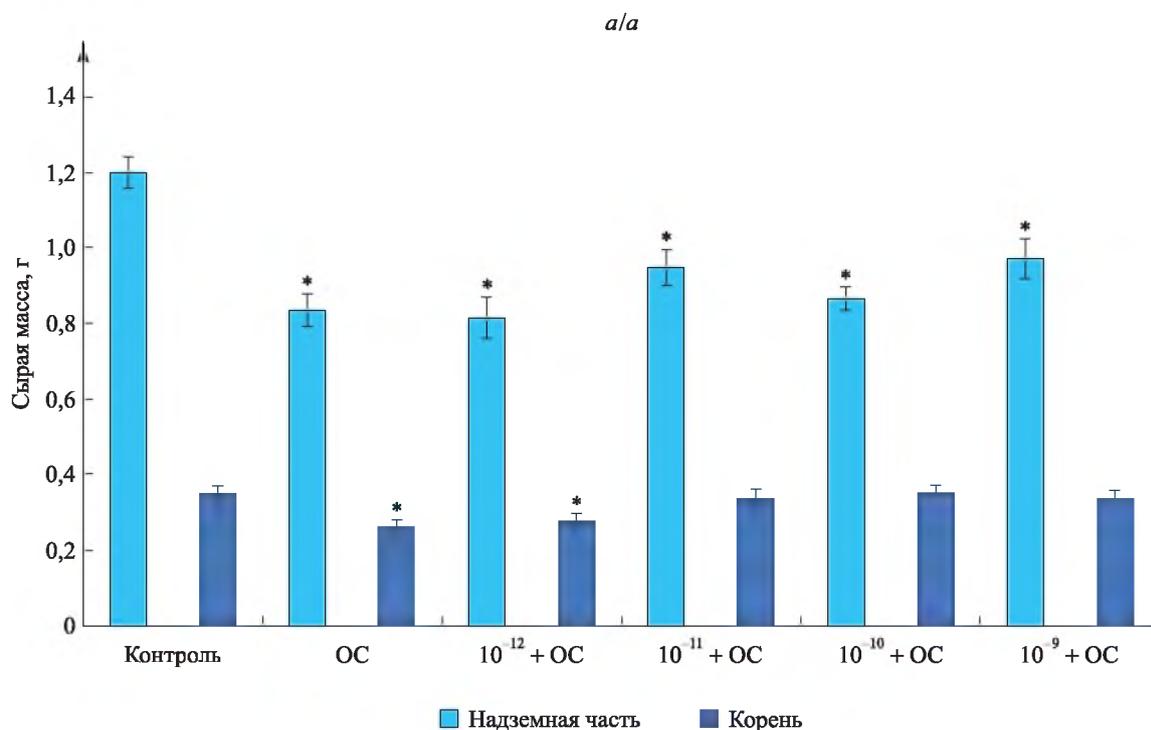


Рис. 1. Влияние AtPep1 на сырую массу надземной части и корней проростков сои (а) и гороха (б), подвергнутых ОС.

* – различия достоверны по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

Fig. 1. Effect of the AtPep1 on the wet weight of the aerial part and roots of soybean (a) and pea (b) seedlings under oxidative stress.

* – the differences are significant compared to the control at $p \leq 0.05$

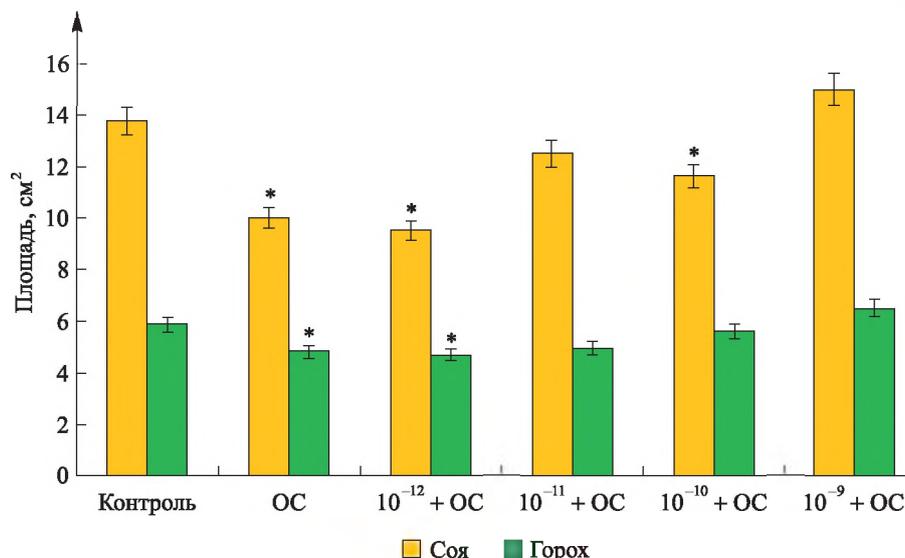


Рис. 2. Влияние AtPep1 на площадь листьев проростков сои и гороха, подвергнутых ОС.

* – различия достоверны по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

Fig. 2. Effect of the AtPep1 on the leaf area of soybean and pea seedlings under oxidative stress.

* – the differents are significant compared to the control at $p \leq 0.05$

На основании полученных результатов можно заключить, что обработка надземной части растений пептидом AtPep1 приводит к увеличению устойчивости проростков сои и гороха к действию ОС. Как известно, он развивается при неблагоприятных воздействиях как биотической, так и абиотической природы [8; 16; 17], поэтому повышение устойчивости растений к ОС может быть обусловлено индукцией ряда неспецифических защитных реакций, приводящих к активации фитоиммунитета. Для выявления возможных механизмов защитного действия пептидного элиситора AtPep1 было изучено его влияние на скорость окислительных процессов и активность антиоксидантных ферментов в листьях проростков гороха и сои в условиях ОС.

Стрессовый ответ растений включает ряд неспецифических реакций, среди которых одной из ключевых является активация ПОЛ [8]. Следовательно, изменение содержания первичных продуктов ПОЛ представляет собой удобный метод оценки активации окислительных процессов под действием неблагоприятных факторов. Было исследовано влияние предстрессовой (за 24 ч до действия ОС) обработки надземной части проростков пептидом AtPep1 в концентрации 10^{-9} моль/л, оказывающей максимальный защитный эффект на морфометрические характеристики, уровень первичных продуктов ПОЛ. Результаты измерений, представленные в таблице, свидетельствуют, что при ОС существенно увеличивается содержание оксодиеновых и триеновых конъюгатов. Через 24 ч действия ОС суммарный уровень продуктов ПОЛ в листьях сои возрастает на 34 %, а в листьях гороха – на 51 % по сравнению с контролем. Обработка надземной части растений пептидом AtPep1 также вызывает увеличение исследованного параметра, что может свидетельствовать об элиситорных свойствах данного соединения. Известно, что одним из механизмов сигналинга, индуцируемым пептидом AtPep1, является активация НАДФН-оксидазы, приводящая к повышению уровня супероксидных анион-радикалов и перекиси водорода [10], способных окислить липиды мембран.

Влияние AtPep1 на уровень продуктов ПОЛ (мкг/г сырого веса) в листьях проростков сои и гороха при действии ОС в течение 24 ч

Effect of the AtPep1 on the level of lipid peroxidation products ($\mu\text{g/g}$) in the leaves of soybean and pea seedlings under 24 h oxidative stress

| Вариант опыта | Триеновые конъюгаты | Оксодиеновые конъюгаты | Сумма продуктов ПОЛ | Изменение, % |
|---------------|---------------------|------------------------|---------------------|--------------|
| Соя | | | | |
| Контроль | 3,26 ± 0,31 | 5,42 ± 0,32 | 8,68 ± 0,59 | 100 |
| ОС | 3,87 ± 0,28 | 7,72 ± 0,45 | 11,59 ± 0,42 | 134 |



Окончание таблицы
Ending table

| Вариант опыта | Триеновые конъюгаты | Оксодиеновые конъюгаты | Сумма продуктов ПОЛ | Изменение, % |
|---------------|---------------------|------------------------|---------------------|--------------|
| AtPep1 | 3,50 ± 0,18 | 6,17 ± 0,29 | 9,67 ± 0,63 | 111 |
| AtPep1 + ОС | 3,27 ± 0,22 | 5,17 ± 0,36 | 8,53 ± 0,49 | 97 |
| Горох | | | | |
| Контроль | 2,82 ± 0,21 | 3,30 ± 0,27 | 6,12 ± 0,33 | 100 |
| ОС | 3,91 ± 0,18 | 5,32 ± 0,39 | 9,23 ± 0,56 | 151 |
| AtPep1 | 3,45 ± 0,37 | 5,22 ± 0,38 | 8,67 ± 0,41 | 141 |
| AtPep1 + ОС | 3,18 ± 0,28 | 3,69 ± 0,47 | 6,87 ± 0,47 | 123 |

Примечание. Полужирным шрифтом выделены данные, достоверно отличающиеся от контроля при уровне значимости $p \leq 0,05$.

При действии ОС на предварительно обработанные пептидом проростки происходит снижение скорости окислительных процессов в обоих видах растений: содержание первичных продуктов ПОЛ у обработанных проростков сои сравнимо с контролем, а у гороха на 23 % выше, чем у контрольных образцов, но значительно ниже, чем у необработанных растений.

Для детализации представлений о механизмах элиситорного действия AtPep1 было проанализировано изменение содержания АФК в листьях при экзогенной обработке растений данным пептидом. Установлено, что уже через 2 ч AtPep1 обеспечивает повышение уровня АФК в листьях гороха в 2,5–3,0 раза по сравнению с контролем (рис. 3, а). Увеличение времени воздействия пептида до 24 ч вызывает уменьшение данного показателя (он становится в 1,2 раза выше контроля), через 48 ч после обработки содержание АФК снижается до исходного уровня. Полученные результаты позволяют предположить, что обработка надземной части растений синтетическим пептидом AtPep1 приводит к запуску путей сигнальной трансдукции с участием АФК, что согласуется с литературными данными о механизмах сигналинга этого элиситора [10; 18]. Вероятно, последующее снижение уровня АФК вызвано активацией антиоксидантных ферментов.

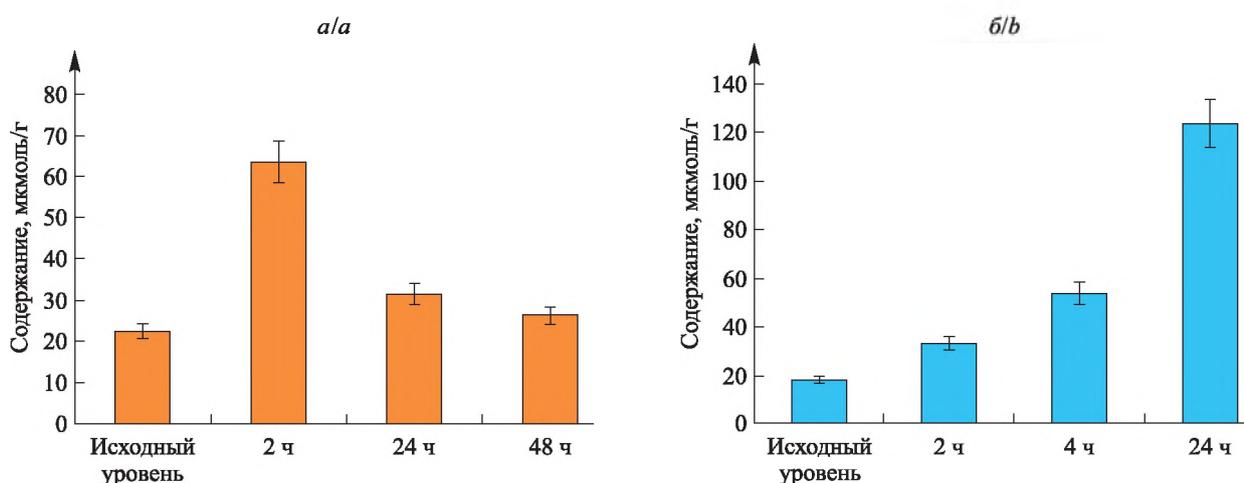


Рис. 3. Динамика уровня АФК в листьях проростков гороха при обработке пептидом AtPep1 (а) и действии ОС (б)

Fig. 3. Dynamics of the ROS level in the leaves of pea seedlings after treatment with the AtPep1 (a) and the action of oxidative stress (b)

Иная картина изменения содержания АФК наблюдается при действии ОС на проростки гороха. Как свидетельствуют полученные данные, представленные на рис. 3, б, ОС вызывает лавинообразный рост уровня АФК в течение 24 ч, когда он достигает максимума и превышает исходное значение примерно в 6,5 раза.

На рис. 4 представлены результаты исследования влияния предстрессовой обработки проростков гороха и сои пептидом AtPep1 на уровень АФК в листьях. Можно заметить, что в листьях гороха в условиях ОС



данный параметр увеличивается в 6 раз, при обработке пептидом – примерно в 1,3 раза по сравнению с контролем. При воздействии ОС на предварительно обработанные пептидом проростки гороха происходит незначительный рост уровня АФК в листьях (в 1,5 раза по сравнению с контролем). Данный показатель примерно в 3 раза ниже, чем в необработанных пептидом образцах. Аналогичная картина наблюдается и в проростках сои, однако количественные показатели сильно отличаются. При действии ОС уровень АФК в проростках сои увеличивается в 1,5 раза по сравнению с контролем, обработка пептидом не приводит к достоверно значимому изменению исследуемого параметра. Воздействие ОС на предварительно обработанные проростки сои вызывает рост содержания АФК примерно на 30 % по сравнению с контролем, что значительно ниже, чем у необработанных растений. Как было предположено ранее, снижение скорости окислительных процессов под действием пептида AtPep1 может быть связано с активацией антиоксидантных ферментов.

Для подтверждения данного предположения было изучено влияние пептида AtPep1 на активность пероксидазы и супероксиддисмутазы в листьях проростков гороха в условиях ОС. Как следует из полученных результатов, действие ОС в течение 24 ч приводит к незначительному увеличению активности пероксидазы и не оказывает достоверного влияния на активность супероксиддисмутазы (рис. 5). Обработка надземной части проростков пептидом AtPep1 вызывает повышение активности пероксидазы примерно в 2 раза. Еще более сильно изменяется активность супероксиддисмутазы: через 48 ч после обработки растений пептидом она увеличивается приблизительно в 4 раза по сравнению с контролем.

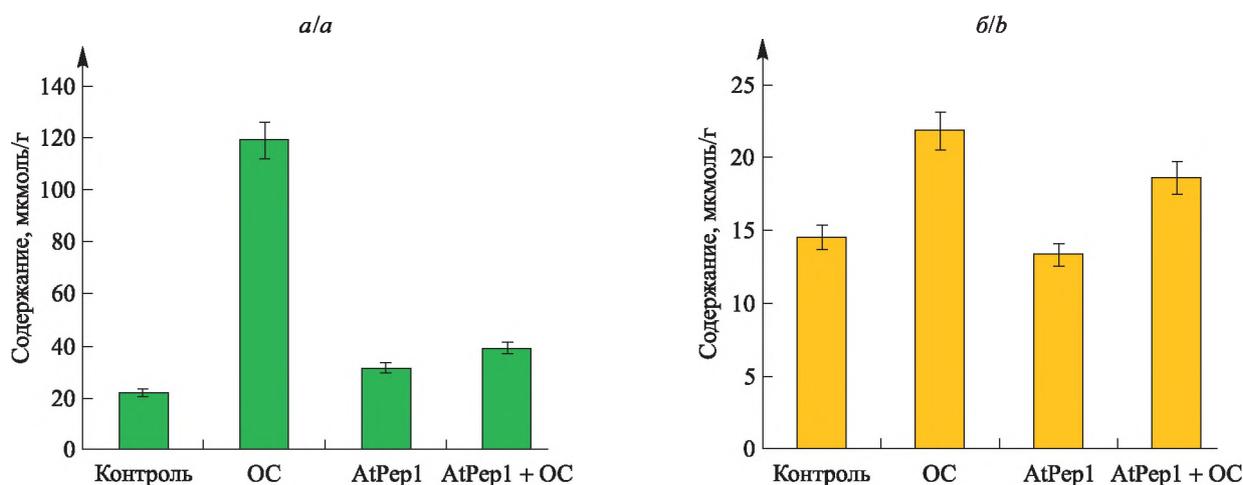


Рис. 4. Влияние AtPep1 на уровень АФК в листьях проростков гороха (а) и сои (б), подвергнутых ОС в течение 24 ч
Fig. 4. Effect of the AtPep1 on the ROS level in the leaves of pea (a) and soybean (b) seedlings exposed to oxidative stress for 24 h

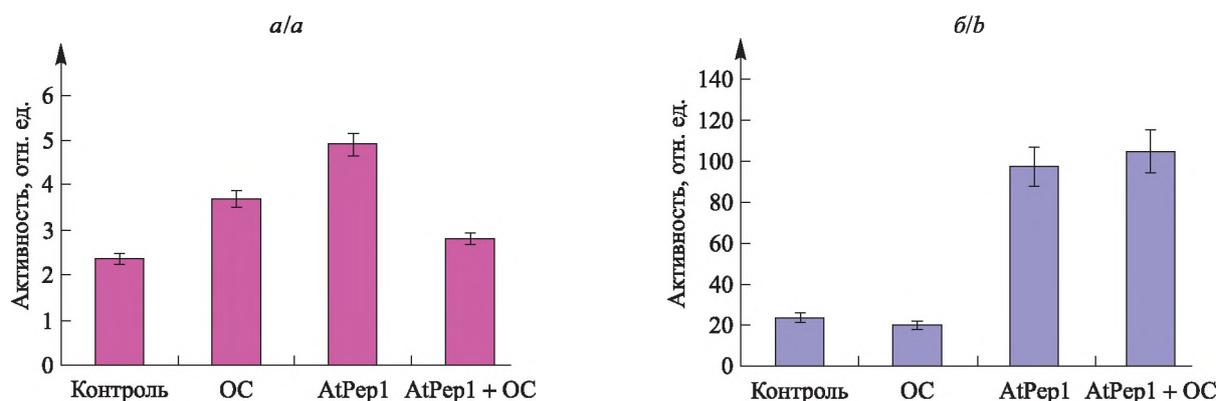


Рис. 5. Влияние AtPep1 на активность пероксидазы (а) и супероксиддисмутазы (б) в листьях проростков гороха, подвергнутых ОС в течение 24 ч
Fig. 5. Influence of the AtPep1 on the peroxidase (a) and superoxide dismutase (b) activity in the leaves of pea seedlings, exposed to oxidative stress for 24 h



Таким образом, в ходе проведенных исследований установлена прямая зависимость между изменением уровня АФК и содержанием продуктов ПОЛ в листьях проростков гороха, обработанных пептидом, а также обратная зависимость между содержанием продуктов ПОЛ и активностью антиоксидантных ферментов. Очевидно, рост активности антиоксидантных ферментов под действием пептида AtPep1 обуславливает выявленное авторами снижение уровня АФК и продуктов ПОЛ в листьях проростков гороха. На основании полученных результатов и литературных данных можно предположить, что в исследуемых растениях под действием пептида происходит индукция ряда путей сигнальной трансдукции, в том числе повышение уровня цитоплазматического кальция и активация НАДФН-оксидазы [10], функционирование которой приводит к повышению содержания АФК. Рост уровня АФК в клетках, с одной стороны, обуславливает увеличение скорости окислительных процессов и содержания продуктов ПОЛ, с другой стороны, вызывает запуск защитных систем, в частности активацию антиоксидантных ферментов пероксидазы и супероксиддисмутазы. Под действием этих ферментов происходит инактивация АФК и снижение скорости окислительных процессов в условиях стрессового воздействия.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что обработка надземной части проростков бобовых культур пептидом AtPep1 в концентрации 10^{-9} моль/л приводит к индукции сигнальных систем с участием АФК, активации антиоксидантных ферментов и, как следствие, снижению скорости окислительных процессов в растениях, подвергнутых ОС. Предполагаемая схема воздействия пептидного элиситора на физиолого-биохимические характеристики проростков сводится к следующим закономерностям: пептид AtPep1 воспринимается растением и вызывает запуск защитных систем и индукцию антистрессовых программ, что в конечном итоге обуславливает повышение устойчивости растений к стрессовым воздействиям не только биотической, но и абиотической природы.

Библиографические ссылки

1. Yamaguchi Y, Huffaker A. Endogenous peptide elicitors in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2011;14(4):351–357. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.05.001.
2. Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*. 2009;60:379–406. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105346.
3. Jones JDG, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*. 2006;444(7117):323–329. DOI: 10.1038/nature05286.
4. Albert M. Peptides as triggers of plant defence. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64(17):5269–5279. DOI: 10.1093/jxb/ert275.
5. Huffaker A, Ryan CA. Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response. *PNAS*. 2007;104(25):10732–10736. DOI: 10.1073/pnas.0703343104.
6. Lori M, van Verk MC, Hander T, Schatowitz H, Klausner D, Flury P, et al. Evolutionary divergence of the plant elicitor peptides (Peps) and their receptors: interfamily incompatibility of perception but compatibility of downstream signaling. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(17):5315–5325. DOI: 10.1093/jxb/erv236.
7. Филишцова ГГ. Роль эндогенных пептидных элиситоров в устойчивости растений к биотическим стрессам. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;2:3–12.
8. Чиркова ТВ. *Физиологические основы устойчивости растений*. Санкт-Петербург: Издательство Санкт-Петербургского университета; 2002. 244 с.
9. Bartels S, Boller T. Quo vadis, Pep? Plant elicitor peptides at the crossroads of immunity, stress, and development. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(17):5183–5193. DOI: 10.1093/jxb/erv180.
10. Yi Ma, Yichen Zhao, Walker RK, Berkowitz GA. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca^{2+} -dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca^{2+} signal. *Plant Physiology*. 2013;163(3):1459–1471. DOI: 10.1104/pp.113.226068.
11. Sokolov YA, Filiptsova HG, Lushchik AY, Yurin VM. Synthesis and analysis of the influence of some peptide elicitors on resistance of legumes to oxidative stress. In: Zhabinskii V, Khrpach V, Khrpach N, editors. *Chemistry, structure and functions of biomolecules. 6th International conference; 2018 May 22–25; Minsk, Belarus*. Minsk: Belaruskaja navuka; 2018. p. 172–174.
12. Паранич ЛИ, Паранич АВ, Василенко НМ, Бугай ЕВ. Действие нитробензола и его хлорпроизводных на некоторые показатели антиокислительного гомеостаза. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1993;116(10):402–405.
13. Dikalov SI, Harrison DG. Methods for detection of mitochondrial and cellular reactive oxygen species. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;20(2):372–382. DOI: 10.1089/ars.2012.4886.
14. Третьяков НН, редактор. *Практикум по физиологии растений*. 3-е издание. Москва: Агропромиздат; 1990. 271 с.
15. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutases. I. Occurrence of higher plants. *Plant Physiology*. 1977;59(2):309–314. DOI: 10.1104/pp.59.2.309.
16. Choudhury S, Panda P, Sahoo L, Panda SK. Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling & Behavior*. 2013;8(4):e23681. DOI: 10.4161/psb.23681.
17. Meyer A, Pühler A, Niehaus K. The lipopolysaccharides of the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* induce an oxidative burst reaction in cell cultures of *Nicotiana tabacum*. *Planta*. 2001;213(2):214–222. DOI: 10.1007/s004250000493.
18. Yi Ma, Walker RK, Yichen Zhao, Berkowitz GA. Linking ligand perception by PEPR pattern recognition receptors to cytosolic Ca^{2+} elevation and downstream immune signaling in plants. *PNAS*. 2012;109(48):19852–19857. DOI: 10.1073/pnas.1205448109.



References

1. Yamaguchi Y, Huffaker A. Endogenous peptide elicitors in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2011;14(4):351–357. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.05.001.
2. Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*. 2009;60:379–406. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105346.
3. Jones JDG, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*. 2006;444(7117):323–329. DOI: 10.1038/nature05286.
4. Albert M. Peptides as triggers of plant defence. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64(17):5269–5279. DOI: 10.1093/jxb/ert275.
5. Huffaker A, Ryan CA. Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response. *PNAS*. 2007;104(25):10732–10736. DOI: 10.1073/pnas.0703343104.
6. Lori M, van Verk MC, Hander T, Schatowitz H, Klauser D, Flury P, et al. Evolutionary divergence of the plant elicitor peptides (Peps) and their receptors: interfamily incompatibility of perception but compatibility of downstream signaling. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(17):5315–5325. DOI: 10.1093/jxb/erv236.
7. Filiptsova HG. The role of endogenous peptide elicitors in plant resistance to biotic stress. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;2:3–12. Russian.
8. Chirkova TV. *Fiziologicheskie osnovy ustoichivosti rastenii* [Physiological foundations of plant resistance]. Saint Petersburg: Izdatel'stvo Sankt-Peterburgskogo universiteta; 2002. 244 p. Russian.
9. Bartels S, Boller T. Quo vadis, Pep? Plant elicitor peptides at the crossroads of immunity, stress, and development. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(17):5183–5193. DOI: 10.1093/jxb/erv180.
10. Yi Ma, Yichen Zhao, Walker RK, Berkowitz GA. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca²⁺-dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca²⁺ signal. *Plant Physiology*. 2013;163(3):1459–1471. DOI: 10.1104/pp.113.226068.
11. Sokolov YA, Filiptsova HG, Lushchik AY, Yurin VM. Synthesis and analysis of the influence of some peptide elicitors on resistance of legumes to oxidative stress. In: Zhabinskii V, Khripach V, Khripach N, editors. *Chemistry, structure and functions of biomolecules. 6th International conference; 2018 May 22–25; Minsk, Belarus*. Minsk: Belaruskaja navuka; 2018. p. 172–174.
12. Paranich LI, Paranich AV, Vasilenko NM, Bugai EV. [The effect of nitrobenzene and its chlorine derivatives on some indicators of antioxidant homeostasis]. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 1993;116(10):402–405. Russian.
13. Dikalov SI, Harrison DG. Methods for detection of mitochondrial and cellular reactive oxygen species. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;20(2):372–382. DOI: 10.1089/ars.2012.4886.
14. Tret'yakov NN, editor. *Praktikum po fiziologii rastenii* [Workshop on plant physiology]. 3rd edition. Moscow: Agropromizdat; 1990. 271 p. Russian.
15. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutases. I. Occurrence of higher plants. *Plant Physiology*. 1977;59(2):309–314. DOI: 10.1104/pp.59.2.309.
16. Choudhury S, Panda P, Sahoo L, Panda SK. Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling & Behavior*. 2013;8(4):e23681. DOI: 10.4161/psb.23681.
17. Meyer A, Pühler A, Niehaus K. The lipopolysaccharides of the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* induce an oxidative burst reaction in cell cultures of *Nicotiana tabacum*. *Planta*. 2001;213(2):214–222. DOI: 10.1007/s004250000493.
18. Yi Ma, Walker RK, Yichen Zhao, Berkowitz GA. Linking ligand perception by PEPR pattern recognition receptors to cytosolic Ca²⁺ elevation and downstream immune signaling in plants. *PNAS*. 2012;109(48):19852–19857. DOI: 10.1073/pnas.1205448109.

Получена 28.04.2021 / исправлена 03.05.2021 / принята 23.06.2021.
Received 28.04.2021 / revised 03.05.2021 / accepted 23.06.2021.



ВЛИЯНИЕ СТЕРЕОТИПНЫХ ФОРМ АКТИВНОСТИ НА ПАРАМЕТРЫ ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ В СТАНДАРТНЫХ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ТЕСТАХ

К. П. АВИМОВА¹⁾, Д. Б. САНДАКОВ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

У лабораторных животных нередко формируется аномальное повторяющееся (стереотипное) поведение, которое может сказываться на физиологическом состоянии, а также искажать результаты поведенческих экспериментов. Стереотипное поведение и аномальный груминг, как правило, развиваются в субоптимальных условиях содержания и усиливаются со временем. Чтобы изучить возникновение стереотипных форм поведения у лабораторных мышей, дважды в течение 16 нед. анализировали их ночную активность и сопоставляли ее с поведением в стандартных поведенческих тестах «открытое поле», «норный тест», «подвешивание за хвост». Стереотипное поведение оказалось слабовыраженным, его общая продолжительность за 16 нед. снизилась с 8,2 до 1,0 %. Груминг, напротив, стал более длительным, увеличившись с 29,5 до 49,6 %. Ночной груминг коррелировал с латентным временем начала движения в тесте «открытое поле» и временем неподвижности в тесте «подвешивание за хвост». Выраженность и устойчивость стереотипного поведения и ночного груминга влияли на длительность груминга в тесте «открытое поле»: дольше остальных им занимались мыши с неустойчивым уровнем стереотипного поведения и мыши с низким уровнем ночного груминга. Кроме того, уровень ночного груминга влиял и на поведение мышей в тесте «подвешивание за хвост»: мыши с неустойчивым уровнем груминга были наиболее подвижны. Аномальная спонтанная активность может отражать неблагоприятное состояние подопытных животных, а оно, в свою очередь, может сказываться на поведении в тестовых условиях. Это необходимо учитывать при планировании экспериментов с животными.

Ключевые слова: груминг; спонтанное стереотипное поведение; лабораторные животные; открытое поле; норный тест; подвешивание за хвост; клеточное поведение.

Благодарность. Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук, доценту О. И. Губич за ценные замечания и поддержку, а также директору вивария БГУ С. М. Дронову за содействие в организации эксперимента.

Образец цитирования:

Авимова КП, Сандаков ДБ. Влияние стереотипных форм активности на параметры поведения мышей в стандартных поведенческих тестах. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:47–58. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-47-58>

For citation:

Avimova KP, Sandakov DB. The influence of the stereotypic forms of activity in mice behaviour in standard behavioural tests. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3: 47–58. Russian. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-47-58>

Авторы:

Ксения Петровна Авимова – студентка биологического факультета. Научный руководитель – Д. Б. Сандаков.
Дмитрий Борисович Сандаков – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Authors:

Kseniya P. Avimova, student at the faculty of biology. bio.avimova@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0001-8768-4537>
Dmitry B. Sandakov, PhD (biology), docent; associate professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology.
d.sandakov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1648-0275>





THE INFLUENCE OF THE STEREOTYPIC FORMS OF ACTIVITY IN MICE BEHAVIOUR IN STANDARD BEHAVIOURAL TESTS

K. P. AVIMOVA^a, D. B. SANDAKOV^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: K. P. Avimova (bio.avimova@bsu.by)

Laboratory animals often develop abnormal repetitive (stereotypic) behaviour that can influence both physiology and behavioural test results. Such abnormal behaviours usually develop in suboptimal environment and increase over time. To explore the development of stereotypic forms of activity night home-cage behaviour of laboratory mice was analysed and collated with the behaviour in open field (OFT), hole-board (HBT) and tail suspension (TST) tests twice within 16 weeks. Mice expressed few stereotypies and their duration lessened over time from median 8.2 to 1.0 %. In contrast, grooming behaviour increased significantly from 29.5 to 49.6 %. Home-cage grooming correlated with the latency of locomotion start in OFT and with the immobility time in TST. Intensity and stability of stereotypic activity and grooming influenced the duration of grooming in OFT: the mice with unstable stereotypies groomed more than others, and mice with the lowest home-cage grooming level also groomed in OFT the most. Intensity and stability of night grooming influenced the behaviour in TST: the mice with unstable level of grooming were the most mobile in this test. Abnormal home-cage activity may indicate impaired welfare, and that, in turn, may affect test activity, so researchers need to keep it in mind when planning animal behaviour experiments.

Keywords: grooming; spontaneous stereotypies; home-cage behaviour; tail suspension test; open field test; hole-board test; laboratory animals.

Acknowledgements. The authors thank to PhD (biology), docent O. I. Hubich for valuable comments and support, as well as to director of the vivarium of the Belarusian State University S. M. Dronov for the help for holding our experiment.

Введение

Стереотипное поведение (инвариантные, повторяющиеся, бесцельные и бессмысленные действия человека или животного [1]) является распространенным типом поведения у животных, используемых в биомедицинских исследованиях, и считается аномальным. К нему относят двигательные стереотипии (пробежки, рытье субстрата, глодание прутьев клетки) и груминг (хотя нейрофизиологические основы последнего несколько отличаются от таковых для локомоторных стереотипий и часто его выделяют как вид иного повторяющегося поведения [2]). По данным некоторых исследований, 50 % лабораторных мышей *Mus musculus* проявляют стереотипное поведение в стандартных условиях содержания [3, p. 88]. В отдельных линиях стереотипии развивали 98 % наблюдавшихся животных [4], что может быть обусловлено генетической предрасположенностью к такому поведению [3, p. 93–94; 5].

Чаще стереотипное поведение связывают с неоптимальными условиями содержания: тесными клетками (хотя это не всегда подтверждается опытами) [3, p. 103–104; 6–8], несоответствующей биологическим потребностям животных [9; 10] или бедной сенсорными стимулами средой [11], одиночным содержанием [3, p. 135; 12–14], в том числе в раннем периоде развития [6; 15]. Некоторые локомоторные стереотипии объясняют попытками выбраться из клетки [16], т. е. фрустрированной потребностью в исследовательском поведении (например, когда животные чувствуют запах конспецификов поблизости) [3, p. 98].

Стереотипное и иное аномальное повторяющееся поведение также связывают с аномальной физиологией (которая может быть и причиной, и следствием стереотипий), в том числе с изменениями метаболизма мозга, воспалительными реакциями [3, p. 215; 17–21], повышенной реактивностью при стимуляции [2], ростом общей двигательной активности, персеверациями и пр. [3, p. 133, 136–141, 209; 14]. Некоторые авторы полагают, что устойчивые стереотипии, сопровождающиеся аномальным метаболизмом мозга, в частности дофаминергической системы в базальных ядрах (см., например, [3, p. 130]), приводят к искажению результатов поведенческих тестов, так как животные неестественно активны, не могут сделать правильного выбора в соответствующих тестах и т. п. [13].

Аномальный груминг часто связывают с депрессией, а для этого состояния характерны меньшая подвижность, быстрый отказ от борьбы в аверсивных условиях [14; 22].

Исследователи аномального поведения животных полагают, что стереотипии могут влиять на прохождение поведенческих тестов и сказываться на итогах экспериментов. Работы в этой области, к сожалению, демонстрируют противоречивые результаты. Нередко их невозможно воспроизвести даже в рамках одной лаборатории.



Некоторые виды грызунов, например полосатые мыши рода *Rhabdomys*, вырабатывают стереотипии в раннем возрасте, и их выраженность не меняется со временем [23], хотя чаще стереотипии развиваются в полную силу только спустя какой-то период [3, p. 9].

В настоящем исследовании проверялось, изменяется ли у лабораторных мышей выраженность стереотипий и груминга при парном содержании в течение 16 нед. и коррелирует ли выраженность стереотипных форм поведения с активностью животных в трех стандартных тестах – «открытое поле», «норный тест», «подвешивание за хвост».

Материалы и методы исследования

Животные и условия содержания. Изначально в эксперименте участвовали 20 самцов беспородных лабораторных мышей, впоследствии 4 особи выбыли по разным причинам, и их данные не учитывались.

Все животные содержались попарно в пластиковых клетках размером 30 × 20 × 14 см, в качестве субстрата использовались древесные опилки. Смена субстрата – раз в неделю, не позднее чем за 5 сут до тестирования. Кормление – *ad libitum*, смена воды – раз в 3 дня, режим освещения естественный.

Общая схема эксперимента. Мышей рассадил по клеткам и через 1 нед. записали их ночную активность (в течение 2 ночей), спустя еще 1 нед. в помещении вивария провели поведенческие тесты «открытое поле», «норный тест» и «подвешивание за хвост» (по одному в день с 9:15 до 13:00). Через 16 нед. после рассадки по клеткам запись ночной активности и поведенческие тесты повторили в той же последовательности.

Регистрация спонтанного поведения. Для записи спонтанного поведения выбрали ночное время, так как грызуны, являясь преимущественно ноктуральными животными, наиболее активны в первые часы после наступления темноты и перед восходом как при фиксированном, так и при естественном режиме освещения [24–26]. В обеих регистрациях фиксировались первые 15 мин 2, 3, 4 и 5-го часов после захода солнца [27]. Время захода определялось по данным Белгидромета, эксперимент проводился в 2019 г.

В первой регистрации для записи использовалась камера GoPro Hero 3 (США). Освещение – тусклый красный свет от фотографического фонаря (мыши не чувствительны к такому свету, и он допускается для наблюдения и манипуляций с грызунами в темную фазу [28]). Во второй регистрации поведение записывалось с помощью камеры с инфракрасной подсветкой.

Для анализа типов активности применялся метод *one-zero sampling* с интервалом 15 с. Для стереотипного поведения были установлены следующие критерии: если оно связано с продолжительными действиями (груминг, глотание и т. п.), то в одном 15-секундном промежутке должно длиться 3 с и более, если же связано с законченными действиями (пробежки по кругу, верчение, сальто), то должно совершаться не менее 3 раз подряд с перерывом не более 3 с [27].

Выделялись и анализировались следующие виды поведения (в том числе стереотипного):

- неактивность – животное лежит неподвижно, изредка может вздрагивать или перемещаться, переворачиваться (но не дольше 5 с);
- активность – животное активно, однако это не стереотипная активность;
- пробежки – животное бежит по дну клетки по фиксированному маршруту;
- кружение – животное кружит по решетке, цепляясь за прутья всеми конечностями;
- лазанье – животное лазит по решетке по шаблону, фиксированному маршруту, цепляясь за прутья минимум двумя конечностями;
- глотание – животное стоит на задних конечностях, передними держится за прутья, которые пропускает между диастемой, может передвигаться вдоль прутьев и одновременно глотать их;
- груминг – животное умывает, вылизывает себя или вторую мышь в клетке;
- рытье – животное роет субстрат передними конечностями или носом.

По результатам наблюдений оценивались общая активность (отношение любой активности к общему времени наблюдений), стереотипная активность (отношение стереотипной активности всех типов ко времени общей активности), груминг (отношение груминга ко времени общей активности).

Открытое поле. Для теста использовалась установка размером 50 × 50 см с квадратами 10 × 10 см и высотой стенок 40 см (без крышки). Мыши помещались в ближний к камере угол поля. Продолжительность теста составляла 4 мин (так как требовалось проанализировать не только стрессовое поведение, которое, как считается, проходит через 2 мин теста, но и оценить активность животных в целом). Мышь, которая участвовала в тесте первой, по окончании процедуры возвращалась не в домашнюю клетку, а отсаживалась в новую, и только после того как тест проходила вторая мышь из той же клетки, обе мыши возвращались в домашнюю клетку. Перед началом тестирования установка протиралась чистой влажной салфеткой и вытиралась насухо, а после каждой мыши очищалась от экскрементов и снова дважды протиралась чистой влажной салфеткой и вытиралась насухо.



Анализировались горизонтальная двигательная активность, вертикальная двигательная активность, латентное время начала движения, количество посещенных периферических и внутренних секторов (квадратов) и их сумма как длина пройденного пути, стрессовое поведение (замирание без движения и латентное время начала движения), груминг. В случаях, когда мышь сидела на одном месте, но при этом двигала головой, приносивалась и вытягивалась, такое поведение оценивалось как горизонтальная двигательная активность (исследовательское поведение). Двигательная активность вычислялась как сумма горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

Норный тест. Использовалось стандартное 16-луночное пластиковое поле размером 50×50 см (диаметр лунок – 3 см), установленное на высоте приблизительно 1 м. Мышь сажалась в центр поля, длительность теста составляла 3 мин. По окончании процедуры животное временно отсаживалось в новую клетку, после того как тест проходила вторая мышь из той же клетки, обе мыши возвращались в домашнюю клетку. Перед первым и после каждого животного установка очищалась аналогично тому, как это делалось в предыдущем тесте.

При анализе фиксировались количество заглядываний в лунки, количество повторных заглядываний и число непосещенных лунок.

Подвешивание за хвост. Для этого теста мыши прикреплялись лейкопластырем за хвост к краю стола головой вниз. Длительность теста составляла 6 мин, после чего животное отсаживалось в пустую клетку. В домашнюю клетку мыши возвращались, когда тест проходила вторая мышь из той же клетки. При анализе фиксировались латентный период первой неподвижности, суммарное время неподвижности, количество эпизодов неподвижности испытуемого животного.

Статистическая проверка гипотез. При статистической проверке гипотез выполняли следующее.

1. Вариационные ряды проверяли на нормальность распределения признаков (тест Шапиро – Уилка, утилита среды $R - shapiro.test^1$).

2. Повторные измерения проводили с использованием критерия Вилкоксона для зависимых выборок (для всех типов распределения), сравнение более чем двух групп между собой – с применением ANOVA или критерия Краскела – Уоллиса (в зависимости от типа распределения) с поправками на множественные сравнения, для установления корреляции пользовались коэффициентом ранговой корреляции Спирмена (независимо от типа распределения) с поправкой Холма на множественную проверку гипотез (утилита среды $R - wilcox.test^2$, aov^3 , $kruskalmc$ (пакет $pgirmess$)⁴, $corr.test$ (пакет $psych$)⁵, $corrplot$ ⁶).

3. Визуальное представление распределения значений в группах и приблизительное сравнение разницы между ними осуществляли путем построения ящичковых диаграмм Тьюки с насечками, показывающих медианы, интерквартильные размахи, минимальные и максимальные значения, предполагаемые выбросы и 95 % доверительные интервалы медиан; если доверительные интервалы не перекрываются, то с 95 % вероятностью они различаются (это не формальный тест, а способ графического представления) [29, р. 60–63].

4. Построение диаграмм рассеяния и линии регрессии выполняли с помощью функции подгонки регрессионных моделей lm среды R .

Вычисления и построения диаграмм проводились в табличном процессоре *LibreOffice Calc 7.1* и среде $R 4.0.4$.

Результаты и их обсуждение

Структура ночной активности. Структура стереотипной и иной активности в обеих сериях представлена на рис. 1. У основной массы животных большую часть времени занимала нестереотипная активность, на втором месте по продолжительности – груминг. Самый часто встречающийся вид стереотипной активности – глотание, за ним – рытье. Некоторые виды активности проявлялись крайне мало

¹Shapiro – Wilk normality test [Electronic resource]. URL: <https://search.r-project.org/R/refmans/stats/html/shapiro.test.html> (date of access: 27.04.2021).

²Wilcoxon rank sum and signed rank tests [Electronic resource]. URL: <https://search.r-project.org/R/refmans/stats/html/wilcox.test.html> (date of access: 27.04.2021).

³Fit an analysis of variance model [Electronic resource]. URL: <https://search.r-project.org/R/refmans/stats/html/aov.html> (date of access: 27.04.2021).

⁴Giraudoux P. Pgirmiss & pgirbric. Miscellaneous functions for data handling and analysis in ecology [Electronic resource]. URL: <https://giraudoux.pagesperso-orange.fr/> (date of access: 27.04.2021); Pgirmiss: spatial analysis and data mining for field ecologists [Electronic resource]. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/pgirmiss/index.html> (date of access: 27.04.2021).

⁵Find the correlations, sample sizes, and probability values between elements of a matrix or data.frame [Electronic resource]. URL: <https://search.r-project.org/CRAN/refmans/psych/html/corr.test.html> (date of access: 27.04.2021).

⁶Corrplot: visualization of a correlation matrix [Electronic resource]. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/corrplot/index.html> (date of access: 04.05.2021).



(лазанье) или не наблюдались вовсе (кружение). Не все животные в принципе проявляли стереотипную активность (за исключением груминга, но он не всегда бывает именно стереотипным). Также можно заметить, что 3 мыши со временем стали осуществлять меньше груминга, остальные – больше.

У значительной части животных груминг стал занимать большую долю в структуре ночной активности, но в стереотипном поведении не прослеживается общей тенденции.

Результат сравнения того, насколько изменились разные виды активности при первой и второй регистрациях, представлен на рис. 2.

Можно отметить тенденцию к снижению общей спонтанной активности (с 0,508 до 0,484 (медианное значение); парный тест Вилкоксона, $p > 0,05$) и стереотипной активности (с 0,082 до 0,010; парный тест Вилкоксона, $p > 0,05$). Доля груминга значимо увеличилась (с 0,296 до 0,497; парный тест Вилкоксона, $p > 0,01$).

Корреляции между спонтанной ночной активностью и результатами поведенческих тестов.

На данном этапе исследования проверялось, есть ли корреляции между спонтанной активностью и поведением мышей в тестах.

В первую очередь выполнялся корреляционный анализ между усредненными параметрами ночной активности и результатами поведенческих тестов (рис. 3). Было установлено, что уровень ночного груминга имеет отрицательную корреляцию ($r_s = -0,53$; $p < 0,05$) с латентным временем начала движения в тесте «открытое поле».

Как известно, латентное время начала движения – один из показателей стрессового поведения мышей. В нашем случае связь не очень тесная и имеет обратную направленность: мыши, которые больше занимались грумингом ночью, быстрее начинали двигаться в открытом поле, т. е. проявляли меньшую стресс-реактивность.

Раздельный корреляционный анализ результатов после 1-й и 16-й недель парного содержания животных выявил четкую положительную корреляцию между продолжительностью ночного груминга и суммарным временем неподвижности в тесте «подвешивание за хвост» после 1-й недели содержания ($r_s = 0,78$; $p < 0,01$).

Это может быть свидетельством того, что спонтанный груминг по меньшей мере частично обусловлен хроническим стрессом, который приводит к развитию депрессии.

Для более углубленного анализа взаимосвязи между спонтанным поведением и результатами поведенческих тестов мышей разделили на группы по критерию устойчивости стереотипной активности и груминга, взяв за основу их медианные значения после 1 нед. парного содержания.

По уровню стереотипий выделили три группы – А, В и С. Так, в группу А вошли мыши, чье стереотипное поведение не превышало 8,2 % и увеличилось не более чем наполовину от исходного уровня. Группу В составили мыши с неустойчивым стереотипным поведением, уровень которого, независимо от исходного, изменился более чем наполовину в любую сторону. В группу С включили мышей с уровнем стереотипий, превышавшим 8,2 % и снизившимся не более чем наполовину по отношению к исходному уровню.

Мыши группы В (с неустойчивыми стереотипиями) достоверно дольше малостереотипных мышей группы А занимались грумингом в открытом поле (критерий Краскела – Уоллиса с поправкой на множественные сравнения, $p < 0,05$). Так как груминг в первые минуты теста – показатель стресса, можно предположить, что спонтанные стереотипии в некоторой степени отражают стресс-реактивность, которая, в свою очередь, проявляется в условиях новизны.

По уровню груминга также выделили три группы – D, E и F. Так, в группу D вошли животные, уровень груминга которых не превышал 29,5 % и увеличился не более чем наполовину от исходного уровня. В группу E включили мышей, чей уровень груминга, независимо от исходного, изменился более чем наполовину в любую сторону. Группу F составили мыши, уровень груминга которых превышал 29,5 % и уменьшился не более чем наполовину.

Мыши с низким уровнем ночного груминга (группа D) достоверно больше остальных занимались грумингом в тесте «открытое поле» (критерий Краскела – Уоллиса с поправкой на множественные сравнения, $p < 0,05$). Это можно объяснить тем, что мыши группы D проявляли заметно больше стереотипного поведения, чем мыши группы E. Таким образом, вполне возможно, что на груминг в открытом поле больше влияет именно стереотипное поведение, а не ночной груминг.

В тесте «подвешивание за хвост» мыши с неустойчивым грумингом (группа E) двигались дольше остальных (наименьшее время неподвижности), также у них было меньшее количество эпизодов неподвижности, т. е. они реже останавливались (критерий Краскела – Уоллиса с поправкой на множественные сравнения, $p < 0,05$).

За 3 мес. стереотипное поведение уменьшилось у 11 из 16 мышей (рис. 4), а груминг, напротив, усилился у 13 из 16 мышей (рис. 5).

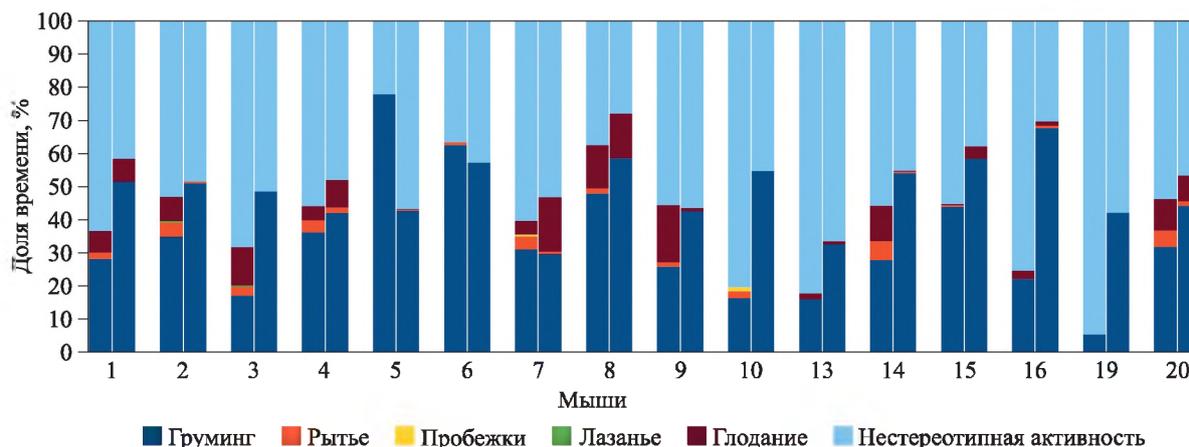


Рис. 1. Структура ночной активности мышей:
левый столбец – через 1 нед. после рассадки по парам,
правый столбец – через 16 нед. после рассадки по парам

Fig. 1. Night activity structure of mice:
the left column – 1 week after placement in pairs,
the right column – 16 weeks after placement in pairs

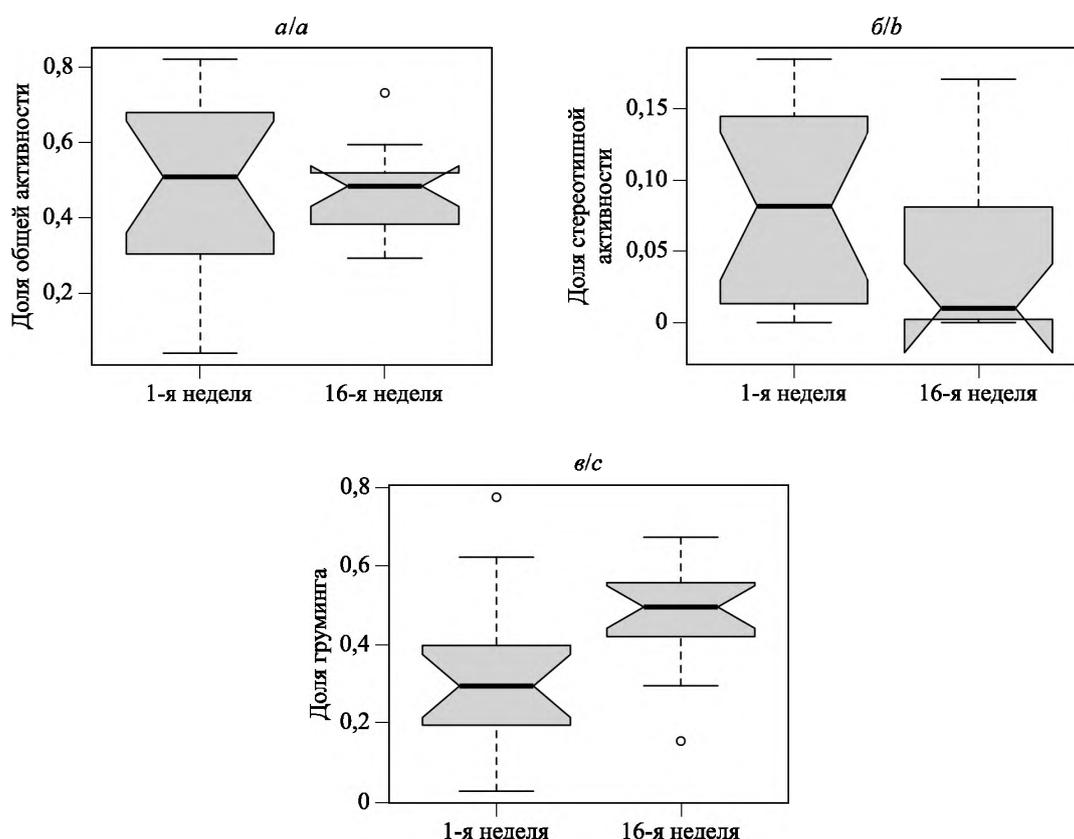


Рис. 2. Изменения ночной активности мышей в течение 16 нед. парного содержания в клетках.
Горизонтальные черные полосы – медианы, серые ящики – интерквартильная ширина (ИШ),
скошенные боковины (насечки) – 95 % доверительные интервалы медиан,
усы – размах значений от 1-го квантиля $-1,5ИШ$ до 3-го квантиля $+1,5ИШ$,
кружки – предполагаемые выбросы

Fig. 2. Changes in night activity of mice within 16 weeks of placement in pairs.
Black horizontal lines – median, grey boxes – interquartile range (IQR),
notches – 95 % confidence intervals of medians, whiskers – the range
from 1st quantile $-1.5IQR$ to 3rd quantile $+1.5IQR$, points – possible outliers

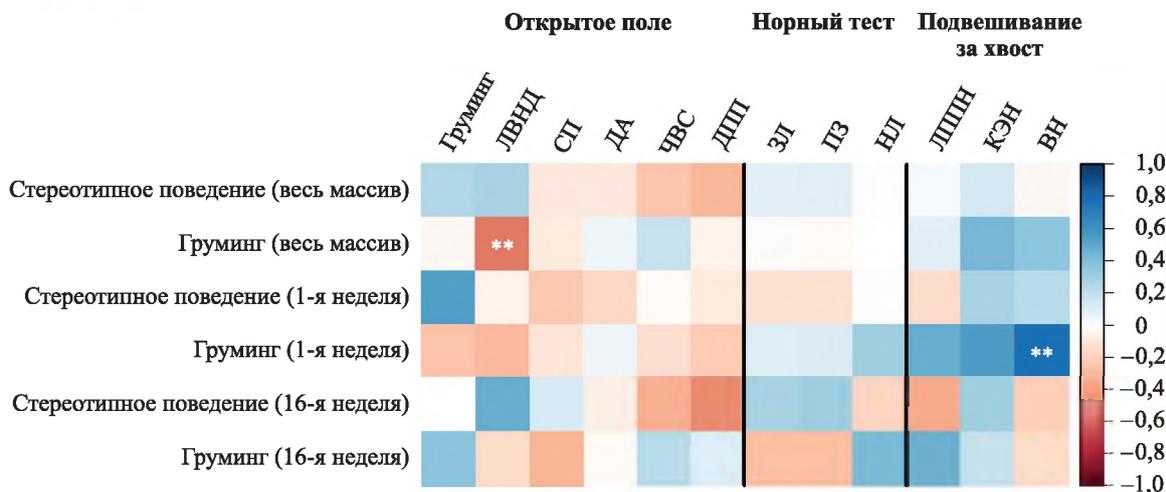


Рис. 3. Корреляции между ночной и тестовой активностью:

** – $p < 0,05$ (коэффициент корреляции Спирмена с поправкой Холма на множественные проверки гипотез).

Метрики открытого поля: ЛВНД – латентное время начала движения, СП – стрессовое поведение,

ДА – двигательная активность, ЧВС – число внутренних секторов (квадратов),

ДПП – длина пройденного пути. Метрики норного теста: ЗЛ – заглядывания в лунки,

ПЗ – повторные заглядывания, НЛ – непосещенные лунки.

Метрики подвешивания за хвост: ЛППН – латентный период первой неподвижности,

КЭН – количество эпизодов неподвижности, ВН – суммарное время неподвижности

Fig. 3. Correlations between night and test activity:

** – $p < 0.05$ (Spearman's rank coefficient with Holm's adjustment for multiple hypothesis testing).

Open field test metrics: LVND – latency before starting locomotion, SP – stress behaviour,

DA – locomotor activity, ChVS – quantity of passed inner quadrants, DPP – quantity of all passed quadrants.

Hole-board test metrics: ZL – all head-dippings in holes, PZ – repeated head-dippings, NL – ignored holes.

Tail-suspension test metrics: LPPN – latency of first immobility time,

KEN – quantity of immobility episodes, VN – total time of immobility

Изменения параметров поведения в тестах при длительном содержании. Также было проверено, как менялись параметры поведенческих тестов во времени (рис. 6). Латентное время начала движения в открытом поле уменьшилось с 3,5 до 0,5 с (парный тест Вилкоксона, $p < 0,01$). Число непосещенных лунок в норном тесте снизилось с 5,5 до 3,0 (парный тест Вилкоксона, $p < 0,05$). Количество эпизодов неподвижности в подвешивании за хвост увеличилось с 9,0 до 10,5 (парный тест Вилкоксона, $p < 0,01$).

Обсуждение результатов. Спустя 1 нед. парного содержания в клетках мыши были активны 51 % от всего времени наблюдений, а спустя 16 нед. – 48 %, что гораздо меньше приведенных в литературе величин. Поведение записывалось в темное время суток, когда грызуны наиболее активны (именно в первые часы после наступления темноты). И тем не менее подопытные животные почти половину времени в среднем были неактивны, что противоречит литературным данным [25; 30].

Как видно из рис. 1 и 2, значительную долю активности составляет нестереотипная активность (пробежки по клетке, питье, прием пищи, агонистические взаимодействия, садки и др.), т. е. нормальное поведение животных. На втором месте по продолжительности – груминг, который рассматривается и как нормальное (комфортное), и как аномальное поведение, связанное с действием стрессоров. Доля груминга в нашем эксперименте вполне согласуется с литературными данными о проявлении такого поведения у млекопитающих (20–40 % от суточной активности) [14, р. 20]. Увеличение доли груминга может свидетельствовать и о неблагополучии подопытных животных, так как мы обнаружили, во-первых, корреляции между грумингом и временем неподвижности в тесте на депрессию, а во-вторых, значимый рост количества эпизодов неподвижности в нем. Все это позволяет предположить, что по крайней мере часть случаев груминга являются аномальными и относятся к стереотипной активности.

Как отмечалось выше, груминг может быть проявлением комфортного поведения, когда он используется для очистки тела от загрязнений и паразитов, или же проявлением стрессового поведения, в том числе смещенного [14, р. 20, 48]. Также выделяют патологический груминг, связанный с состояниями, похожими на депрессию, однако в нашем случае нельзя достоверно судить о том, является ли груминг патологическим (для него, в частности, характерны направленность на определенную часть тела и плохое состояние шерсти и кожи в этих местах, например залысины, повреждения).

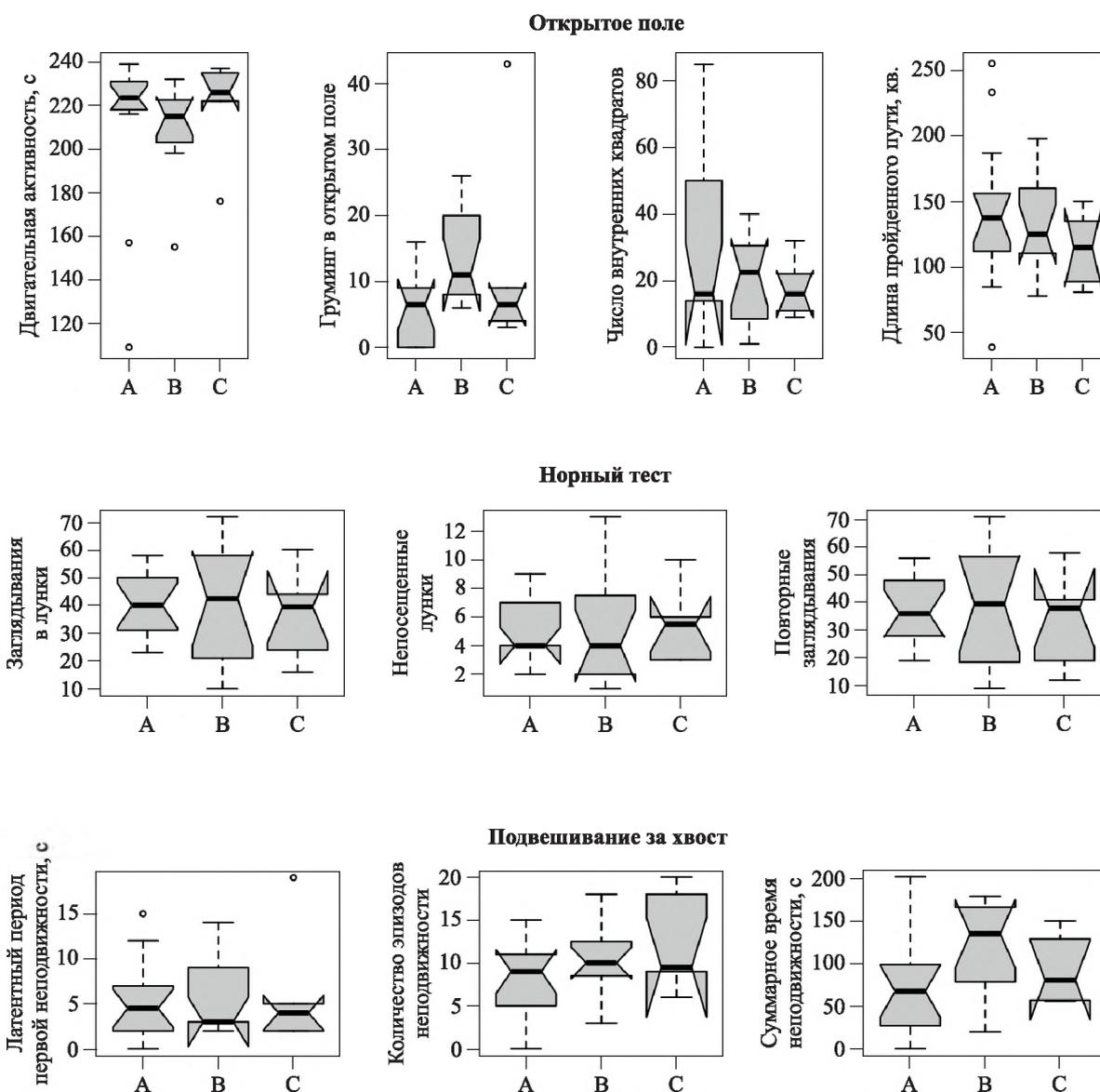
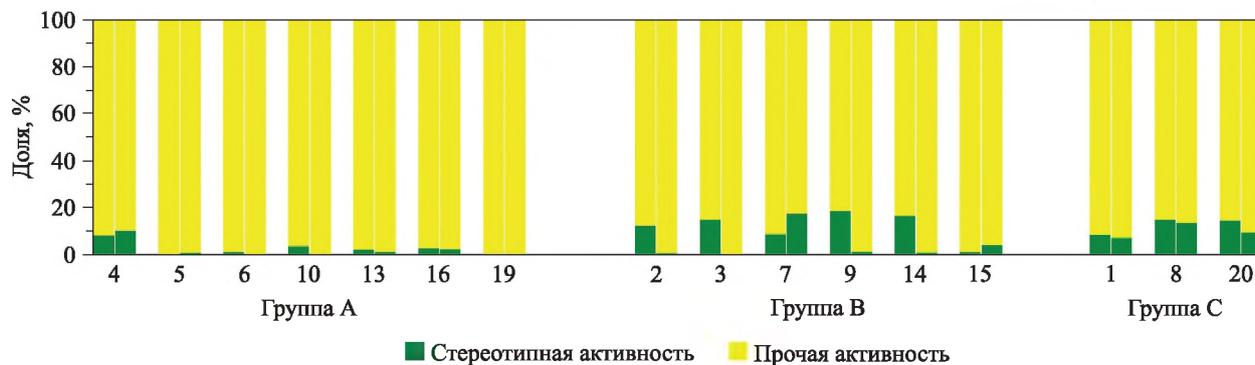


Рис. 4. Поведение мышей с разным уровнем спонтанной стереотипной активности в стандартных поведенческих тестах (см. пояснения к рис. 2)

Fig. 4. Behaviour of mice with different levels of spontaneous stereotypic activity in standard behavioural tests (see explanations to fig. 2)

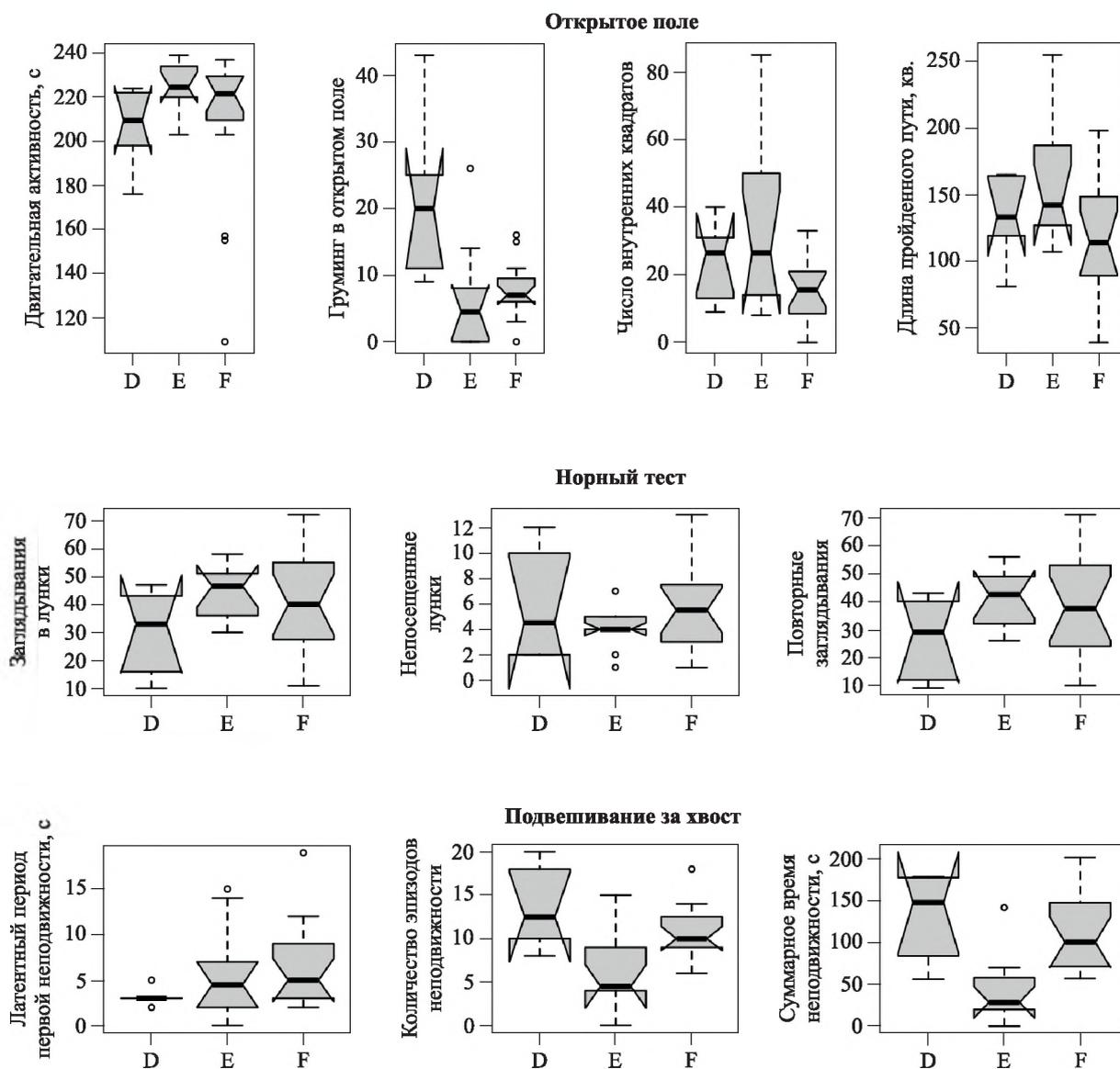
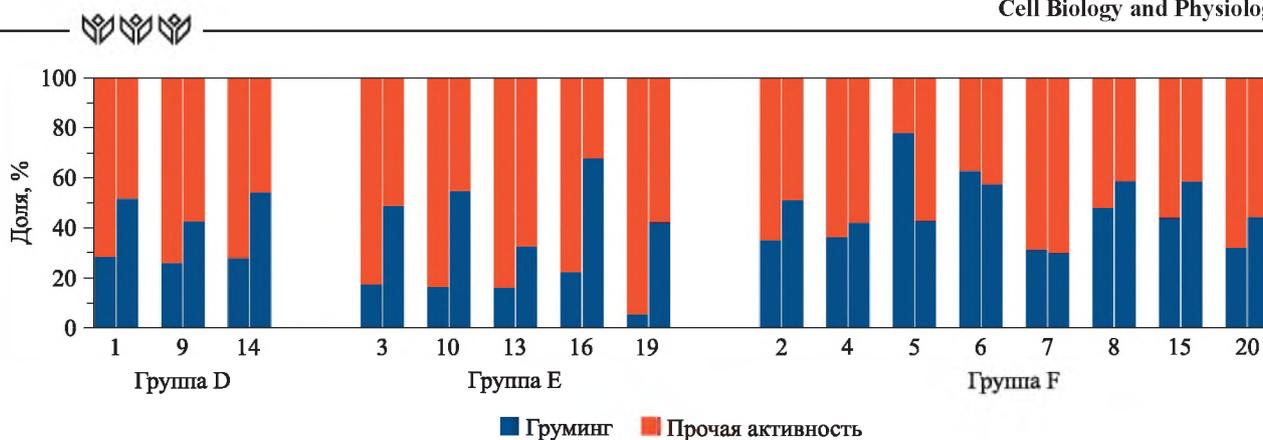


Рис. 5. Поведение мышей с разным уровнем спонтанного груминга в стандартных поведенческих тестах (см. пояснения к рис. 2)

Fig. 5. Behaviour of mice with different levels of spontaneous grooming in standard behavioural tests (see explanations to fig. 2)

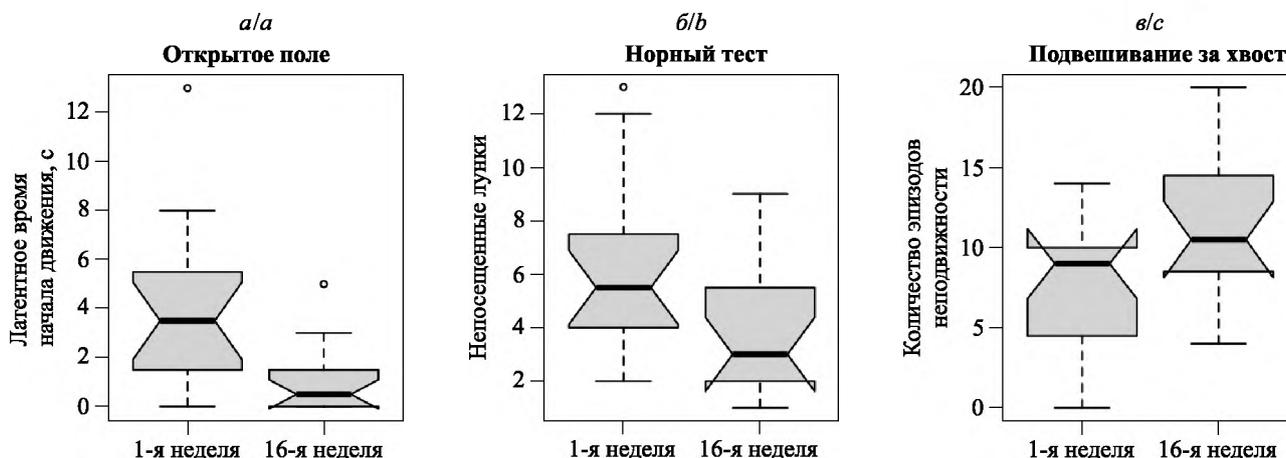


Рис. 6. Изменения поведения мышей с 1-й по 16-ю неделю содержания (см. пояснения к рис. 2)

Fig. 6. Changes in mice behaviour from 1st to 16th week of the experiment (see explanations to fig. 2)

Косвенными признаками депрессии могут служить ангедония, аутоагрессия, агрессия и сниженная подвижность [22]. Мы не анализировали первые три признака, но, как сказано ранее, в настоящем исследовании животные оказались менее подвижными, чем в экспериментах других авторов.

Доля стереотипной активности спустя 1 и 16 нед. парного содержания составляла 8,2 и 1,0 % соответственно. При этом какие-то животные стали проявлять больше стереотипного поведения, какие-то – меньше. В целом доля стереотипий заметно ниже по сравнению с данными других авторов, и такая динамика нетипична для мышей: считается, что со временем стереотипное поведение становится более продолжительным. На уровень стереотипий может влиять принадлежность к разным линиям (существуют высокостереотипные линии [31; 32]). Кроме того, известно, что животные одной линии, но от разных поставщиков также могут различаться по своему поведению, это снижает воспроизводимость результатов экспериментов [33].

Сами виды стереотипного поведения, как правило, зависят от возможности проявлять их. Так, самая распространенная стереотипия в нашем эксперименте – глотание прутьев клетки. Лазанье, сальто и другие виды не развились, вероятно, из-за недостатка вертикального пространства.

Чаще всего развитие стереотипий происходит постепенно и выраженность их усиливается со временем, однако в некоторых случаях грызуны (например, оленьи хомячки и мыши рода *Rhabdomys*) могут вырабатывать стереотипии в первые недели жизни, а дальше уровень этого поведения сохраняется [34].

Иногда уровень стереотипий понижается, а не повышается с течением времени. Это бывает связано с обогащением условий среды: животные получают возможность проявлять нормальную активность, которая замещает собой стереотипную [35], но это не наш случай. В настоящем исследовании снижение стереотипной активности может быть вызвано, например, депрессией или подобным ей состоянием, которое выражается в снижении подвижности в целом и отказе животного от борьбы со стрессом (если считать, что стереотипии являются частью копинг-стратегии) [3, p. 344].

Заключение

Стереотипные виды активности отмечаются у мышей начиная с 1-й недели парного содержания в клетках. Доля стереотипной активности в общем паттерне спонтанного ночного поведения составляет 8,2 %, доля груминга – 29,5 %. Стереотипная активность не является стабильной: у большинства мышей (11 из 16) она снизилась в течение 3 мес. парного содержания. При этом продолжительность груминга за аналогичный период повысилась у 13 из 16 животных.

Продолжительность груминга имеет четкую положительную корреляцию с количеством эпизодов неподвижности и временем неподвижности в тесте «подвешивание за хвост», а продолжительность стереотипной активности – со временем груминга в тесте «открытое поле».

Животные, содержащиеся в одних и тех же условиях, но имеющие различную продолжительность ночного груминга и стереотипной активности, демонстрируют разные показатели поведения в тестах «открытое поле» и «подвешивание за хвост».

Длительность содержания животных в клетках может оказать существенное влияние на поведение животных в тестах «открытое поле» и «подвешивание за хвост».



Библиографические ссылки / References

1. Mason GJ. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour*. 1991;41(6):1015–1037. DOI: 10.1016/S0003-3472(05)80640-2.
2. Muehlmann AM, Lewis MH. Abnormal repetitive behaviours: shared phenomenology and pathophysiology. *Journal of Intellectual Disability Research*. 2012;56(5):427–440. DOI: 10.1111/j.1365-2788.2011.01519.x.
3. Mason G, Rushen J, editors. *Stereotypic animal behaviour: fundamentals and applications to welfare*. 2nd edition. Wallingford: CABI; 2008. 367 p.
4. Mason GJ, Latham NR. Can't stop, won't stop: is stereotypy a reliable animal welfare indicator? *Animal Welfare*. 2004;13(supplement 1):57–69.
5. Langen M, Kas MJH, Staal WG, van Engeland H, Durston S. The neurobiology of repetitive behavior: of mice... *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2011;35(3):345–355. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2010.02.004.
6. Jones MA, Mason G, Pillay N. Early social experience influences the development of stereotypic behaviour in captive-born striped mice *Rhabdomys*. *Applied Animal Behaviour Science*. 2010;123(1–2):70–75. DOI: 10.1016/j.applanim.2009.12.009.
7. Girbovan C, Plamondon H. Environmental enrichment in female rodents: considerations in the effects on behavior and biochemical markers. *Behavioural Brain Research*. 2013;253:178–190. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.07.018.
8. Bayne K, Würbel H. The impact of environmental enrichment on the outcome variability and scientific validity of laboratory animal studies. *OIE Revue Scientifique et Technique*. 2014;33(1):273–280.
9. Baumans V. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. *ILAR Journal*. 2005;46(2):162–170. DOI: 10.1093/ilar.46.2.162.
10. Krohn TC, Ritskes-Hoitinga J, Svendsen P. The effects of feeding and housing on the behaviour of the laboratory rabbit. *Laboratory Animals*. 1999;33(2):101–107. DOI: 10.1258/002367799780578327.
11. Wemelsfelder F. Animal boredom: is a scientific study of the subjective experiences of animals possible? In: Fox MW, Mickleley LD, editors. *Advances in animal welfare science 1984*. Dordrecht: Springer; 1985. p. 115–154 (Advances in animal welfare science; volume 1). DOI: 10.1007/978-94-009-4998-0_8.
12. Balcombe JP. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Laboratory Animals*. 2006;40(3):217–235. DOI: 10.1258/00236770677611488.
13. Garner JP. Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *ILAR Journal*. 2005;46(2):106–117. DOI: 10.1093/ilar.46.2.106.
14. Kalueff AV, La Porte JL, Bergner CL, editors. *Neurobiology of grooming behavior*. Cambridge: Cambridge University Press; 2010. 280 p. DOI: 10.1017/CBO9780511676109.
15. Jeppesen LL, Heller KE, Dalsgaard T. Effects of early weaning and housing conditions on the development of stereotypies in farmed mink. *Applied Animal Behaviour Science*. 2000;68(1):85–92. DOI: 10.1016/s0168-1591(00)00099-x.
16. Garner JP, Mason GJ. Evidence for a relationship between cage stereotypies and behavioural disinhibition in laboratory rodents. *Behavioural Brain Research*. 2002;136(1):83–92. DOI: 10.1016/s0166-4328(02)00111-0.
17. Lewis MH, Tanimura Y, Lee LW, Bodfish JW. Animal models of restricted repetitive behavior in autism. *Behavioural Brain Research*. 2007;176(1):66–74. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.08.023.
18. Andersen JK. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nature Medicine*. 2004;10(supplement):S18–S25. DOI: 10.1038/nrn1434.
19. Garner JP, Thogerson CM, Dufour BD, Würbel H, Murray JD, Mench JA. Reverse-translational biomarker validation of abnormal repetitive behaviors in mice: an illustration of the 4P's modeling approach *Behavioural Brain Research*. 2011;219(2):189–196. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.01.002.
20. Erbaş O, Taşkıran D. Sepsis-induced changes in behavioral stereotypy in rats; involvement of tumor necrosis factor-alpha, oxidative stress, and dopamine turnover. *Journal of Surgical Research*. 2014;186(1):262–268. DOI: 10.1016/j.jss.2013.08.001.
21. Erbaş O, Akseki HS, Aktuğ H, Taşkıran D. Low-grade chronic inflammation induces behavioral stereotypy in rats. *Metabolic Brain Disease*. 2015;30(3):739–746. DOI: 10.1007/s11011-014-9630-4.
22. Smolinsky AN, Bergner CL, La Porte JL, Kalueff AV. Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression. In: Gould TD, editor. *Mood and anxiety related phenotypes in mice*. Totowa: Humana Press; 2009. p. 21–36 (Neuromethods; volume 42). DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9_2.
23. Jones M, van Lierop M, Pillay N. All a mother's fault? Transmission of stereotypy in striped mice *Rhabdomys*. *Applied Animal Behaviour Science*. 2008;115(1–2):82–89. DOI: 10.1016/j.applanim.2008.05.007.
24. Pietrewicz AT, Hoff MP, Higgins SA. Activity rhythms in the Mongolian gerbil under natural light conditions. *Physiology & Behavior*. 1982;29(2):377–380. DOI: 10.1016/0031-9384(82)90029-4.
25. Würbel H, Stauffacher M, von Holst D. Stereotypies in laboratory mice – quantitative and qualitative description of the ontogeny of «Wire-gnawing» and «Jumping» in Zur:ICR and Zur:ICR nu. *Ethology*. 1996;102(3):371–385. DOI: 10.1111/j.1439-0310.1996.tb01133.x.
26. Perrin MR. Notes on the activity patterns of 12 species of southern African rodents and a new design of activity monitor. *African Zoology*. 1981;16(4):248–258.
27. Novak J, Bailoo JD, Melotti L, Würbel H. Effect of cage-induced stereotypies on measures of affective state and recurrent perseveration in CD-1 and C57BL/6 mice. *PLoS One*. 2016;11(5):e0153203. DOI: 10.1371/journal.pone.0153203.
28. Jennings M, Batchelor GR, Brain PF. Refining rodent husbandry: the mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party. *Laboratory Animals*. 1998;32(3):233–259. DOI: 10.1258/002367798780559301.
29. Chambers JM, Cleveland WS, Kleiner B, Tukey PA. *Graphical methods for data analysis*. Belmont: Wadsworth International Group; 1983. 395 p. Co-published by the «Duxbury Press» (Wadsworth statistics/probability series).
30. Novak J, Bailoo JD, Melotti L, Rommen J, Würbel H. An exploration based cognitive bias test for mice: effects of handling method and stereotypic behaviour. *PLoS One*. 2015;10(7):e0130718. DOI: 10.1371/journal.pone.0130718.
31. Amodeo DA, Jones JH, Sweeney JA, Ragozzino ME. Differences in BTBR T⁺tf/J and C57BL/6J mice on probabilistic reversal learning and stereotyped behaviors. *Behavioural Brain Research*. 2012;227(1):64–72. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.10.032.



32. Alleva E, Castellano C, Oliverio A. Ontogeny of behavioral development, arousal and stereotypes in two strains of mice. *Experimental Aging Research*. 1979;5(4):335–350. DOI: 10.1080/03610737908257209.

33. Ahlgren J, Voikar V. Experiments done in Black-6 mice: what does it mean? *Lab Animal*. 2019;48(6):171–180. DOI: 10.1038/s41684-019-0288-8.

34. Powell SB, Newman HA, Pendergast JF, Lewis MH. A rodent model of spontaneous stereotypy: initial characterization of developmental, environmental, and neurobiological factors. *Physiology & Behavior*. 1999;66(2):355–363. DOI: 10.1016/s0031-9384(98)00303-5.

35. Howerton CL, Garner JP, Mench JA. Effects of a running wheel-igloo enrichment on aggression, hierarchy linearity, and stereotypy in group-housed male CD-1 (ICR) mice. *Applied Animal Behaviour Science*. 2008;115(1–2):90–103. DOI: 10.1016/j.applanim.2008.05.004.

Получена 08.05.2021 / исправлена 08.06.2021 / принята 15.07.2021.
Received 08.05.2021 / revised 08.06.2021 / accepted 15.07.2021.

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

УДК 575.13:575.17:582.632.2:630*165.3

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR* L.) В БЕЛАРУСИ ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК

В. Е. ПАДУТОВ¹⁾

¹⁾Институт леса НАН Беларуси, ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Беларусь

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – один из основных лесообразующих видов Республики Беларусь, популяционно-генетическая структура которого сформировалась под влиянием различных миграционных потоков. Для географического исследования использованы 6 локусов хлоропластной ДНК ($\mu dt1$, $\mu dt3$, $\mu dt4$, $\mu cd4$, $\mu cd5$ и $\mu kk4$), материал для их анализа отобран в 100 дубравах (2325 образцов). Выявлены 18 аллельных вариантов, образующих 17 различных сочетаний (гаплотипов), 5 из которых являются доминирующими (присутствуют в 85 % исследованных насаждений, доля встречаемости варьирует от 7 до 48 %), остальные 12 – редкими (представлены в 15 % дубрав, встречаемость составляет от 1 до 3 %). Филогенетические деревья, построенные с помощью метода ближайшего соседа и метода максимального правдоподобия, показывают наличие двух групп (ветвей) гаплотипов: к одной относятся 8 вариантов, включая 2 доминирующих гаплотипа, к другой – 9 вариантов, в том числе 3 доминирующих гаплотипа. Результаты анализа хлоропластной ДНК методом PCR-RFLP свидетельствуют, что дуб черешчатый в Беларуси имеет балканское происхождение. Гаплотип № 1 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) встречается в республике практически повсеместно, за исключением юго-запада и северо-востока, тогда как гаплотип № 8 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) в основном локализуется именно на юго-западе и северо-востоке. Гаплотипы № 3 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$) и № 7 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) преимущественно распространены на западе страны, а гаплотип № 2 ($\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) характерен для юго-востока.

Ключевые слова: дуб черешчатый; *Quercus robur* L.; микросателлитный анализ; хлоропластная ДНК.

Образец цитирования:

Падутов ВЕ. Популяционно-генетическая структура дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Беларуси по данным анализа хлоропластной ДНК. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2021;3:59–70. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-59-70>

For citation:

Padutov VE. Population genetic structure of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Belarus according to the analysis of chloroplast DNA. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;3:59–70. Russian. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-59-70>

Автор:

Владимир Евгеньевич Падутов – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, доцент, заведующий научно-исследовательским отделом генетики, селекции и биотехнологии.

Author:

Vladimir E. Padutov, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), docent; head of the research department of genetics, breeding and biotechnology. forestgen@mail.ru





POPULATION GENETIC STRUCTURE OF PEDUNCULATE OAK (*QUERCUS ROBUR* L.) IN BELARUS ACCORDING TO THE ANALYSIS OF CHLOROPLAST DNA

V. E. PADUTOV^a

^aForest Institute, National Academy of Sciences of Belarus,
71 Praletarskaja Street, Homiel 246050, Belarus

Pedunculate oak (*Quercus robur* L.) is one of the main forest forming species in the Republic of Belarus. Its population genetic structure was formed under the influence of various migration processes. Six chloroplast DNA loci ($\mu dt1$, $\mu dt3$, $\mu dt4$, $\mu cd4$, $\mu cd5$ and $\mu kk4$) were used for the genogeographic study. The material for the analysis was collected in 100 oak forest stands (2325 samples); 18 allelic variants were identified, which are grouped into 17 different combinations (haplotypes). Five of them are widespread (the proportion of occurrence varies from 7 to 48 %, totalling 85 %). The remaining 12 are rare (the proportion of occurrence varies from 1 to 3 %, totalling 15 %). Phylogenetic trees constructed using the nearest neighbour and maximum likelihood methods show the presence of two groups (branches) of haplotypes. One of it comprises 8 variants including 2 dominant haplotypes and the other comprises 9 variants including 3 dominant haplotypes. PCR-RFLP analysis of chloroplast DNA showed that the pedunculate oak in Belarus originates from the Balkan refugium. Haplotype No. 1 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) is found almost everywhere in Belarus with the exception of the southwest and northeast, while haplotype No. 8 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) is mainly localised in the southwest and northeast. Haplotypes No. 3 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$) and No. 7 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) predominantly found in the west of the country. Haplotype No. 2 ($\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) is typical for the southeast.

Keywords: pedunculate oak; *Quercus robur* L.; microsatellite analysis; chloroplast DNA.

Введение

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – одна из основных лесообразующих пород Республики Беларусь. По состоянию на 1 января 2021 г. площадь дубрав, которые играют важную роль в развитии экономики страны и сохранении экологического равновесия в регионе, составляет 283 тыс. га с запасом древесины на корню 53,85 млн м³ [1]. Несмотря на небольшую долю участия дубрав в лесном фонде Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь (3,4 % от лесопокрытой площади), именно они являются основой для формирования названий геоботанических подзон, таких как дубово-темнохвойные леса, грабово-дубово-темнохвойные леса, широколиственно-сосновые леса (ранее – еловые дубравы, елово-грабовые дубравы и грабовые дубравы соответственно).

Характерная черта дуба черешчатого – высокий уровень внутривидового формового разнообразия, в частности по форме кроны (овальная, округлая, метловидная и др.) и листьев (цельнокрайние, глубоколопастные, иволистные и т. д.), характеру коры (ребристая, широко трещиноватая, пластинчатая и пр.), фенологическим особенностям (рано- и позднезасыхающая формы) и иным параметрам [2–4]. Данный вид может произрастать в различных типах местообитаний. Широкий географический и особенно экологический ареал распространения дуба черешчатого способствует его высокой фенотипической (модификационной) и генотипической пластичности. Результаты изучения многочисленных географических культур убедительно показали существование у дуба черешчатого наследственно обусловленных внутривидовых подразделений – климатипов, эдафотипов, географических рас и др. Некоторые формы, например рано- и позднезасыхающая, определяют варибельность стратегии воспроизводства популяции в зависимости от конкретных погодных условий. Такие типы дубрав, как суходольные (плакорные) и пойменные, демонстрируют высокую экологическую пластичность вида.

Изучение европейских дубрав с использованием хлоропластной ДНК (хпДНК), результатам которого даже был посвящен специальный выпуск журнала *Forest Ecology and Management*, показало их значительную разнородность по генетическому происхождению вследствие распространения из разных рефугиумов ледникового периода [5–9]. На территории Европы в последний ледниковый период род *Quercus* сохранился в нескольких разных регионах (Пиренейском, Апеннинском, Балканском), что привело к внутривидовой генетической разнородности. Послеледниковое распространение миграционных потоков дуба черешчатого в северном направлении и обмен генетическим материалом между представителями разных рефугиумов при перекрестном скрещивании вызывали постепенную гибридизацию геномов.



Беларусь по своему географическому расположению не изолирована крупными преградами, поэтому можно предположить, что и в нашей стране будет наблюдаться та же тенденция, которая прослеживается в других государствах. Проведенный гено- и филогеографический анализ дубовой формации в Польше и странах Прибалтики позволил выявить ее историческую связь с насаждениями Центральной и Южной Европы, а также Балканского полуострова [9; 10]. Северную часть Польши занимают апеннинская и пиренейская гаплогруппы (по-видимому, распространявшиеся с территории Германии вдоль побережья Балтийского моря), в то время как образцы в центральной и южной частях Польши представляют линию Балкан [11]. Превалирование в Польше гаплогрупп балканского происхождения было подтверждено позднее на более обширном материале. В результате установлено, что представители балканского происхождения составляют приблизительно 65 %, апеннинского – более 20 %, а пиренейского (иберийского) – около 10 % проанализированных особей [12]. По данным литовских исследователей [13], дубравы Литвы можно разделить на три группы, одна из которых мигрировала из Италии, а две другие – с территории Балкан, но из разных рефугиумов.

Раздельное существование в период последнего оледенения, распространение из разных рефугиумов и миграционные особенности становления современного ареала дуба черешчатого обуславливают различия и специфику векторов естественного отбора в каждой популяции. Цель настоящей работы состоит в геногеографическом анализе древостоев дуба черешчатого на территории Беларуси, выявлении отдельных популяций и изучении действующих в них микроэволюционных факторов.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнялись в средневозрастных, припевающих, спелых и перестойных дубовых древостоях естественного происхождения Брестской, Витебской, Гомельской, Гродненской, Минской и Могилёвской областей. Для проведения генетического анализа в 100 выделах, представляющих наиболее репрезентативные типы дубрав, были взяты популяционные выборки. Каждая из них включала 15–30 деревьев, расположенных на расстоянии не менее 50 м друг от друга. В качестве экспериментального материала использовались побеги или древесина (2325 образцов).

Выделение ДНК проводили модифицированным СТАВ-методом [14]. Полученные препараты ДНК растворяли в 100 мкл бидистиллированной воды для последующего хранения при –4 °С.

Для изучения хпДНК использовали микросателлитный (SSRP) анализ по 6 локусам [15] с применением следующих пар праймеров:

- $\mu dt1$ – F: 5'-ATCTTACASTAAGCTCGGAA-3', R: 5'-TTCAATAACTTGTTGATCC-3';
- $\mu dt3$ – F: 5'-TGTTAGTAATCCTTTCGTT-3', R: 5'-AGGTATAAAGTCTAAGGTAA-3';
- $\mu dt4$ – F: 5'-GATAATATAAAGAGTCAAAT-3', R: 5'-CCGAAAGGTCCTATACCTCG-3';
- $\mu cd4$ – F: 5'-TTATTTGTTTTGGTTTTACCC-3', R: 5'-TTTCCCATAGAGAGTCTGTAT-3';
- $\mu cd5$ – F: 5'-CCCCGGATCTCTGTCA-3', R: 5'-TAATAAACGAGAATCACATAA-3';
- $\mu kk4$ – F: 5'-TTGTTTACCTATAATTGGAGC-3', R: 5'-TAGCGGATCGGTTCAAAACTT-3'.

Полимеразную цепную реакцию выполняли по программе: длительная денатурация (3 мин, 94 °С); 30 циклов – денатурация (30 с, 94 °С), отжиг (25 с, 72 °С), элонгация (25 с, 72 °С); длительная элонгация (7 мин, 72 °С); охлаждение реакционной смеси (5 мин, 4 °С). Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации осуществляли на генетическом анализаторе ABI Prism 310 (*Applied Biosystems*, США) в соответствии с прилагаемой производителем инструкцией.

Анализ методом PCR-RFLP проводили по 4 локусам с применением следующих пар праймеров:

- CD_1 – F: 5'-CCAGTTCAAATCTGGGTGTC-3', R: 5'-GGGATTGTAGTTCAATTGGT-3';
- D_2T_1 – F: 5'-ACCAATTGAACTACAATCCC-3', R: 5'-CTACCACTGAGTTAAAAGGG-3';
- AS – F: 5'-ACTTCTGGTTCCGGCGAACGAA-3', R: 5'-AACCACTCGGCCATCTCTCCTA-3';
- T_2F – F: 5'-CATTACAAATGCGATGCTCT-3', R: 5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'.

Полимеразную цепную реакцию выполняли по программе: длительная денатурация (3 мин, 94 °С); 40 циклов – денатурация (25 с, 94 °С), отжиг (20 с, температура отжига соответствует температуре плавления праймера), элонгация (25 с, 72 °С); длительная элонгация (5 мин, 72 °С); охлаждение реакционной смеси (5 мин, 4 °С). Амплифицированные фрагменты генов подвергали рестрикции с применением рестриктаз TaqI и HinfI. Для рестрикционного анализа использовали смесь следующего состава: 10-кратный рестрикционный буфер – 2 мкл, дистиллированная вода – 15 мкл, продукт амплификации – 10 мкл, раствор рестриктазы – 1 мкл. Далее рестрикционную смесь инкубировали при 37 °С на протяжении 16 ч. Реакцию останавливали денатурированием фермента при 70 °С в течение 15 мин. Электрофоретическое разделение продуктов проводили в 2 % агарозном геле. Для визуализации продуктов гибридизации гели окрашивали раствором бромистого этидия с последующим просмотром в УФ-свете.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью компьютерных программ *Microsoft Excel*, *Statistica 6.0* и *DARwin5*.



Результаты и их обсуждение

Анализ хпДНК с использованием микросателлитных праймеров выявил 18 аллельных вариантов – $\mu dt1^{88}$, $\mu dt1^{89}$, $\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt3^{124}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{93}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$, $\mu kk4^{110}$, количество которых по локусам варьирует от 2 до 5. На территории Беларуси для дуба черешчатого обнаружены 17 различных сочетаний аллелей (гаплотипов) по 6 локусам хпДНК (табл. 1). Учитывая, что наследование данного типа ДНК происходит только от материнского дерева к потомкам, выявленные гаплотипы можно рассматривать в качестве маркеров отдельных генетических линий для дальнейшего анализа и установления наличия либо отсутствия генетического родства между деревьями.

Таблица 1

Генетические портреты гаплотипов

Table 1

Genetic portraits of haplotypes

| Гаплотип | Сочетание аллелей |
|----------|--|
| 1 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 2 | $\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 3 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 4 | $\mu dt1^{88}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 5 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{93}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{110}$ |
| 6 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 7 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 8 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 9 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 10 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 11 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{124}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 12 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 13 | $\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 14 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 15 | $\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{110}$ |
| 16 | $\mu dt1^{88}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |
| 17 | $\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$ |

Примечание. Нумерация гаплотипов дана в порядке очередности их обнаружения в дубравах Беларуси.

Установлено, что 5 гаплотипов – № 1, 2, 3, 7 и 8 – являются доминирующими, их долевое участие в составе дубрав варьирует от 7 до 48 % (табл. 2), при этом они выявлены в 85 % насаждений. Представленность остальных 12 гаплотипов, встречающихся на ограниченных территориях в пределах одного или нескольких районов, варьирует от 1 до 3 % (см. табл. 2), они обнаружены только в 15 % проанализированных дубрав.

Таблица 2

Долевое участие гаплотипов дуба черешчатого на территории Беларуси, %

Table 2

Fractional participation of pedunculate oak haplotypes on the territory of Belarus, %

| Гаплотип | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
|--------------|----|---|----|---|---|---|----|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Доля участия | 48 | 7 | 11 | 3 | 1 | 2 | 10 | 9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |



С использованием дистанционного (метод ближайшего соседа) и дискретного (метод максимального правдоподобия) методов были построены два филогенетических дерева выявленных гаплотипов хпДНК дуба черешчатого (рис. 1). Установлено, что гаплотипы формируют две группы (ветви). К первой из них относятся 8 вариантов, в том числе 2 доминирующих гаплотипа – № 7 и 8. Вторая ветвь состоит из 9 вариантов, 3 из которых – № 1, 2 и 3 – являются доминирующими гаплотипами.

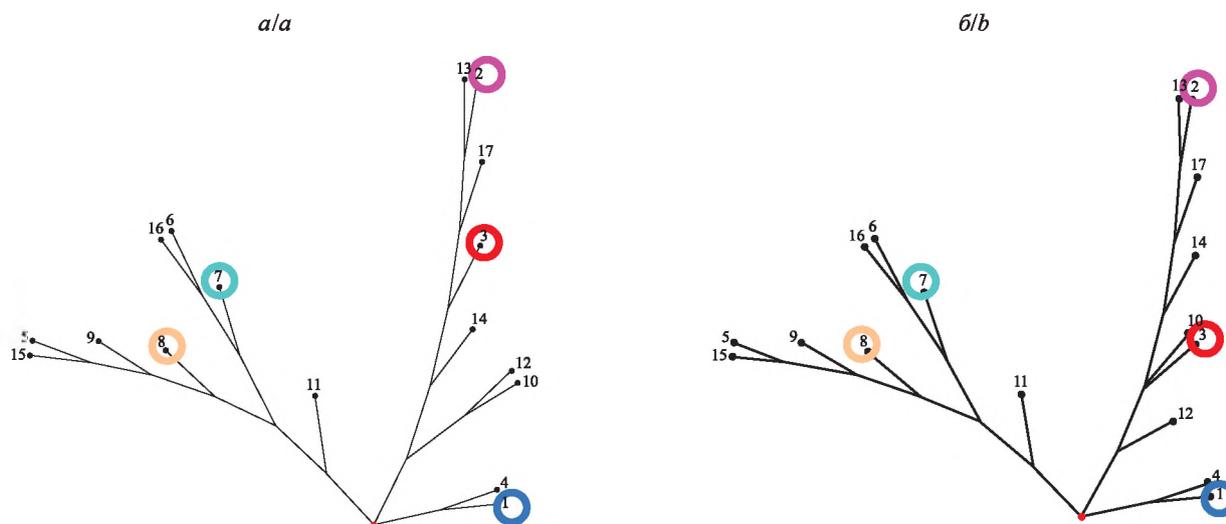


Рис. 1. Филогенетическое дерево гаплотипов дуба черешчатого, выявленных на территории Беларуси: а – на основании метода ближайшего соседа; б – на основании метода максимального правдоподобия

Fig. 1. Phylogenetic tree of pedunculata oak haplotypes identified in Belarus:

a – based on the nearest neighbour method; b – based on the method of maximum likelihood

Учитывая расположение редких гаплотипов на филогенетическом дереве, их встречаемость в единичных районах, а также отсутствие у хпДНК явления генетической рекомбинации, можно предположить, что они образовались из доминирующих гаплотипов в результате мутаций. На рис. 2 представлены карты распространения доминирующих гаплотипов и их производных (редких гаплотипов). Хорошо видно, что встречаемость доминирующих гаплотипов варьирует в зависимости от регионов. Гаплотип № 1 встречается практически повсеместно, за исключением юго-запада и северо-востока республики. Гаплотип № 8, наоборот, в основном локализуется на юго-западе и северо-востоке. Четкой региональной приуроченностью отличается гаплотип № 2, который характерен для юго-востока Беларуси. Гаплотипы № 3 и 7 преимущественно распространены на западе страны, хотя отдельные микропопуляции, где присутствуют эти гаплотипы, выявлены и в восточных районах.

Для сопоставления данных по Беларуси с результатами обширного исследования по изучению гаплотипов дуба на всей территории Европы [5; 6] был проведен анализ хпДНК дуба черешчатого методом PCR-RFLP с использованием маркеров, описанных в этих работах. Для каждого гаплотипа было проанализировано по 5 индивидов. Данный метод имеет меньшую разрешающую способность по сравнению с проведенным SSRP-анализом, и в исследованных образцах было обнаружено только 3 гаплотипа. Они относились к одной группе происхождения – А (балканская линия), которая характерна для восточной части Европы. На территории Польши и Литвы также в основном встречаются гаплотипы этой линии [11–13]. Гаплотипы апеннинской линии (группа происхождения С) в Польше выявлены только на севере, вдоль побережья [11], а в Литве – на востоке [13]. В западной части Латвии, в Курземе на границе с Литвой, также был обнаружен гаплотип апеннинской линии, тогда как в восточной части Латвии доминируют гаплотипы балканского происхождения [16].

Миграции играли важную роль на всех этапах истории вида. Это касается и периода произрастания дуба черешчатого на территории Беларуси. Хотя большинство генетически родственных популяций находятся в непосредственной близости друг от друга, наблюдается географическая изоляция некоторых из этих популяций от остальных. Крайним примером являются древостои, имеющие единое генетическое происхождение, но удаленные друг от друга на расстояние до 300 км, как в случае дубрав из Дятловичского и Верхнедвинского или Пинского и Хойникского лесхозов, у деревьев которых выявлен один и тот же гаплотип (№ 7).

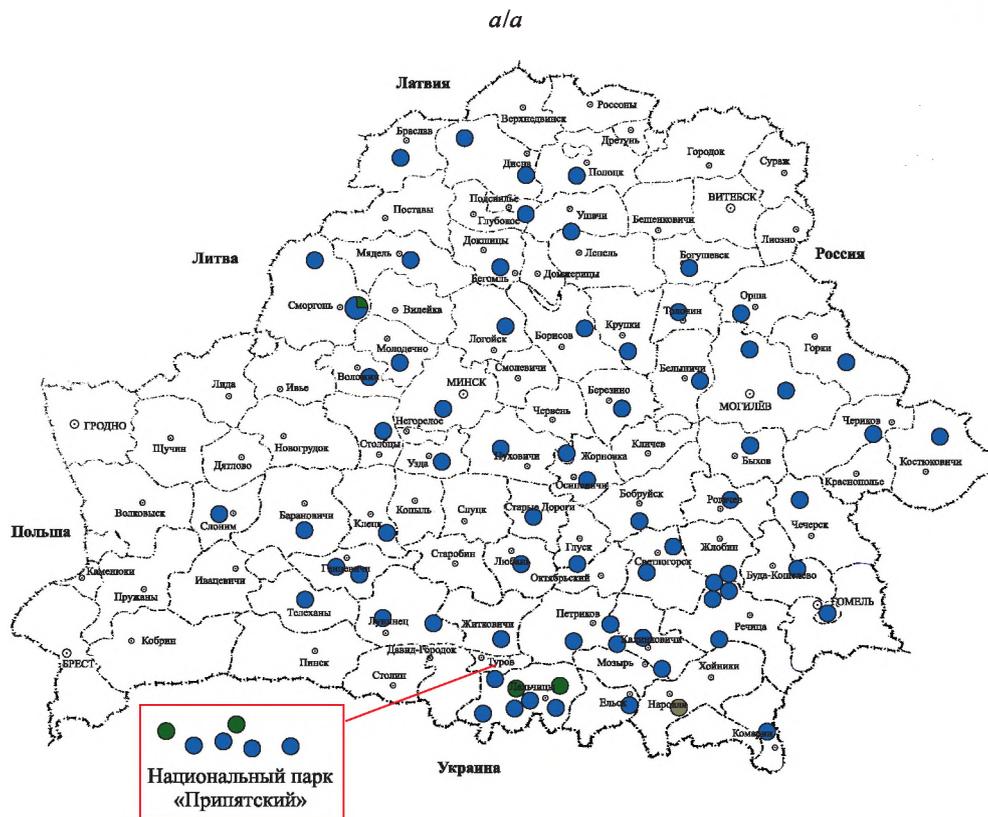


Рис. 2. Карта локализации гаплотипов дуба черешчатого (начало):
 а – гаплотип № 1 и его производные; б – гаплотип № 2 и его производные

Fig. 2. Localisation map of pedunculate oak haplotypes (beginning):
 а – haplotype No. 1 and its derivatives; б – haplotype No. 2 and its derivatives

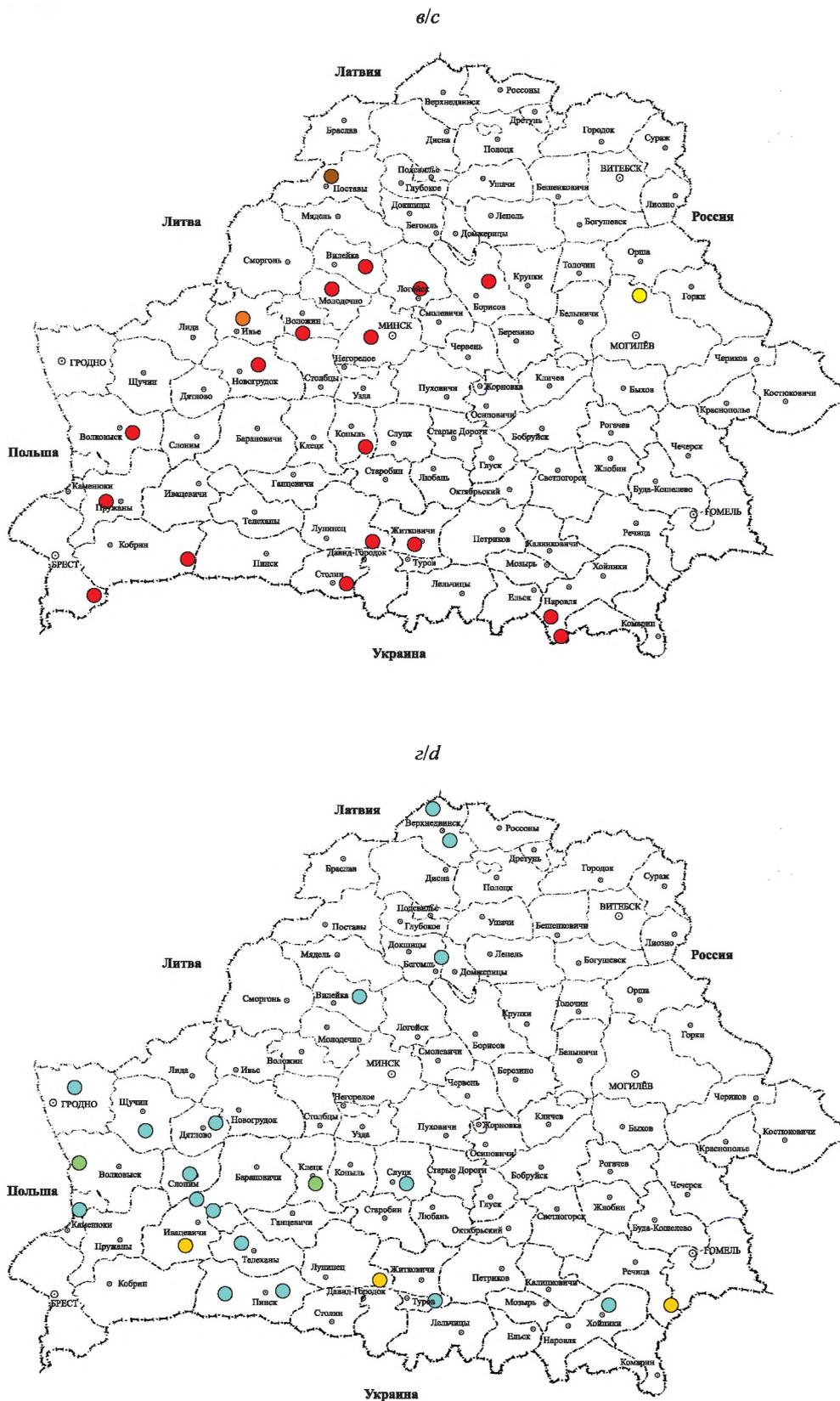


Рис. 2. Карта локализации гаплотипов дуба черешчатого (продолжение):
в – гаплотип № 3 и его производные; г – гаплотип № 7 и его производные
Fig. 2. Localisation map of pedunculate oak haplotypes (continuation):
с – haplotype No. 3 and its derivatives; d – haplotype No. 7 and its derivatives



d/e



e/f

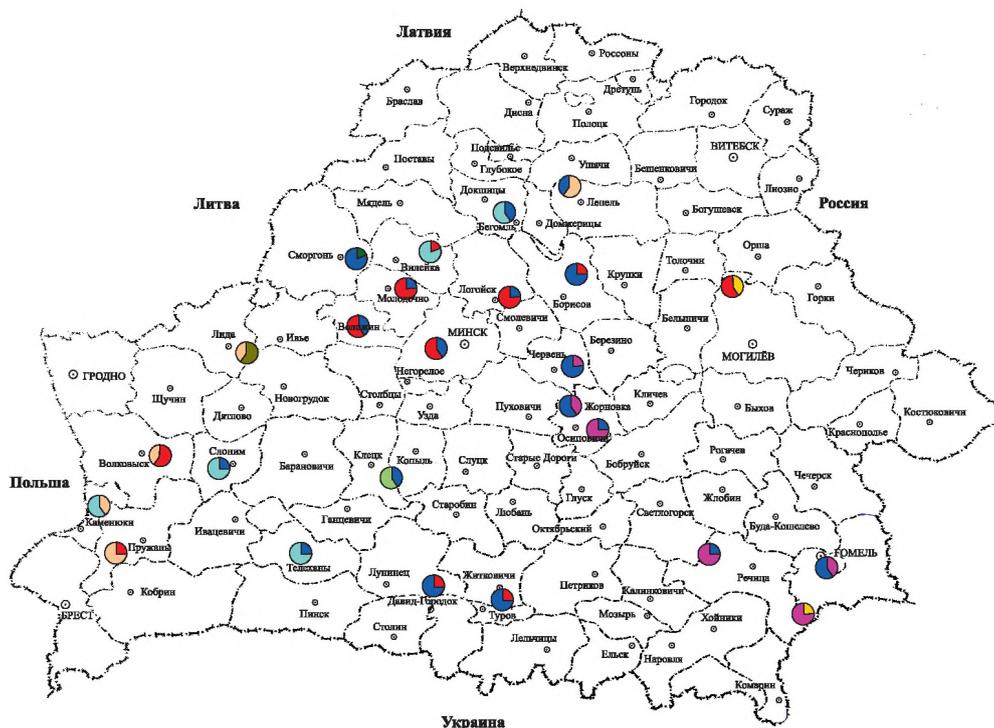


Рис. 2. Карта локализации гаплотипов дуба черешчатого (окончание):
 d – гаплотип № 8 и его производные; e – карта дубрав с несколькими гаплотипами

Fig. 2. Localisation map of pedunculate oak haplotypes (ending):
 e – haplotype No. 8 and its derivatives; f – map of oak forests with several haplotypes



Наличие подобных популяций (микрораспространенных), изолированных от области основного распространения гаплотипов, может быть результатом миграций популяций на новые территории. Однако, учитывая, что скорость миграции дуба, по разным данным, составляет от 5 до 300 м в год [17–22], такая миграция, например, на восток от Пинского до Хойникского лесхоза должна продолжаться 1000–60 000 лет. Сомнительно, чтобы относительно небольшая часть популяций продвигалась на значительные расстояния в течение длительного времени, причем по территориям, где произрастают дубравы другого происхождения. По-видимому, в атлантический период (8000–5000 лет до н. э.), который был наиболее теплым и влажным в голоцене, гаплотип № 7 имел более широкую область распространения, чем в настоящее время, и занимал значительную часть Беларуси не только на западе, но и в центре и на востоке страны. Таким образом, выявленные изолированные микрораспространенные популяции, которые представлены гаплотипом № 7, являются остатками некогда более широко распространенной популяции.

Независимо от того, появились ли микрораспространенные популяции, географически удаленные от основного ареала встречаемости гаплотипа, в результате миграции в настоящее время или миграции, происходившей в прошлом, их наличие свидетельствует о значительных колебаниях численности популяций. Такие колебания численности могут иметь кратковременный характер (вследствие регулярно происходивших усыханий дубрав, как это описано для XX в. [23; 24]) или занимать длительный период (исходя из палеоботанических данных [20; 25–27]).

В местах контакта популяций различного генетического происхождения возникают зоны гибридизации, что обеспечивает возможность скрещивания представителей различных генетических линий и образования новых вариантов генотипов по локусам ядерной ДНК вследствие генетической рекомбинации. Вероятность межпопуляционной гибридизации наиболее велика в дубравах, где на площади одного и того же выдела совместно произрастают представители более чем одной генетической линии. Такие дубравы были выявлены в различных регионах Беларуси (см. рис. 2, е).

К факторам, приводящим к микроэволюционным процессам у дуба черешчатого, относятся не только изоляция и популяционные волны, но и мутационный процесс. Как было сказано выше, в Беларуси у данного вида, кроме доминирующих, имеются 12 редких гаплотипов. Мутантные аллели выявлены в 5 из 6 локусов. В эту группу были включены варианты, обнаруженные только у редких гаплотипов: аллель 88 локуса *mdt1* выявлен в гаплотипах № 4 (Лельчицкий лесхоз, Национальный парк «Припятский», Сморгонский лесхоз) и № 16 (Волковысский лесхоз); аллель 93 локуса *mdc4* – в гаплотипе № 5 (Ивацевичский лесхоз); аллель 110 локуса *mkk4* – в гаплотипах № 5 (Ивацевичский лесхоз) и № 15 (Ушачский лесхоз); аллель 124 локуса *mdt3* – в гаплотипе № 11 (Клецкий лесхоз); аллель 143 локуса *mdt4* – в гаплотипах № 5 (Ивацевичский лесхоз), № 9 (Лидский лесхоз) и № 15 (Ушачский лесхоз).

Хотя выявлены 5 мутантных аллелей, самих мутационных событий, которые привели к образованию 12 редких гаплотипов, было гораздо больше, поскольку, в отличие от ядерной ДНК, у хлДНК отсутствует явление генетической рекомбинации, и, следовательно, новые гаплотипы могут возникать только в результате мутаций. Некоторые редкие аллели встречаются у разных гаплотипов. К примеру, аллель 143 локуса *mdt4* выявлен в 3 гаплотипах. Данный аллель можно рассматривать либо как результат единичного мутационного события с последующим распространением в разные регионы страны, либо как результат нескольких аналогичных мутационных событий, произошедших в разных местах. Гаплотипы № 5, 9 и 15, для которых характерен аллель 143 локуса *mdt4*, географически удалены друг от друга (Ивацевичский лесхоз Брестской области, Лидский лесхоз Гродненской области, Ушачский лесхоз Витебской области соответственно), что говорит о правдоподобности второго предположения. С другой стороны, все они являются производными от гаплотипа № 8 и находятся в зоне его распространения, что косвенно подтверждает первую гипотезу. Однако даже если аллель 143 локуса *mdt4* и образовался в результате одного мутационного события, то сами гаплотипы отличаются друг от друга по аллелям других локусов: гаплотипы № 5 и 9 – по 2 локусам, гаплотипы № 5 и 15 – по 1 локусу, гаплотипы № 9 и 15 – по 2 локусам. Это говорит о том, что образование указанных 3 гаплотипов явилось результатом нескольких мутаций, если брать за точку отсчета родоначальный гаплотип № 8.

Следует отметить два момента. Во-первых, редкие гаплотипы выявлены на юге, западе и севере страны, т. е. в тех местах, где дубравы произрастают наиболее длительное время. Во-вторых, наблюдаются разные этапы изменения ареалов распространения гаплотипов. Например, гаплотип № 10 обнаружен только на территории Могилёвского лесхоза в одном древостое, в котором также был представлен и родоначальный для него гаплотип № 3, что говорит о крайне ограниченном распространении редкого варианта. В то же время гаплотип № 4 встречается на более обширной территории, он выявлен в ряде дубрав двух соседних районов – Житковичского и Хойникского. Учитывая, что доля встречаемости этого гаплотипа наибольшая среди редких вариантов (3 %), то, по-видимому, можно предположить возникновение новой популяции, расширяющей свой ареал. Интересная ситуация сложилась



в отношении гаплотипа № 6, являющегося производным от широко распространенного гаплотипа № 7. Рассматриваемый редкий вариант был выявлен на юге Беларуси в трех удаленных между собой дубравах – на западе (Ивацевичский лесхоз), в центре (Лунинецкий лесхоз) и на востоке (Речицкий лесхоз) Полесья. При этом только на одной пробной площади все проанализированные деревья принадлежали к гаплотипу № 6, в остальных случаях совместно произрастали деревья с разными гаплотипами. Это позволяет предположить, что гаплотип № 6 ранее мог быть распространен на большей территории, чем в настоящее время.

Таким образом, значительное количество редких гаплотипов, каждый из которых возник в результате одного или нескольких мутационных событий, их происхождение от разных доминирующих гаплотипов и присутствие в удаленных друг от друга географических регионах страны позволяют говорить о достаточно высоком уровне спонтанного мутагенеза, происходящего в белорусских популяциях дуба черешчатого. Эти данные косвенно подтверждаются результатами исследования дубов в Польше [12], в ходе которого у дуба черешчатого по 14 микросателлитным локусам хпДНК выявлено больше гаплотипов (67), чем у дуба скального (47). Кроме того, при анализе нескольких тысяч дубов лишь 17 гаплотипов обнаружены у довольно большого количества деревьев (13 и более), а остальные гаплотипы были представлены только у единичных особей.

Заключение

Для изучения геногеографической структуры популяций дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на территории Беларуси использованы 6 микросателлитных локусов хпДНК – *mdt1*, *mdt3*, *mdt4*, *ucd4*, *ucd5* и *ukk4*. Выявлены 17 различных гаплотипов, 5 из которых являются доминирующими, а 12 – редкими. Анализ хпДНК методом PCR-RFLP показал, что дуб черешчатый в Беларуси – представитель группы балканского происхождения. Установлено, что распространение гаплотипов по территории страны имеет региональные особенности. Наиболее часто, практически повсеместно, за исключением юго-запада и северо-востока республики, встречается гаплотип № 1. Достаточно широко, в основном на западе страны, представлены гаплотипы № 3 и 7. Гаплотип № 8 главным образом распространен на юго-западе и северо-востоке, а гаплотип № 2 – только на юго-востоке. Совокупность таких микроэволюционных факторов, как миграция, изоляция и мутагенез, обуславливает высокий уровень генетического и формового разнообразия дуба черешчатого. Это позволяет предположить наличие достаточно большого генетического потенциала вида и его способности адаптироваться к изменяющимся условиям среды.

Библиографические ссылки

1. Государственный лесной кадастр Республики Беларусь по состоянию на 01.01.2021 г. [Интернет; процитировано 10 апреля 2021 г.]. Минск: Белгослес; 2021. 88 с. Доступно по: <https://belgosles.by/wp-content/uploads/2021/04/кадастр-РБ-на-1.01.21-1.pdf>.
2. Плетминцева ТИ. *Селекция позднораспускающихся разновидностей дуба черешчатого для массового выращивания*. Москва: ЦНИИТЭИлеспром; 1966. 44 с. (Лесное хозяйство).
3. Селочник НН, Кондрашова НК. Общая оценка состояния древостоев по данным рекогносцировочного и детального лесопатологических обследований. В: Орлов АЯ, Осипов ВВ, редакторы. *Состояние дубрав лесостепи*. Москва: Наука; 1989. с. 138–153.
4. Шутяев АМ. *Биоразнообразие дуба черешчатого и его использование в селекции и лесоразведении*. Воронеж: Истоки; 2000. 336 с.
5. Petit RJ, Csaikl UM, Bordács S, Burg K, Coart E, Cottrell J, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks: phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):5–26. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00645-4.
6. Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, et al. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):49–74. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00634-X.
7. Kremer A, Kleinschmit J, Cottrell J, Cundall EP, Deans JD, Ducouso A, et al. Is there a correlation between chloroplast and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):75–87. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00635-1.
8. Olalde M, Herrán A, Espinel S, Goicoechea PG. White oaks phylogeography in the Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):89–102. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00636-3.
9. Csaikl UM, Glaz I, Baliuckas V, Petit RJ, Jensen JS. Chloroplast DNA variation of white oak in the Baltic countries and Poland. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):211–222. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00644-2.
10. Glaz I. Genetic cartography of oaks in Poland using PCR-RFLP markers of the chloroplast DNA. *Glasnik za šumske pokuse: annales experimentis silvarum culturae provehendis*. 2000;37:481–487.
11. Dering M, Lewandowski A, Ufnalski K, Kedzierska A. How far to the east was the migration of white oaks from the Iberian refugium? *Silva Fennica*. 2008;42(3):327–335. DOI: 10.14214/sf.240.



12. Chmielewski M, Meyza K, Chybicki IJ, Dzialuk A, Litkowiec M, Burczyk J. Chloroplast microsatellites as a tool for phylogeographic studies: the case of white oaks in Poland. *iForest – Biogeosciences and Forestry*. 2015;8(6):765–771. DOI: 10.3832/ifor1597-008.
13. Plitra A, Rungis D, Baliuckas V. Population structure of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Lithuania based on analysis of chloroplast DNA haplotypes and adaptive traits. *Baltic Forestry*. 2009;15(1):2–12.
14. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Воропаев ЕВ. *Методы молекулярно-генетического анализа*. Минск: Юнипол; 2007. 176 с.
15. Deguilloux MF, Pemonge MH, Bertel L, Kremer A, Petit RJ. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*. 2003;12(6):1629–1636. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.01836.x.
16. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Каган ДИ, Ковалевич ОА, Вейнберга ИГ, Бауманис И и др. Анализ генетической структуры и происхождения дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Беларуси и Латвии (с целью уточнения лесосеменного районирования). В: *Беларусь – Европейский союз. Каталог Белорусской инновационной недели; 4–5 ноября 2011 г.; Минск, Беларусь*. Минск: [б. и.]; 2011. с. 17–18.
17. Величко АА, Климанов ВА. Климатические условия Северного полушария 5–6 тысяч лет назад. *Известия АН СССР. Серия географическая*. 1990;5:38–52.
18. Попадюк РВ, Чистякова АА, Чумаченко СИ, Евстигнеев ОИ, Заугольнова ЛБ, Истомина ИИ и др. *Восточноевропейские широколиственные леса*. Смирнова ОВ, редактор. Москва: Наука; 1994. 364 с.
19. Денисов АК. Последледниковая динамика северной границы ареала дуба черешчатого в СССР и филогенез дубрав Севера. *Лесоведение*. 1980;1:3–11.
20. Серебрянный ЛР. Динамика распространения некоторых древесных пород на северо-западе СССР в последледниковое время. В: *Палинология голоцена*. Москва: Наука; 1971. с. 5–17.
21. Удра ИФ. *Расселение растений и вопросы палео- и биогеографии*. Киев: Наукова думка; 1988. 200 с.
22. Huntley B, Birks HJB. *An atlas of past and present pollen maps for Europe: 0–13 000 years ago*. Cambridge: Cambridge University Press; 1983. 668 p.
23. Гримашевич ВВ, Маховик ИВ, Левенкова ОВ. Пойменные дубравы Республики Беларусь и их состояние. В: *Проблемы лесоведения и лесоводства. Выпуск 67*. Гомель: Институт леса НАН Беларуси; 2007. с. 37–49.
24. Юркевич ИД. *Дубравы Белорусской ССР и их восстановление*. 2-е издание. Минск: Издательство Академии наук БССР; 1960. 268 с.
25. Хотинский НА. *Голоцен Северной Евразии: опыт трансконтинентальной корреляции этапов развития растительности и климата. КХ конгрессу INQUA; 1977; Великобритания*. Москва: Наука; 1977. 200 с.
26. Серебрянная ТА. Влияние человека на растительность Среднерусской возвышенности (по палинологическим данным). В: Динесман ЛГ, редактор. *Антропогенные факторы в истории развития современных экосистем*. Москва: Наука; 1981. с. 52–60 (Современные проблемы биосферы).
27. Хотинский НА. Голоценовые хроносрезы: дискуссионные проблемы палеогеографии голоцена. В: Величко АА, Спаская ИИ, Хотинский НА, редакторы. *Развитие природы территории СССР в позднем плейстоцене и голоцене = Evolution of the environment at the USSR territory during late Pleistocene and Holocene*. Москва: Наука; 1982. с. 142–147.

References

1. [The state forest cadastre of the Republic of Belarus as of 01.01.2021] [Internet; cited 2021 April 10]. Minsk: Belgosles; 2021. 88 p. Available from: <https://belgosles.by/wp-content/uploads/2021/04/кадастр-РБ-на-1.01.21-1.pdf>. Russian.
2. Pletmintseva TI. *Selektsiya pozdnoraspuskayushchikhsya raznovidnostei duba chereschatogo dlya massovogo vyrashchivaniya* [Selection of late blooming varieties of pedunculate oak for mass cultivation]. Moscow: TsNIITEIlesprom; 1966. 44 p. (Lesnoe khozyaistvo). Russian.
3. Selochnik NN, Kondrashova NK. [General assessment of forest stands state according to the reconnaissance and detailed forest pathology surveys]. In: Orlov AY, Osipov VV, editors. *Sostoyanie dubrav lesostepi* [State of the oak forests of the forest-steppe]. Moscow: Nauka; 1989. p. 138–153. Russian.
4. Shutyaev AM. *Bioraznoobrazie duba chereschatogo i ego ispol'zovanie v selektsii i lesorazvedenii* [Biodiversity of pedunculate oak and its use in breeding and forestry]. Voronezh: Istoki; 2000. 336 p. Russian.
5. Petit RJ, Csaikl UM, Bordács S, Burg K, Coart E, Cottrell J, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks: phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):5–26. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00645-4.
6. Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, et al. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):49–74. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00634-X.
7. Kremer A, Kleinschmit J, Cottrell J, Cundall EP, Deans JD, Ducouso A, et al. Is there a correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):75–87. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00635-1.
8. Olalde M, Herrán A, Espinel S, Goicoechea PG. White oaks phylogeography in the Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):89–102. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00636-3.
9. Csaikl UM, Glaz I, Baliuckas V, Petit RJ, Jensen JS. Chloroplast DNA variation of white oak in the Baltic countries and Poland. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):211–222. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00644-2.
10. Glaz I. Genetic cartography of oaks in Poland using PCR-RFLP markers of the chloroplast DNA. *Glasnik za šumske pokuse: annales experimentis silvarum culturae provehendis*. 2000;37:481–487.
11. Dering M, Lewandowski A, Ufnalski K, Kedzierska A. How far to the east was the migration of white oaks from the Iberian refugium? *Silva Fennica*. 2008;42(3):327–335. DOI: 10.14214/sf.240.
12. Chmielewski M, Meyza K, Chybicki IJ, Dzialuk A, Litkowiec M, Burczyk J. Chloroplast microsatellites as a tool for phylogeographic studies: the case of white oaks in Poland. *iForest – Biogeosciences and Forestry*. 2015;8(6):765–771. DOI: 10.3832/ifor1597-008.



13. Pliūra A, Rungis D, Baliuckas V. Population structure of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Lithuania based on analysis of chloroplast DNA haplotypes and adaptive traits. *Baltic Forestry*. 2009;15(1):2–12.
14. Padutov VE, Baranov OYu, Voropaev EV. *Metody molekulyarno-geneticheskogo analiza* [Methods of molecular genetic analysis]. Minsk: Yunipol; 2007. 176 p. Russian.
15. Deguilloux MF, Pemonge MH, Bertel L, Kremer A, Petit RJ. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*. 2003;12(6):1629–1636. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.01836.x.
16. Padutov VE, Baranov OYu, Kagan DI, Kovalevich OA, Veinberga IG, Baumanis I, et al. [Analysis of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) genetic structure and origin in Belarus and Latvia (in order to clarify the forest seed zoning)]. In: *Belarus' – Evropeiskii soyuz. Katalog Belorusskoi innovatsionnoi nedeli; 4–5 noyabrya 2011 g.; Minsk, Belarus'* [Belarus – European Union. Catalog of the Belarusian Innovation Week; 2011 November 4–5; Minsk, Belarus]. Minsk: [s. n.]; 2011. p. 17–18. Russian.
17. Velichko AA, Klimanov VA. [Climatic conditions of the Northern hemisphere 5–6 thousand years ago]. *Izvestiya AN SSSR. Seriya geograficheskaya*. 1990;5:38–52. Russian.
18. Popadyuk RV, Chistyakova AA, Chumachenko SI, Evstigneev OI, Zaigol'nova LB, Istomina II, et al. *Vostochnoevropeiskie shirokolistvennye lesa* [East European hardwood broadleaf forests]. Smirnova OV, editor. Moscow: Nauka; 1994. 364 p. Russian.
19. Denisov AK. [Postglacial dynamics of the northern border of the pedunculate oak range in the USSR and phylogenesis of the oak forests of the North]. *Lesovedenie*. 1980;1:3–11. Russian.
20. Serebryanny LR. [The dynamics of some tree species distribution in the northwest of the USSR in the postglacial time]. In: *Palinologiya golotsena* [Palynology of the Holocene]. Moscow: Nauka; 1971. p. 5–17. Russian.
21. Udra IF. *Rasselenie rastenii i voprosy paleo- i biogeografii* [Plant spread and issues of its paleo- and biogeography]. Kyiv: Naukova dumka; 1988. 200 p. Russian.
22. Huntley B, Birks HJB. *An atlas of past and present pollen maps for Europe: 0–13 000 years ago*. Cambridge: Cambridge University Press; 1983. 668 p.
23. Grimashevich VV, Makhovik IV, Levenkova OV. [Floodplain oak forests of the Republic of Belarus and their state]. In: *Problemy lesovedeniya i lesovodstva. Vypusk 67* [Problems of forestry and forestry. Issue 67]. Gomel: Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus; 2007. p. 37–49. Russian.
24. Yurkevich ID. *Dubravyy Belorusskoi SSR i ikh vosstanovlenie* [Oak groves of the Byelorussian SSR and their restoration]. 2nd edition. Minsk: Publishing House of the Academy of Sciences of the BSSR; 1960. 268 p. Russian.
25. Khotinsky NA. *Golotsen Severnoi Evrasii: opyt transkontinental'noi korrelyatsii etapov razvitiya rastitel'nosti i klimata. K X kongressu INQUA; 1977; Velikobritaniya* [Holocene of Northern Eurasia: experience of transcontinental correlation of stages of vegetation and climate development. Towards the 10th Congress of INQUA; 1977; United Kingdom]. Moscow: Nauka; 1977. 200 p. Russian.
26. Serebryannaya TA. [Human influence on the vegetation of the Central Russian Upland (according to palynological data)]. In: Dinesman LG, editor. *Antropogennyye faktory v istorii razvitiya sovremennykh ekosistem* [Anthropogenic factors in the history of the modern ecosystems development]. Moscow: Nauka; 1981. p. 52–60 (Sovremennyye problemy biosfery). Russian.
27. Khotinsky NA. Holocene chronological levels: problems of the Holocene paleogeography. In: Velichko AA, Spasskaya II, Khotinsky NA, editors. *Evolution of the environment at the USSR territory during late Pleistocene and Holocene*. Moscow: Nauka; 1982. p. 142–147. Russian.

Получена 15.06.2021 / исправлена 15.07.2021 / принята 22.07.2021.
Received 15.06.2021 / revised 15.07.2021 / accepted 22.07.2021.



СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ И ПРОФИЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* 2A

Ю. В. ДЮБО¹⁾, А. Э. ОХРЕМЧУК²⁾,
Л. Н. ВАЛЕНТОВИЧ^{1), 2)}, Е. А. НИКОЛАЙЧИК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Институт микробиологии НАН Беларуси,
ул. Академика В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Беларусь

С помощью технологии секвенирования Oxford Nanopore исследован профиль метилирования генома *Pectobacterium carotovorum* 2A. Определена специфичность метилазных субъединиц трех систем рестрикции-модификации данного штамма. Анализ гомологичных систем показал уникальность системы рестрикции-модификации I типа и специфичной к метилированной ДНК системы рестрикции IV типа этого штамма. Работа подтверждает применимость технологии Oxford Nanopore для анализа модификаций ДНК бактерий, а также является первым примером такого анализа для *Pectobacterium* spp.

Ключевые слова: Oxford Nanopore; метилирование; система рестрикции-модификации; N6-метиладенозин; 5-метилцитозин.

Образец цитирования:

Дюбо ЮВ, Охремчук АЭ, Валентович ЛН, Николайчик ЕА. Системы рестрикции-модификации и профиль метилирования ДНК *Pectobacterium carotovorum* 2A. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2021; 3:71–77.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-71-77>

For citation:

Diubo YV, Akhremchuk AE, Valentovich LN, Nikolaichik YA. Restriction-modification systems and DNA methylation profile of *Pectobacterium carotovorum* 2A. Journal of the Belarusian State University. Biology. 2021;3:71–77. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-71-77>

Авторы:

Юлия Владимировна Дюбо – ассистент кафедры молекулярной биологии биологического факультета.

Артур Эдуардович Охремчук – научный сотрудник лаборатории «Центр аналитических и генно-инженерных исследований».

Леонид Николаевич Валентович – кандидат биологических наук; доцент кафедры молекулярной биологии биологического факультета¹⁾, заведующий лабораторией «Центр аналитических и генно-инженерных исследований»²⁾.

Евгений Артурович Николайчик – кандидат биологических наук; доцент кафедры молекулярной биологии биологического факультета.

Authors:

Yulia V. Diubo, assistant at the department of molecular biology, faculty of biology.

yuliyadiubo@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-3161-1560>

Artur E. Akhremchuk, researcher at the laboratory «Center of analytical and genetic engineering research».

akhremchuk@bio.bsu.by

<https://orcid.org/0000-0001-8602-4887>

Leonid N. Valentovich, PhD (biology); associate professor at the department of molecular biology, faculty of biology^a, and head of the laboratory «Center of analytical and genetic engineering research»^b.

valentovich@bio.bsu.by

<https://orcid.org/0000-0001-7329-743X>

Yevgeny A. Nikolaichik, PhD (biology); associate professor at the department of molecular biology, faculty of biology.

nikolaichik@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0002-6718-9309>





RESTRICTION-MODIFICATION SYSTEMS AND DNA METHYLATION PROFILE OF *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* 2A

Y. V. DIUBO^a, A. E. AKHREMCHUK^b,
L. N. VALENTOVICH^{a, b}, Y. A. NIKOLAICHIK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bInstitute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus,
2 Academician V. F. Kupreviča Street, Minsk 220141, Belarus

Corresponding author: Y. A. Nikolaichik (nikolaichik@bsu.by)

The methylation profile of *Pectobacterium carotovorum* 2A genome was studied using the Oxford Nanopore sequencing technology. The specificity of the methylase subunits of the three restriction-modification systems of this strain was determined. Analysis of homologous systems showed the uniqueness of the type I restriction-modification system and the type IV restriction system specific to methylated DNA of this strain. The work confirms the applicability of Oxford Nanopore technology to the analysis of bacterial DNA modifications and is also the first example of such an analysis for *Pectobacterium* spp.

Keywords: Oxford Nanopore sequencing; methylation; restriction-modification system; N6-methyladenosine; 5-methylcytosine.

Введение

Системы рестрикции-модификации контролируют горизонтальный перенос ДНК у бактерий и могут создавать серьезные препятствия при конструировании бактериальных штаммов с заданными свойствами. Как и во многих других таксономических группах, большинство штаммов *Pectobacterium* spp. с трудом трансформируются чужеродной ДНК, что может быть связано с работой именно систем рестрикции.

Системы рестрикции-модификации подразделяются на четыре типа в соответствии с их генетическими и биохимическими характеристиками. У систем I типа рестрикционная и метилирующая активности разделены между разными полипептидами, а специфичность мишени в ДНК как при метилировании, так и при рестрикции контролируется третьей субъединицей. Рестрикция происходит на произвольном расстоянии от сайта узнавания [1]. Системы рестрикции-модификации II типа расщепляют ДНК непосредственно в сайте узнавания или на небольшом и строго определенном расстоянии от него. Рестриктазы и метилазы этих систем, как правило, работают независимо друг от друга и представлены разными полипептидами [2]. Системы рестрикции-модификации III типа распознают асимметричные сайты и расщепляют ДНК на некотором расстоянии от них. Для проявления рестрикционной активности требуют двух неметилированных сайтов узнавания, расположенных в специфической ориентации «голова к голове» [3]. Системы рестрикции IV типа отличаются от всех вышеописанных в первую очередь тем, что распознают и расщепляют только модифицированную ДНК [4].

Анализ геномов пектобактерий показывает, что даже штаммы одного вида, как правило, имеют разные наборы рестриктаз, это может объяснять наблюдаемые различия в эффективности их трансформации. Предварительный анализ корреляций между эффективностью трансформации штамма и набором имеющихся у него рестриктаз показал, что у наиболее устойчивых к внедрению чужеродной ДНК штаммов обязательно присутствуют система рестрикции IV типа и не менее двух других систем рестрикции-модификации. А поскольку системы IV типа распознают только модифицированную ДНК, дополнительные системы рестрикции-модификации того же штамма не могут осуществлять метилирование позиций, распознаваемых системой рестрикции IV типа.

Исследование специфичности систем рестрикции-модификации в целом, а в особенности систем IV типа, связано со многими трудностями, и в первую очередь с летальностью генов этих систем при попытках их клонирования. Дополнительными сложностями для систем IV типа являются малая специфичность распознаваемых последовательностей и отсутствие для большинства из них четкой связи между сайтом связывания и сайтом рестрикции. Неудивительно, что специфичность и другие особенности функционирования охарактеризованы только для очень небольшого числа систем IV типа. Так, у *E. coli* хорошо описаны системы *mcrA*, *mcrBC* и *mrr*. Первые две системы распознают модифицированный цитозин, последняя – аденозин в малоконсервативных коротких последовательностях, а саму



рестриктию осуществляют на варьирующем расстоянии от этих последовательностей [4]. Известно, что системы IV типа, расщепляющие ДНК с 5-гидроксиметилцитозином, расщепляют и ДНК с 5-метилцитозином. Исключением из этого наблюдения, судя по всему, является Mgt-система *E. coli* K, которая не расщепляет ДНК Т-четных бактериофагов, содержащую 5-гидроксиметилцитозин [4]. Системы, распознающие N6-метиладенин, не распознают ДНК с 5-метилцитозином и (или) 5-гидроксиметилцитозином. Верно и обратное [4]. Достаточно часто рядом с генами гомологов MstBC обнаруживают гены метилтрансфераз. Чаще всего это ДНК-метилтрансферазы из систем рестрикции-модификации I типа или IIG типа. Естественно, модификации, вносимые этими метилтрансферазами, не могут быть мишенями для нуклеазы соседней системы IV типа [5].

В то же время обнаружены необычные системы рестрикции IV типа, имеющие метилазы в своем составе, как, например, BspLU11III из *Bacillus* sp. Их строение отличается от типичного для систем IV типа. Система BspLU11III состоит из двух ДНК-метилтрансфераз (А и В) и одной эндонуклеазы, которая тоже обладает метилазной активностью (модифицирует аденозин). Гены *bsplu11IIIMa*, *bsplu11IIIMb* и *bsplu11IIIR* расположены рядом друг с другом. Метилазы распознают сайт 5'-GGGAC-3'/5'-GTCCC-3'. Метилаза А модифицирует аденозин, а метилаза В – цитозин (метилируемые нуклеотиды подчеркнуты в последовательности сайта узнавания). Образующий метилазой N6-метиладенозин защищает ДНК от гидролиза этой же нуклеазой [6].

Некоторые современные технологии высокопроизводительного секвенирования способны отличать модифицированные нуклеотиды от немодифицированных [7], что при достаточном количестве данных позволяет выявить большинство модифицированных позиций в геноме, а во многих случаях и установить последовательность нуклеотидов, распознаваемых метилазой. Сопоставление распознаваемых последовательностей с предсказанными *in silico* свойствами аннотированных в геномной последовательности метилаз (при малом их количестве) позволяет определить специфичность каждой из них. Такой анализ не может непосредственно решить вопрос о специфичности конкретной системы IV типа, но способен исключить последовательности, которые она не должна распознавать. Также можно рассчитывать, что изучение профилей метилирования многих родственных штаммов упростит и определение специфичности систем IV типа.

Поскольку к настоящему времени информация о профилях метилирования геномов пектобактерий в опубликованной литературе отсутствует, в качестве первого шага к пониманию этих очень переменчивых систем пектобактерий в данной работе проанализированы системы рестрикции-модификации одного из штаммов этого фитопатогена с использованием возможностей технологии Oxford Nanopore. В качестве непосредственного объекта изучения был выбран штамм со сложным набором систем, включая систему IV типа.

Материалы и методы исследования

В работе использован штамм *Pectobacterium carotovorum* 2A из коллекции кафедры молекулярной биологии БГУ.

Секвенирование генома выполнено с применением двух комплементарных технологий. Тотальную ДНК выделяли с помощью набора реактивов Bacteria DNA Preparation – Solution Kit (*Jena Bioscience*, Германия). Для приготовления библиотек ДНК использовали набор реактивов NEBNext (*New England Biolabs*, США) или Ligation Sequencing Kit (*Oxford Nanopore Technologies*, Великобритания) для последующего секвенирования с помощью технологии Illumina или Oxford Nanopore. Определение нуклеотидных последовательностей проводили с применением геномных секвенаторов MiSeq (комплект реактивов MiSeq Reagent Kit v3, MS-102-3003) (*Illumina*, США), а также MinION Mk1B (*Oxford Nanopore Technologies*) с проточной ячейкой R9.4.1. Демультимплексирование и фильтрацию данных технологии Oxford Nanopore выполняли в программе *Varapost v. 2020-11-16* [8]. Гибридную сборку геномной последовательности с применением длинных и коротких прочтений осуществляли с помощью ассемблеров *SPAdes v. 3.14.1* [9] и *Flye v. 2.8.2* [10] (последний использовал только данные технологии Oxford Nanopore). Проверку и коррекцию сборки проводили в программе *Pilon v. 1.23* [11].

Аннотация геномной последовательности выполнялась с помощью конвейера *NCBI PGAP v. 5.0* [12]. Анализ набора систем метилирования штаммов *P. versatile*, *P. carotovorum* и *P. atrosepticum* проводился с использованием данных *REBASE* [13]. Поиск сходных систем метилирования осуществлялся с помощью алгоритма *BLAST* [14] в базе данных *GenBank* [15].

Для анализа профилей метилирования с использованием данных нанопорового секвенирования применялся программный пакет *Tombo* [16]. Для построения профилей метилирования использовались алгоритм *de novo* и алгоритмы, детектирующие N6-метиладенозин и 5-метилцитозин. Полученные последовательности вокруг сайтов метилирования извлекались в виде файла в формате *fasta*. Соответствующие



мотивы идентифицировались в этих последовательностях с помощью программы *MEME* [17] и представлялись в форме лого. Извлеченные программой *MEME* мотивы анализировались в пакете *Tombo* для выяснения позиции метилирования и статистической проверки. Сходные результаты, полученные при использовании разных моделей, расценивались как наиболее вероятные.

Результаты и их обсуждение

Анализ геномов пектобактерий показывает, что гены систем рестрикции-модификации относятся к числу наиболее переменных в геноме. Например, секвенированные нами ранее геномы изолированных в Беларуси штаммов *P. atrosepticum* 21A [18] и 36A (коды доступа в базе данных *GenBank* – CP009125 и CP024956), а также *P. versatile* 3-2 и 14A (CP024842 и CP034276) имеют практически полную геновую синтению и среднюю нуклеотидную идентичность (ANI) порядка 99 %, однако очень разные наборы генов рестрикции-модификации. Интересно, что только штамм *P. versatile* 3-2, наиболее устойчивый из этих четырех штаммов к введению чужеродной ДНК, обладал зависящей от метилирования системой рестрикции IV типа. Для оценки вклада такой системы рестрикции в устойчивость к чужеродной ДНК из коллекции штаммов пектобактерий кафедры для анализа генома был отобран еще один локальный изолят 2А, близкий по многим свойствам к штамму *P. versatile* 3-2.

Расшифровка геномной последовательности штамма 2А (депонирована в базе данных *GenBank* с кодом доступа CP066552) выявила одну кольцевую хромосому с длиной, чуть меньшей типичных для пектобактерий 5 млн пар нуклеотидов (п. н.) (табл. 1). Следует отметить высокое качество геномной последовательности, достигнутое благодаря использованию двух технологий секвенирования и большой глубине прочтения ($\times 450$).

Таблица 1

Общая статистика генома *P. carotovorum* 2А

Table 1

General statistics of the *P. carotovorum* 2A genome

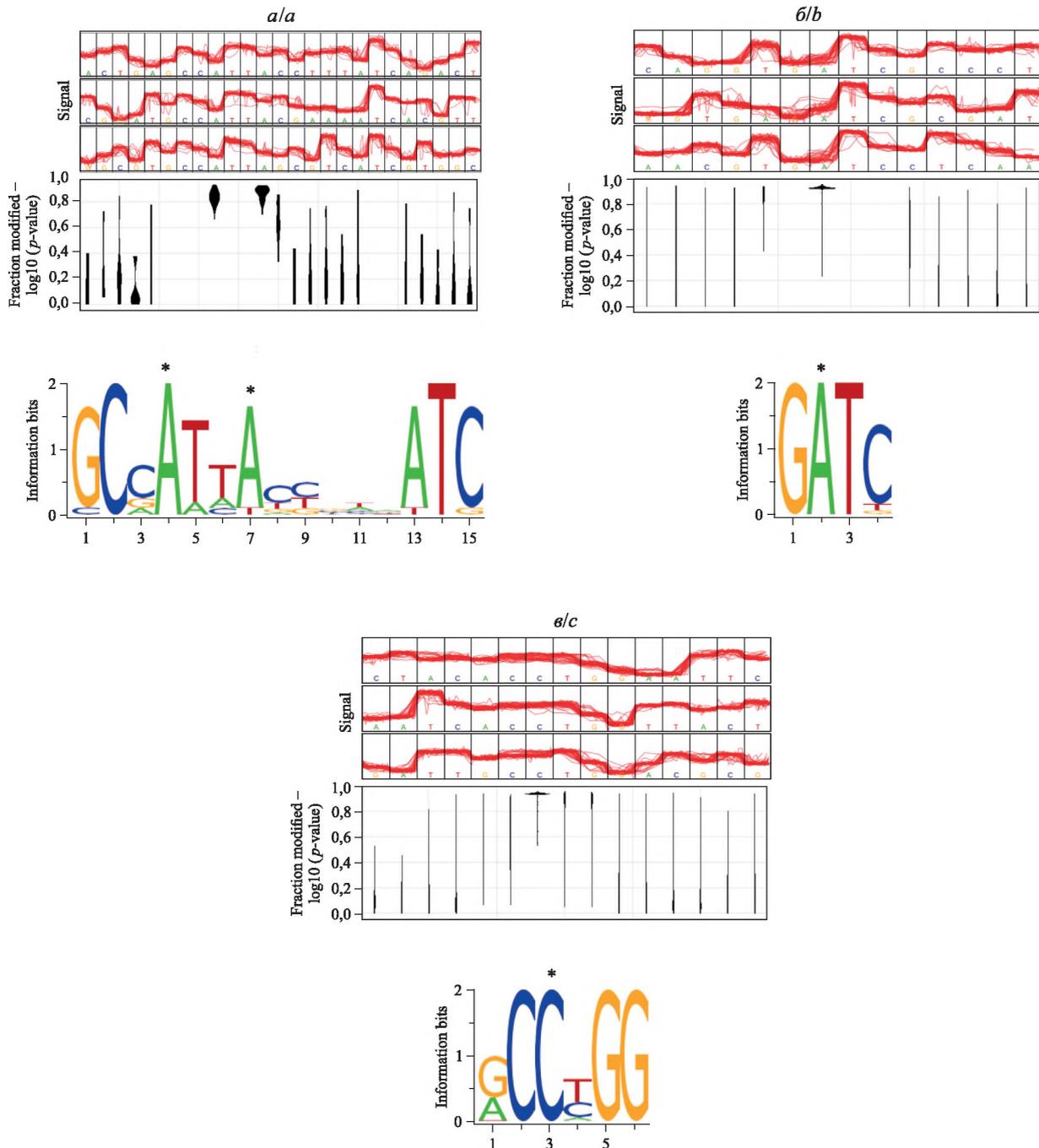
| Элемент | Количество в геноме, шт. | Общая длина в геноме, п. н. | Процент от длины генома |
|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Хромосома | 1 | 4 743 928 | 100,0 |
| Ген | 4125 | 3 995 994 | 84,23 |
| Открытая рамка считывания | 4019 | 3 956 448 | 83,40 |
| тРНК | 76 | 5960 | 0,13 |
| рРНК | 22 | 32 083 | 0,68 |
| Рибопереключател | 7 | 1018 | 0,02 |
| Некодирующая РНК | 7 | 1150 | 0,02 |
| Область повторов | 5 | 6514 | 0,14 |
| Аттенуатор | 5 | 595 | 0,01 |
| тмРНК | 1 | 363 | 0,01 |

Вопреки ожиданиям, по показателю ANI 95 % штамм 2А оказался достаточно далек от изолятов *P. versatile*. Ближайшим из типовых штаммов является *P. carotovorum* DSM 30168 с ANI 95,6 %, что сегодня тоже считается недостаточным для надежной классификации. Таким образом, несмотря на формальное отнесение классификатором NCBI к виду *P. carotovorum*, штамм 2А занимает обособленное положение среди пектобактерий с секвенированными геномами. Тем не менее в геномной последовательности штамма 2А присутствует полный набор генов системы рестрикции IV типа, гомологичный таковому штамму *P. versatile* 3-2, а также гены еще четырех (полных или частичных) систем рестрикции-модификации (табл. 2).

Довольно большое число прочтений, полученных с помощью технологии Oxford Nanopore, позволило оценить потенциальную возможность использования этих данных для исследования профиля метилирования генома. Выполненный с применением пакета *Tombo* анализ (см. рисунок; табл. 2) выявил для штамма 2А три метилированные последовательности: G(m6A)TC (Dam-метилирование, стандартное для всех бактерий), C(m5C)rGGy (вариант широко распространенного Dcm-метилирования) и GCc(m6A)Tt(m6A)yyNNNATC. Последний мотив является уникальным для этого штамма и, скорее



всего, используется полной системой рестрикции I типа (JFY74_02635 – JFY74_02645). Типичный для систем I типа «разделенный» мотив в соответствии с анализом пакета *Tombo* имеет нетипичный характер метилирования: оба метилируемых остатка аденозина расположены в одной половине сайта узнавания. Поиск в базах данных NCBI гомологичных субъединиц специфичности выявил всего восемь частичных гомологов (только одного из двух субстратраспознающих доменов), что подчеркивает уникальность системы рестрикции I типа штамма 2A.



Консенсусные последовательности мишеней метилаз *P. carotovorum* 2A:

a – JFY74_02635 (система типа I); *b* – метилаза Dam (JFY74_19045);
c – JFY74_00755 (система типа II, но с генами системы рестрикции типа IV в опероне).

Метилированные нуклеотиды отмечены звездочками

Consensus sequences of methylase targets of *P. carotovorum* 2A:

a – JFY74_02635 (type I system); *b* – Dam methylase (JFY74_19045);
c – JFY74_00755 (type II system, but in the operon with genes of the type IV restriction system).

Methylated nucleotides are marked with asterisks



Метилазы систем рестрикции-модификации штамма *P. carotovorum* 2A

Table 2

Methylases of *P. carotovorum* 2A restriction-modification systems

| Тип | Идентификатор локуса | Профиль метилирования | Состав оперона |
|-----|----------------------|-------------------------|---|
| I | JFY74_02635 | GCc(m6A)Tt(m6A)yyNNNATC | <i>JFY74_02635, JFY74_02640, JFY74_02645</i> |
| | JFY74_12810 | – | <i>JFY74_12810</i> |
| II | JFY74_19045 | G(m6A)TC | <i>dam</i> |
| | JFY74_02700 | – | <i>JFY74_02700</i> |
| IV | JFY74_00755 | C(m5C)rGGy | <i>JFY74_00750, JFY74_00755, JFY74_00760, JFY74_00765</i> |

Еще одна рамка считывания (JFY74_12810) с выраженной гомологией с ДНК-метиلاзами, скорее всего, неактивна, так как содержит протяженную делецию в центральной части рамки, затрагивающую важные для метилазы функциональные участки.

Интересной является метилаза Dcm-типа, ген которой расположен в одном опероне с генами системы рестрикции, наиболее близкой к IV типу. Поскольку такие рестриктазы распознают метилированную ДНК, наличие в одном опероне с этой рестриктазой метилазы ставит вопрос о ее роли (или роли сцепленной рестриктазы). Сравнение с геномами других пектобактерий выявило четыре штамма с системами данного типа, имеющими существенное сходство на протяжении всего оперона из четырех генов (табл. 3). В целом сходная система штамма *P. versatile* 3-2 имеет радикальные отличия второго гена оперона (метилазы Dcm-типа).

Таблица 3

Процент идентичности нуклеотидной последовательности систем рестрикции IV типа

Table 3

Percentage of the nucleotide sequence identity between type IV restriction systems

| Штамм | Штамм | | | | |
|---|--------------------------|----------------------------|---|-------------------------------|--------------------------|
| | <i>P. carotovorum</i> 2A | <i>P. odoriferum</i> JK2.1 | <i>P. carotovorum</i> subsp. <i>brasiliense</i> BC1 | <i>P. versatile</i> DSM 30169 | <i>P. versatile</i> F131 |
| <i>P. carotovorum</i> 2A | 100,0 | 91,65 | 90,23 | 89,36 | 89,35 |
| <i>P. odoriferum</i> JK2.1 | 91,58 | 100,0 | 87,46 | 92,99 | 92,98 |
| <i>P. carotovorum</i> subsp. <i>brasiliense</i> BC1 | 90,19 | 87,44 | 100,0 | 88,35 | 88,33 |
| <i>P. versatile</i> DSM 30169 | 89,35 | 92,88 | 88,73 | 100,0 | 99,98 |
| <i>P. versatile</i> F131 | 89,58 | 92,97 | 88,36 | 99,98 | 100,0 |

Примечание. Сравнивались системы IV типа с гомологией по отношению к таковой штамма *P. carotovorum* 2A на протяжении не менее 95 % длины всего оперона.

Заключение

Анализ систем рестрикции-модификации штамма *P. carotovorum* 2A выявил уникальную систему рестрикции-модификации I типа с необычным характером метилирования и без известных близких гомологов, а также редкую комбинацию в одном опероне генов системы рестрикции IV типа с метилазой Dcm-типа. С помощью технологии Oxford Nanopore установлены последовательности, распознаваемые тремя метилазами этого штамма.



В настоящее время стандартом при анализе профилей метилирования является технология Pacific Biosciences (PacBio). В частности, геномный раздел *REBASE* использует только данные этой технологии для определения специфичности метилирования. Однако из 64 штаммов пектобактерий, представленных в *REBASE*, данные PacBio имеются только для одного. Проведенный анализ показывает, что значительно более доступная технология Oxford Nanopore позволяет охарактеризовать профили метилирования бактериального штамма со сложным характером модификации ДНК, а также спланировать эксперименты по преодолению рестрикции для конкретного штамма.

Библиографические ссылки / References

1. Kennaway CK, Taylor JE, Chun Feng Song, Potrzebowski W, Nicholson W, White JH, et al. Structure and operation of the DNA-translocating type I DNA restriction enzymes. *Genes & Development*. 2012;26(1):92–104. DOI: 10.1101/gad.179085.111.
2. Pingoud A, Wilson GG, Wende W. Type II restriction endonucleases – a historical perspective and more. *Nucleic Acids Research*. 2014;42(12):7489–7527. DOI: 10.1093/nar/gku447.
3. Loenen WAM, Dryden DTF, Raleigh EA, Wilson GG, Murray NE. Highlights of the DNA cutters: a short history of the restriction enzymes. *Nucleic Acids Research*. 2014;42(1):3–19. DOI: 10.1093/nar/gkt990.
4. Loenen WAM, Raleigh EA. The other face of restriction: modification-dependent enzymes. *Nucleic Acids Research*. 2014;42(1):56–69. DOI: 10.1093/nar/gkt747.
5. Ishikawa K, Fukuda E, Kobayashi I. Conflicts targeting epigenetic systems and their resolution by cell death: novel concepts for methyl-specific and other restriction systems. *DNA Research*. 2010;17(6):325–342. DOI: 10.1093/dnares/dsq027.
6. Lepikhov K, Tchernov A, Zheleznaja L, Matvienko N, Walter J, Trautner TA. Characterization of the type IV restriction modification system BspLU11III from *Bacillus* sp. LU11. *Nucleic Acids Research*. 2001;29(22):4691–4698. DOI: 10.1093/nar/29.22.4691.
7. Gouil Q, Keniry A. Latest techniques to study DNA methylation. *Essays in Biochemistry*. 2019;63(6):639–648. DOI: 10.1042/EBC20190027.
8. Sikolenko M, Valentovich L. Barapost: binning of nucleotide sequences according to taxonomic annotation. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*. 2020:1–1. DOI: 10.1109/TCBB.2020.3009780.
9. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*. 2012;19(5):455–477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
10. Kolmogorov M, Yuan J, Yu Lin, Pevzner PA. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology*. 2019;37(5):540–546. DOI: 10.1038/s41587-019-0072-8.
11. Walker BJ, Abeel T, Shea T, Priest M, Abouelliel A, Sakthikumar S. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLoS One*. 2014;9(11):e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.
12. Tatusova T, DiCuccio M, Badretdin A, Chetvermin V, Nawrocki EP, Zaslavsky L, et al. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(14):6614–6624. DOI: 10.1093/nar/gkw569.
13. Roberts RJ, Vincze T, Posfai J, Macelis D. REBASE – a database for DNA restriction and modification: enzymes, genes and genomes. *Nucleic Acids Research*. 2015;43(D1):D298–D299. DOI: 10.1093/nar/gku1046.
14. Boratyn G, Camacho C, Federhen S, Merezhuk Yu, Madden T, Schoch C, et al. MOLE-BLAST a new tool to search and classify multiple sequences [Internet; cited 2021 June 15]. Available from: http://mirror.ufs.ac.za/blast/documents/moleblast_poster2014.pdf.
15. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, et al. GenBank. *Nucleic Acids Research*. 2013;41(D1):D36–D42. DOI: 10.1093/nar/gks1195.
16. Stoiber M, Quick J, Egan R, Ji Eun Lee, Celniker S, Neely RK, et al. *De novo* identification of DNA modifications enabled by genome-guided nanopore signal processing. *BioRxiv* 094672 [Preprint]. 2016 [cited 2021 June 15]. Available from: <https://doi.org/10.1101/094672>.
17. Bailey TL, Johnson J, Grant CE, Noble WS. The MEME suite. *Nucleic Acids Research*. 2015;43(Web Server issue):W39–W49. DOI: 10.1093/nar/gkv416.
18. Nikolaichik Ye, Gorshkov V, Gogolev Yu, Valentovich L, Evtushenkov A. Genome sequence of *Pectobacterium atrosepticum* strain 21A. *Genome Announcements*. 2014;2(5):e00935-14. DOI: 10.1128/genomeA.00935-14.

Получена 18.09.2021 / принята 18.10.2021.
Received 18.09.2021 / accepted 18.10.2021.

УДК 582.282

ФИТОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НА ЧУЖЕРОДНЫХ РАСТЕНИЯХ ИЗ ИЗДАНИЯ «ЧЕРНАЯ КНИГА ФЛОРЫ БЕЛАРУСИ: ЧУЖЕРОДНЫЕ ВРЕДНОСНЫЕ РАСТЕНИЯ»

**В. Д. ПОЛИКСЕНОВА¹⁾, А. К. ХРАМЦОВ¹⁾, И. С. ГИРИЛОВИЧ¹⁾,
Н. А. ЛЕМЕЗА¹⁾, С. Г. СИДОРОВА¹⁾, М. А. СТАДНИЧЕНКО¹⁾**

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

В ходе проведенных исследований выявлены 228 видов фитопатогенных микромицетов, которые паразитировали на чужеродных растениях, включенных в издание «Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения» (Минск, 2020). Фитопатогены были обнаружены на 182 видах (56,5 %) из 322 видов растений, указанных в данном издании. Отмечено, что среди выявленных фитопатогенных микромицетов только 92 вида и внутривидовых таксона (40,4 %) принадлежат к чужеродным для Республики Беларусь. Очевидно, эти фитопатогены являются узкоспециализированными и в настоящее время паразитируют только на указанных инвазивных видах растений. Остальные 136 видов и внутривидовых таксонов (59,6 %) поражают как аборигенные, так и чужеродные виды растений.

Ключевые слова: фитопатогенные микромицеты; чужеродные растения; Беларусь; микобиота.

Образец цитирования:

Поликсенова ВД, Храмцов АК, Гирилович ИС, Лемеза НА, Сидорова СГ, Стадниченко МА. Фитопатогенные микромицеты на чужеродных растениях из издания «Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения». *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:78–87.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-78-87>

For citation:

Poliksenova VD, Khramtsov AK, Hirilovich IS, Lemeza NA, Sidorova SG, Stadnichenko MA. Phytopathogenic micromycetes on alien plants from the publication «Black book of the flora of Belarus: alien harmful plants». *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:78–87. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-78-87>

Авторы:

Валентина Дмитриевна Поликсенова – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, доцент кафедры ботаники биологического факультета.

Александр Константинович Храмцов – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры ботаники биологического факультета.

Иван Сергеевич Гирилович – кандидат биологических наук, инженер-дендролог ботанического сада кафедры ботаники биологического факультета.

Николай Алексеевич Лемеза – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры ботаники биологического факультета.

Светлана Георгиевна Сидорова – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры ботаники биологического факультета.

Марина Алексеевна Стадниченко – старший преподаватель кафедры ботаники биологического факультета.

Authors:

Valentina D. Poliksenova, PhD (agricultural sciences), docent; associate professor at the department of botany, faculty of biology.

polyksenova@gmail.com

Alexander K. Khramtsov, PhD (biology), docent; associate professor at the department of botany, faculty of biology.

Ivan S. Hirilovich, PhD (biology); engineer-dendrologist at the botanical garden, department of botany, faculty of biology.

Nikolai A. Lemeza, PhD (biology), docent; associate professor at the department of botany, faculty of biology.

Svetlana G. Sidorova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of botany, faculty of biology.

Marina A. Stadnichenko, senior lecturer at the department of botany, faculty of biology.



PHYTOPATHOGENIC MICROMYCETES ON ALIEN PLANTS FROM THE PUBLICATION «BLACK BOOK OF THE FLORA OF BELARUS: ALIEN HARMFUL PLANTS»

V. D. POLIKSENOVA^a, A. K. KHRAMTSOV^a, I. S. HIRILOVICH^a,
N. A. LEMEZA^a, S. G. SIDOROVA^a, M. A. STADNICHENKO^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: V. D. Poliksenova (polyksenova@gmail.com)

The 228 species of phytopathogenic micromycetes parasitising alien plants included in the publication «Black book of the flora of Belarus: alien harmful plants» (Minsk, 2020) were identified in the course of the conducted research. It was found that out of 322 plant species listed in this edition phytopathogenic micromycetes were found on 182 species (56.5 %). It is noted that among the phytopathogenic micromycetes only 92 species and intraspecific taxon (40.4 %) belong to the alien species of the Republic of Belarus. Obviously, these phytopathogens are highly specialised and currently parasitise only on these invasive plant species. The remaining 136 species and intraspecific taxon (59.6 %) affect both native and alien plant species.

Keywords: phytopathogenic micromycetes; alien plants; Belarus; micobiota.

Введение

Чужеродные виды растений, распространяясь в новые для них регионы, являются одним из векторов проникновения на эти территории фитопатогенных микромицетов и грибоподобных организмов. Кроме того, на чужеродные виды растений могут распространиться аборигенные виды фитопатогенов, поражающие близкородственные растения в данной местности [1]. Владение информацией о таксономическом разнообразии фитопатогенной микобиоты на чужеродных растениях конкретного региона является важной частью стратегии защиты его растительных сообществ от нежелательных последствий инвазий растений и микромицетов.

Выход в свет издания «Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения» (далее – «Черная книга флоры Беларуси») [2] побудил нас провести исследование, направленное на установление перечня видов фитопатогенных микромицетов, поражающих чужеродные растения флоры республики.

Материалы и методы исследования

Данная работа представляет собой итог анализа гербарных сборов фитопатогенных микромицетов, хранящихся в гербарии кафедры ботаники биологического факультета БГУ (MSKU). Семейства растений приведены согласно изданию «Определитель высших растений Беларуси» [3], названия микромицетов – в соответствии с международной микологической глобальной базой данных *Index Fungorum*¹.

Представленные в настоящей публикации сведения получены в ходе выполнения научно-исследовательской работы «Распространение потенциально инвазивных фитопатогенных видов грибов в естественных и антропогенно трансформированных фитоценозах» в рамках проекта «Оценка угроз и разработка системы рисков от внедрения инвазивных видов в нативные сообщества как элемент экологической безопасности Республики Беларусь».

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований установлено, что фитопатогенные микромицеты паразитировали на 182 видах (56,5 %) из 322 видов чужеродных растений, указанных в «Черной книге флоры Беларуси» [2].

Ниже приведен перечень выявленных фитопатогенных микромицетов (чужеродные для Беларуси виды патогенов отмечены звездочкой [4–12]).

Фитопатогенные микромицеты на наиболее вредоносных видах чужеродных растений «Черной книги флоры Беларуси»:

- семейство Fagaceae – *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. var. *alphitoides* [13] на *Quercus rubra* L.;
- семейство Cucurbitaceae – **Golovinomyces cucurbitacearum* (R. Y. Zheng & G. Q. Chen) Vakal. & Kliron. [13], *Alternaria* sp. [14] на *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & Gray;
- семейство Salicaceae – *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13], *Pollaccia radiosa* (Lib.) E. Bald. & Cif. [15], *Marssonina populi* (Lib.) Magnus [15] на *Populus alba* L.;

¹*Index Fungorum* [Electronic resource]. URL: www.indexfungorum.org/names/names.asp (date of access: 10.04.2021).



- семейство Rosaceae – **Podosphaera amelanchieris* Maurizio [13], **Phyllosticta innumerabilis* Peck [13], **Ascochyta amelanchieris* Melnik [13] на *Amelanchier spicata* (Lam.) C. Koch; *Podosphaera aphanis* (Wallr.) U. Braun & S. Takam. var. *aphanis* [13] на *Geum macrophyllum* Willd.;
- семейство Fabaceae – *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun [13] на *Sarothamnus scoparius* (L.) Koch; *Erysiphe intermedia* (U. Braun) U. Braun [13], **Septoria lupini* Harkn. [16], **Ceratophorum setosum* Kirchn. [6] на *Lupinus polyphyllus* Lindl.; **Erysiphe palczewskii* (Jacz.) U. Braun & S. Takam. [13], **E. pseudoacaciae* (P. D. Marchenko) U. Braun & S. Takam. [13], **Septoria robiniae* (Lib.) Desm. [17] на *Robinia pseudoacacia* L.;
- семейство Onagraceae – *Podosphaera epilobii* (Wallr.) de Bary [13] на *Epilobium adenocaulon* Hausskn.; *Erysiphe polygoni* DC. [13] на *Rumex confertus* Willd.; **Peronospora arthurii* Farl. [18], **Erysiphe howeana* U. Braun [6; 13], **Septoria oenotherae* Westend. [19] на *Oenothera biennis* L.; **Peronospora arthurii* Farl. [18], **Erysiphe howeana* U. Braun [13] на *Oenothera rubricaulis* Klebahn;
- семейство Elaeagnaceae – **Phyllactinia hippophaës* Thüm. ex S. Blumer [20] на *Hippophaë rhamnoides* L.;
- семейство Aceraceae – *Sawadaea bicornis* (Wallr.: Fr.) Homma [13], **Septomyxa negundinis* Allesch. [6; 19], *Phyllosticta acerina* Allesch. [17], **Ph. negundinis* Sacc. & Speg. [12] на *Acer negundo* L.;
- семейство Balsaminaceae – **Plasmopara obducens* J. Schröt. [18], **Puccinia komarovii* Tranzschel ex P. Syd. & Syd. [6; 21] на *Impatiens parviflora* DC.;
- семейство Ариáceе: *Plasmopara nivea* (Unger) J. Schröt. [18], *Erysiphe heraclei* DC. [13]; **Ramularia archangelicae* Lindr. [6] на *Archangelica officinalis* Hoffm.; *Erysiphe heraclei* DC. [13] на *Heracleum sosnowskyi* Manden.;
- семейство Caprifoliaceae – **Erysiphe vanbruntiana* (Gerard) U. Braun & S. Takam. var. *sambuci-racemosae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. [13] на *Sambucus nigra* L.; **Erysiphe vanbruntiana* (Gerard) U. Braun & S. Takam. var. *sambuci-racemosae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. [13; 22], **Phyllosticta sambucicola* (Kalchbr.) Sacc. [12] на *Sambucus racemosa* L.;
- семейство Asteraceae – **Golovinomyces asterum* (Schwein.) U. Braun var. *asterum* [13], **Coleosporium asterum* (Dietel) Syd. & P. Syd. [20] на *Aster novi-belgii* L. и *A. × salignus* Willd.; **Golovinomyces asterum* (Schwein.) U. Braun var. *asterum* [13] на *Aster × versicolor* Willd.; *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff [13] на *Bidens frondosa* L. и *B. connata* Mühlenb. ex Willd.; **Golovinomyces ambrosiae* (Schwein.) U. Braun & R. T. A. Cook [13] на *Helianthus tuberosus* L.; *Coleosporium tussilaginis* (Pers.) Lév. [21] на *Petasites hybridus* (L.) Gaertn.; *Podosphaera erigerontis-canadensis* (Lév.) U. Braun & T. Z. Liu [13], **Septoria stenactidis* Vill [6] на *Erigeron annuus* (L.) Pers. s. l.; *Golovinomyces asterum* var. *solidaginis* U. Braun [13], *Cercospora virgaureae* (Thüm.) Allesch. [13] на *Solidago canadensis* L.; *Golovinomyces asterum* var. *solidaginis* U. Braun [13] на *Solidago gigantea* Ait.; *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff [13] на *Xanthium albinum* (Widd.) H. Scholz; **Golovinomyces ambrosiae* (Schwein.) U. Braun & R. T. A. Cook [13] на *Cyclachaena xanthiifolia* (Nutt.) Fresen.;

• семейство Agaceae – **Ramularia aromatica* (Sacc.) Höhn. [6; 12] на *Acorus calamus* L.

Фитопатогенные микромицеты на агрессивных видах чужеродных растений, обладающих инвазионным потенциалом на территории Беларуси:

- семейство Рарауегасеае – **Peronospora chelidonii* Miyabe [18], **Erysiphe macleayae* R. Y. Zheng & G. Q. Chen [13; 23], *Melampsora magnusiana* G. H. Wagner [24], **Septoria chelidonii* (Lib.) Desm. [12; 14] на *Chelidonium majus* L.;
- семейство Euphorbiaceae – *Podosphaera euphorbiae* (Castagne) U. Braun & S. Takam. [13], *Melampsora euphorbiae* (Ficinus & C. Schub.) Castagne [24] на *Euphorbia cyparissias* L.;
- семейство Fabaceae – **Peronospora meliloti* Syd. [18], *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun [13] на *Melilotus albus* Medik.; *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun [13], **Cercospora meliloti* Oudem. [22] на *Melilotus officinalis* (L.) Pall.;
- семейство Asteraceae – **Golovinomyces asterum* (Schwein.) U. Braun var. *asterum* [13], **Coleosporium asterum* (Dietel) Syd. & P. Syd. [20] на *Aster lanceolatus* Willd.; *Bremia ovata* Sawada [18], *Podosphaera erigerontis-canadensis* (Lév.) U. Braun & T. Z. Liu [13], *Puccinia crepidis* J. Schröt. [25] на *Crepis tectorum* L.; **Basidiophora entospora* Roze & Cornu [18], *Podosphaera erigerontis-canadensis* (Lév.) U. Braun & T. Z. Liu [13], *Cercospora cana* (Sacc.) Sacc. [26] на *Coniza canadensis* (L.) Cronq.; *Oidium* sp. [13] на *Euthamia graminifolia* (L.) Nutt.; **Golovinomyces ambrosiae* (Schwein.) U. Braun & R. T. A. Cook [13] на *Rudbeckia laciniata* L.;

• семейство Роасеае – *Blumeria graminis* (DC.) Speer [13] на *Apera spica-venti* (L.) P. Beauv. и *Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.

Фитопатогенные микромицеты на слабоагрессивных видах чужеродных растений, обладающих инвазионным потенциалом на территории Беларуси:

- семейство Рапункуласеае – *Peronospora ranunculi* Gäum. [18], *Erysiphe aquilegiae* DC. var. *ranunculi* (Grev.) R. Y. Zheng & G. Q. Chen [13] на *Ranunculus sardous* Crantz;



- семейство Berberidaceae – **Erysiphe berberidis* DC. var. *berberidis* [13; 22], *Puccinia graminis* Pers. [25] на *Berberis vulgaris* L.;
- семейство Papaveraceae – **Peronospora arborescens* (Berk.) de Bary [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13], *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire [22] на *Papaver orientale* L.; **Peronospora arborescens* (Berk.) de Bary [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Papaver rhoeas* L.; **Peronospora arborescens* (Berk.) de Bary [18], **Alternaria papavericola* Woudenb. & Crous [13] на *Papaver setigerum* DC. (incl. *P. somniferum* L.); *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Papaver dubium* L.;
- семейство Caryophyllaceae – *Peronospora scleranthi* Rabenh. ex J. Schröt. [18] на *Scleranthus annuus* L.; *Peronospora obovata* Bonord. [18], *Puccinia arenariae* (Schumach.) J. Schröt. [25] на *Spergula arvensis* L.; **Alternaria saponariae* (Peck) Neerg. [27], **Phyllosticta saponariae* (Fuckel) Sacc. [12] на *Saponaria officinalis* L.; *Uromyces dianthi* (Pers.) Niessl [24], *Puccinia arenariae* (Schumach.) J. Schröt. [25], **Alternaria nobilis* (Vize) E. G. Simmons [27], *A. dianthicola* Neerg. [27], *Septoria dianthi* (Alb. & Schwein.) Desm. [22] на *Dianthus barbatus* L.;
- семейство Amaranthaceae – **Wilsoniana bliti* (Biv.) Thines [18], **Stagonospora atriplicis* (Westend.) Lind [26] на *Amaranthus retroflexus* L.;
- семейство Chenopodiaceae – **Peronospora farinosa* (Fr.) Fr. [18; 22], *Passalora dubia* (Riess) U. Braun [26] на *Chenopodium album* L.;
- семейство Polygonaceae – **Peronospora polygoni-convolvuli* A. Gustavsson [18], *Puccinia polygoni-amphibii* Pers. [21] на *Fallopia convolvulus* (L.) A. Love;
- семейство Violaceae – *Puccinia violae* (Schumach.) DC. [22], *Cercospora violae* Sacc. [22], *Ascochyta violae* Sacc. & Speg. [22], *Ramularia violae* Fuckel [22] на *Viola odorata* L.;
- семейство Cucurbitaceae – **Golovinomyces cucurbitacearum* (R. Y. Zheng & G. Q. Chen) Vakal. & Kliron. [13] на *Thladiantha dubia* Bunge;
- семейство Brassicaceae – **Hyaloperonospora niessliana* (Berl.) Constant. [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Alliaria petiolata* (M. Bieb.) Cavara et Grande; *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13], *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18], **Ramularia armoraciae* Fuckel [22], *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire [22], **A. brassicae* (Berk.) Sacc. [26], **Cercospora armoraciae* Sacc. [22] на *Armoracia rusticana* Gaertn., B. Mey. & Scherb.; *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch; **Peronospora buniadis* Gäum. [18], *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13], **Ramularia buniadis* Vestergr. [26] на *Bunias orientalis* L.; **Hyaloperonospora parasitica* (Pers.) Constant. [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13], *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18] на *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.; **Hyaloperonospora sisymbrii-sophiae* (Gäum.) Göker, Voglmayr & Oberw. [18], *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl; *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Erysimum canescens* Roth и *E. cheiranthoides* L.; *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Erysimum marschallianum* Andr. и *Sinapis arvensis* L.; *Hyaloperonospora brassicae* (Gäum.) Göker, Voglmayr, Riethm., Weiss & Oberw. [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Sinapis alba* L.; *Perofascia lepidii* (McAlpine) Constant. [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Lepidium densiflorum* Schrad.; *Hyaloperonospora brassicae* (Gäum.) Göker, Voglmayr, Riethm., Weiss & Oberw. [18] на *Raphanus raphanistrum* L.; *Hyaloperonospora brassicae* (Gäum.) Göker, Voglmayr, Riethm., Weiss & Oberw. [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13], **Alternaria japonica* Yoshii [27], **A. brassicae* (Berk.) Sacc. [27], **A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire [27], *A. alternata* (Fr.) Keissl. [27], *A. tenuissima* (Kunze) Wiltshire [27] на *Raphanus sativus* L.; *Hyaloperonospora rorippae-islandicae* (Gäum.) Göker, Voglmayr & Oberw. [18], *Phyllosticta herbarum* Westend. [20] на *Rorippa austriaca* (Crantz) Bess.; **Peronospora sisymbrii-officinalis* Gäum. [18], *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18] на *Sisymbrium altissimum* L.; **Hyaloperonospora sisymbrii-loeselii* (Gäum.) Göker, Riethm., Voglmayr, Weiss & Oberw. [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13] на *Sisymbrium loeselii* L.; *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18] на *Sisymbrium wolgensae* Bieb. ex E. Fourn.; **Hyaloperonospora thlaspeos-arvensis* (Gäum.) Göker, Riethm., Voglmayr, Weiss & Oberw. [18], *Albugo candida* (Pers.) Roussel [18], *Erysiphe cruciferarum* Opiz ex L. Junell [13; 28] на *Thlaspi arvense* L.;
- семейство Salicaceae – *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13], *Melampsora populnea* (Pers.) P. Karst. [15; 24], *M. laricis-populina* Kleb. [24], *M. allii-populina* Kleb. [24] на *Populus balsamifera* L.; *Taphrina populina* Fr. [15], *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13; 15], *Septoria populi* Desm. [15] на *Populus × berlinensis* (K. Koch) Dippel; *Taphrina populina* Fr. [15], *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13], *Melampsora populnea* (Pers.) P. Karst. [15; 24], *M. laricis-populina* Kleb. [24], *Marssonina populi* (Lib.) Magnus [26] на *Populus × canadensis* Moench; *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13], *Melampsora populnea* (Pers.) P. Karst. [15; 24] на *Populus longifolia* Fisch.; *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13], *Melampsora populnea* (Pers.) P. Karst. [15; 24] на *Populus suaveolens* Fisch.; *Phyllosticta cinerea* Pass. [15] на *Populus cv. Lettland*; *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr. var. *adunca* [13], *Melampsora salicina* Desm. [24], *M. epitea* Thüm. [24], *M. allii-fragilis* Kleb. [24] на *Salix fragilis* L.;



- семейство Grossulariaceae – **Podosphaera mors-uvae* (Schwein.) U. Braun & S. Takam. [13], *Puccinia caricina* DC. [25] на *Ribes alpinum* L.; **Podosphaera mors-uvae* (Schwein.) U. Braun & S. Takam. [13; 14], *Erysiphe grossulariae* (Wallr.) de Bary [13; 14] на *Grossularia uva-crispa* (L.) Mill.;
- семейство Rosaceae – *Monilia cinerea* Bonord. [22] на *Microcerasus tomentosa* (Thunb.) Eremin et Yushev; *Podosphaera tridactyla* (Wallr.) de Bary [13], *Cercospora cerasella* Sacc. [12], *Stigmia carpophila* (Lév.) M. B. Ellis [12], *Cylindrosporium hiemalis* (B. B. Higgins) Sacc. [12], **Phyllosticta pruni-avium* Allesch. [12] на *Cerasus avium* (L.) Moench; *Podosphaera tridactyla* (Wallr.) de Bary [13], *Cylindrosporium hiemalis* (B. B. Higgins) Sacc. [22], *Taphrina wiesneri* (Ráthay) Mix [22], *Stigmia carpophila* (Lév.) M. B. Ellis [22], *Monilia cinerea* Bonord. [22] на *Cerasus vulgaris* Mill.; *Podosphaera clandestina* (Wallr.: Fr.) Lév. var. *clandestina* [13], *Phyllactinia mali* (Duby) U. Braun [13], *Coryneum foliicola* Fuckel [22] на *Crataegus monogyna* Jacq. s. l.; *Podosphaera clandestina* (Wallr.: Fr.) Lév. var. *clandestina* [13], *Phyllactinia mali* (Duby) U. Braun [13] на *Crataegus rhipidophylla* Gand.; *Podosphaera clandestina* (Wallr.: Fr.) Lév. var. *clandestina* [13] на *Crataegus submollis* Sarg.; *Phytophthora fragaria* Hickman [18], *Podosphaera aphanis* (Wallr.) U. Braun & S. Takam. var. *aphanis* [13], *Ramularia grevilleana* (Tul. & C. Tul. ex Oudem.) Jorst. [14] на *Fragaria × ananassa* Duch.; *Podosphaera tridactyla* (Wallr.) de Bary [13] на *Pachus virginiana* (L.) Mill.; *Podosphaera ferruginea* (Schltdl.: Fr.) U. Braun & S. Takam. var. *ferruginea* [13] на *Poterium sanguisorba* L.; *Podosphaera tridactyla* (Wallr.) de Bary [13], *Erysiphe prunastri* DC. [13], *Ovularia circumscissa* Sorokin [22], *Phyllosticta prunicola* Opiz ex Sacc. [20] на *Prunus cerasifera* Ehrh.; *Peronospora sparsa* Berk. [18], *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary [13], *Phyllosticta rosarum* Pass. [13] на *Rosa canina* L.; *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary [13], *Cladosporium macrocarpum* Preuss [22] на *Rosa rugosa* Thunb.; *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary [13] на *Rosa glabrifolia* C. A. Mey. ex Rupr., *R. × malyi* A. Kem., *R. sherardii* Davies и *R. villosa* L.;
- семейство Fabaceae – **Erysiphe palczewskii* (Jacz.) U. Braun & S. Takam. [12; 13; 28], **E. robiniae* Grev. var. *robiniae* [12; 13], **Septoria caraganae* Henn. [17], *Ascochyta borjomi* Bondartsev [22], **A. caraganae* (Vestergr.) Melnik [20] на *Caragana arborescens* Lam.; *Erysiphe pisi* DC. var. *pisi* [13] на *Lathyrus tuberosus* L.; **Erysiphe galegae* U. Braun [13] на *Galega orientalis* Lam.; *Peronospora aestivalis* Syd. [18], *Erysiphe pisi* DC. var. *pisi* [13] на *Medicago sativa* L.; *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun [13] на *Onobrychis viciifolia* Scop.; *Peronospora trifolii-minoris* Gäum. [18], *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun [13] на *Trifolium campestre* Schreb.; *Peronospora trifoliorum* de Bary [18], *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun [13; 28], *Uromyces trifolii-repentis* Liro [24], *U. fallens* (Arthur) Barthol. [24] на *Trifolium hybridum* L.; *Peronospora viciae* (Berk.) de Bary [18], *Erysiphe pisi* DC. var. *pisi* [13] на *Vicia angustifolia* Reichard; *Erysiphe pisi* DC. [13], **Uromyces ervi* (Wallr.) Westend. [24], *U. viciae-fabae* (Pers.) J. Schröt. [24] на *Vicia hirsuta* (L.) S. F. Gray; *Erysiphe pisi* DC. var. *pisi* [13] на *Vicia × segetalis* Thuill.; *Peronospora viciae* (Berk.) de Bary [18], *Erysiphe pisi* DC. var. *pisi* [13] на *Vicia tetrasperma* (L.) Schreb. и *V. villosa* Roth;
- семейство Onagraceae – **Peronospora arthurii* Farl. [18], **Erysiphe howeana* U. Braun [13] на *Oenothera × wienii* Renner ex Rostański;
- семейство Aceraceae – *Sawadaea bicornis* (Wallr.) Homma [13] на *Acer tataricum* L.; *Sawadaea tulasnei* (Fuckel) Homma [13] на *Acer ginnala* Maxim.;
- семейство Oxalidaceae – **Erysiphe russellii* (Clinton) U. Braun & S. Takam. [12–14; 22; 28] на *Xanthoxalis stricta* (L.) Small;
- семейство Geraniaceae – *Peronospora erodii* Fuckel [18] на *Erodium cicutarium* (L.) L’Her.; *Peronospora conglomerata* Fuckel [18] на *Geranium pusillum* L.; *Uromyces geranii* (DC.) G. H. Oth & Wartm. [24] на *Geranium pyrenaicum* Burm. f.; *Plasmopara pusilla* (de Bary) J. Schröt. [18], *Podosphaera fugax* (Penz. & Sacc.) U. Braun & S. Takam. [13] на *Geranium sibiricum* L.;
- семейство Comaceae – *Erysiphe tortilis* (Wallr.: Fr.) Link [13; 22] на *Swida alba* (L.) Opiz;
- семейство Apiaceae – *Erysiphe heraclei* DC. [13; 22; 28] на *Carum carvi* L. и *Heracleum sibiricum* L.; **Plasmopara conii* (Casp.) Trotter [18], *Erysiphe heraclei* DC. [13; 22], **Puccinia conii* (F. Strauss) Fuckel [12] на *Conium maculatum* L.; *Plasmopara pastinacae* Sávul. & O. Sávul. [18], *Erysiphe heraclei* DC. [13], *Ramularia pastinacae* (P. Karst.) Lindr. & Vestergr. [22], *Alternaria dauci* (J. G. Kühn) J. W. Groves & Skolko [27] на *Pastinaca sativa* L. s. l.;
- семейство Oleaceae – *Erysiphe fraxinicola* U. Braun & S. Takam. [13] на *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. s. l.; *Phyllactinia fraxini* (DC.) Fuss [13], **Erysiphe syringae* Schwein. [12; 13], **E. syringae-japonicae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam. [12; 13; 28], *Botrytis cinerea* Pers. [17], **Gloeosporium syringae* Allesch. [17], **Cladosporium syringae* (Oudem.) Montem. [12; 20], **Ascochyta syringae* (Westend.) Bres. [12; 20], **Phyllosticta syringophila* Oudem. [12] на *Syringa vulgaris* L.;
- семейство Caprifoliaceae – *Erysiphe lonicerae* DC. var. *lonicerae* [13] на *Lonicera caprifolium* L.; *Erysiphe lonicerae* DC. var. *lonicerae* [13; 28], *Ascochyta tenerrima* Sacc. & Roum. [12; 13] на *Lonicera tatarica* L.; **Erysiphe symphoricarpi* (Howe) U. Braun & S. Takam. [12; 13], **Sphaceloma symphoricarpi* Barrus & Horsfall [12; 26] на *Symphoricarpos albus* (L.) S. F. Blake;



- семейство Dipsacaceae – *Podosphaera dipsacacearum* (Tul. & C. Tul.) U. Braun & S. Takam. [13] на *Dipsacus fullonum* L.;
- семейство Аросунные – *Oidium* sp. [13] на *Vinca minor* L.;
- семейство Convolvulaceae – *Erysiphe convolvuli* DC. var. *convolvuli* [13; 14; 28], *Ramularia convolvuli* Zaprom. [17], *Septoria convolvuli* Desm. [19], *S. longispora* Bondartsev [26] на *Convolvulus arvensis* L.;
- семейство Boraginaceae – *Erysiphe lycopsidis* R. Y. Zheng & G. Q. Chen [13; 28], *Ramularia anchusae* C. Massal. [21], *Puccinia recondita* Roberge ex Desm. [21] на *Anchusa officinalis* L.; *Golovinomyces cynoglossi* (Wallr.) V. P. Heluta [13; 28] на *Symphytum asperum* Lepech., *S. caucasicum* Bieb., *Echium vulgare* L. и *Myosotis sylvatica* Ehrh. ex Hoffm.; *Golovinomyces cynoglossi* (Wallr.) V. P. Heluta [13], *Puccinia bromina* Erikss. [25] на *Symphytum* × *uplandicum* Nym.; *Peronospora myosotidis* de Bary [18], *Golovinomyces cynoglossi* (Wallr.) V. P. Heluta [13; 28] на *Myosotis arvensis* (L.) Hill.;
- семейство Solanaceae – *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff [13], *Phyllosticta physaleos* Sacc. [12] на *Physalis alkekengi* L.; *Peronospora hyoscyami* de Bary [18], *Golovinomyces hyoscyami* (R. Y. Zheng & G. Q. Chen) V. P. Heluta [13], *Ascochyta hyoscyami* Lasch [12] на *Hyoscyamus niger* L.; *Alternaria solani* Sorauer [26] на *Datura stramonium* L.;
- семейство Lamiaceae – *Neoerysiphe galeopsidis* (DC.) U. Braun [13; 14] на *Ballota nigra* L., *Salvia verticillata* L. и *Galeopsis ladanum* L.; *Golovinomyces biocellatus* (Ehrenb.) V. P. Heluta [13], *Puccinia menthae* Pers. [25] на *Mentha arvensis* L.; *Golovinomyces biocellatus* (Ehrenb.) V. P. Heluta [13] на *Mentha* × *gracilis* Sole; *Golovinomyces biocellatus* (Ehrenb.) V. P. Heluta [13], *Puccinia menthae* Pers. [21] на *Mentha longifolia* (L.) L.; *Golovinomyces biocellatus* (Ehrenb.) V. P. Heluta [13], *Puccinia menthae* Pers. [25], *Ramularia menthicola* Sacc. [22] на *Mentha* × *piperita* L.; *Peronospora elsholtziae* T. R. Liu & C. K. Pai [18] на *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.; *Peronospora lamii* A. Braun [18], *Neoerysiphe galeopsidis* (DC.) U. Braun [13], *Ramularia lamiicola* C. Massal. [26] на *Lamium album* L.; *Peronospora lamii* A. Braun [18], *Neoerysiphe galeopsidis* (DC.) U. Braun [13; 28] на *Lamium purpureum* L.;
- семейство Asteraceae – *Golovinomyces artemisiae* (Grev.) V. P. Heluta [13] на *Artemisia abrotanum* L.; *Paraperonospora sulphurea* (Gum.) Constant. [18], *Albugo tragopogonis* (DC.) Gray [18], *Golovinomyces artemisiae* (Grev.) V. P. Heluta [13], *Puccinia tanacetii* DC. [25], *Cercospora ferruginea* Fuckel [20] на *Artemisia absinthium* L.; *Paraperonospora leptosperma* (de Bary) Constant. [18] на *Anthemis arvensis* L.; *Bremia lactucae* Regel [18], *Golovinomyces montagnei* U. Braun [13], *Puccinia cyani* Pass. [12; 22] на *Centaurea cyanus* L.; *Golovinomyces montagnei* U. Braun [13] на *Centaurea diffusa* Lam., *C. montana* L. и *C. stoebe* L.; *Oidium* sp. [13] на *Bellis perennis* L.; *Puccinia calcitrapae* DC. [25] на *Carduus nutans* L.; *Bremia sonchicola* (Schltdl.) Sawada [18], *Golovinomyces sonchicola* U. Braun & R. T. A. Cook [13; 14], *Coleosporium tussilaginis* (Pers.) Lév. [14; 21], *Spermosporina sonchi-oleracei* (Fautrey) U. Braun [14] на *Sonchus arvensis* L.; *Bremia lactucae* Regel [18], *Oidium* sp. [13] на *Gaillardia* × *grandiflora* Van Houtte; *Bremia lactucae* Regel [18], *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V. P. Heluta [13; 28] на *Lactuca serriola* L.; *Bremia lapsanae* Syd. [12; 18], *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V. P. Heluta [13], *Puccinia lapsanae* Fuckel [25], *Ramularia lapsanae* (Desm.) Sacc. [12; 26] на *Lapsana communis* L.; *Podosphaera erigerontis-canadensis* (Lév.) U. Braun & T. Z. Liu [13] на *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert; *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V. P. Heluta [13], *Puccinia hieracii* (Röhl.) H. Mart. [25], *Ramularia cichorii* Dearn. & House [20], *Cercospora cichorii* Davis [26] на *Cichorium intybus* L.; *Golovinomyces inulae* U. Braun & H. D. Shin [13] на *Inula helenium* L.; *Golovinomyces depressus* (Wallr.) V. P. Heluta [13] на *Onopordum acanthium* L.; *Golovinomyces ambrosiae* (Schwein.) U. Braun & R. T. A. Cook [13] на *Rudbeckia hirta* L.; *Paraperonospora leptosperma* (de Bary) Constant. [18] на *Lepidotheca suaveolens* (Pursh) Nutt.; *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff [13] на *Telekia speciosa* (Schreb.) Baumg.;
- семейство Iridaceae – *Phyllosticta iridis* Ellis & G. Martin [22], *Cladosporium iridis* (Fautrey & Roum.) G. A. de Vries [22], *Ascochyta iridis* Oudem. [22] на *Iris* × *germanica* L.;
- семейство Juncaceae – *Uromyces junci* Tul. [24] на *Juncus tenuis* Willd.;
- семейство Poaceae – *Puccinia coronata* Corda [21] на *Ceratochloa carinata* (Hook. & Arn.) Tutin; *Macalpinomyces neglectus* (Niessl) Vánky [12; 21], *Sporisorium destruens* (Schltdl.) Vánky [12] на *Setaria pumila* (Poir.) Roem. & Schult.; *Blumeria graminis* (DC.) Speer [13] на *Anisantha tectorum* (L.) Nevski, *Lolium perenne* L., *Arrhenatherum elatius* (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl и *Bromus mollis* L.

Зарегистрированные фитопатогены относились к 228 видам и внутривидовым таксонам из 47 родов, 12 семейств, 8 порядков, 7 классов, 4 отделов, 2 царств – Stramenopila и Fungi. Из числа обнаруженных микромицетов к псевдогрибам отдела Oomycota принадлежали 46 видов, к грибам отдела Ascomycota – 63, отдела Basidiomycota – 36, отдела Deuteromycota – 83 вида (рис. 1).

Среди отмеченных фитопатогенных микромицетов только 92 вида и внутривидовых таксона (40,4 %) принадлежат к чужеродным для Республики Беларусь [4–12]. Очевидно, они являются узкоспециализированными и в настоящее время паразитируют только на указанных инвазивных видах растений.



Остальные 136 видов и внутривидовых таксонов (59,6 %) поражают как аборигенные, так и чужеродные виды растений. Этот факт позволяет предположить, что данные микромицеты расширили свою трофическую нишу, перейдя с аборигенных на чужеродные для Беларуси растения.

Чужеродные растения, являющиеся хозяевами патогенов, отнесены к 128 родам, 37 семействам двудольных и однодольных покрытосеменных растений. Наибольшее количество питающих растений (38 видов, или 20,9 %) принадлежали к семейству Asteraceae – одному из ведущих семейств во флоре Беларуси (рис. 2).

На 32 видах (17,6 %) чужеродных растений «Черной книги флоры Беларуси», отнесенных к числу наиболее вредоносных, зарегистрированы 44 вида и внутривидовых таксона фитопатогенных микромицетов (19,3 % от общего количества выявленных). Из них к чужеродным принадлежит примерно половина (24 вида).

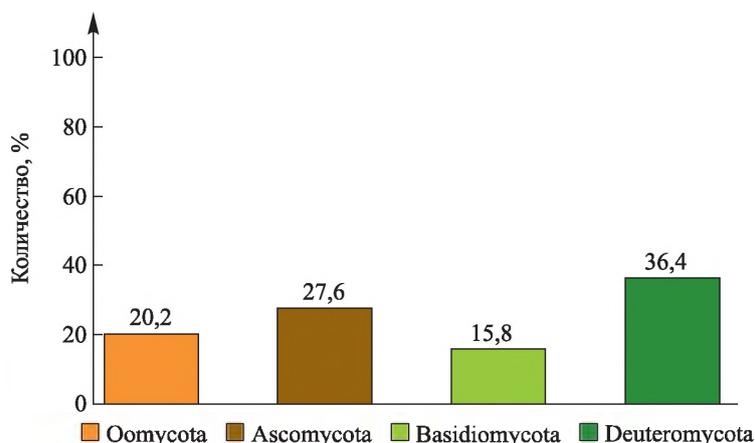


Рис. 1. Количественное распределение фитопатогенных микромицетов по отделам
 Fig. 1. Quantitative distribution of phytopathogenic micromycetes by divisions

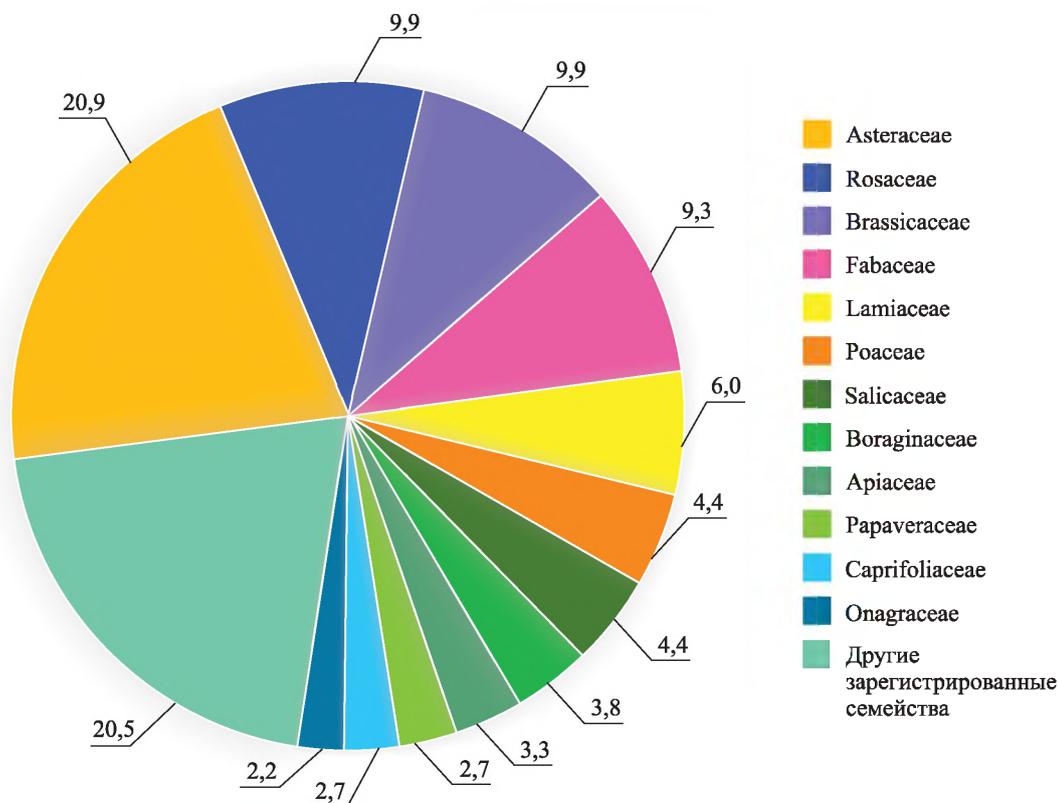


Рис. 2. Количественное распределение чужеродных растений флоры Беларуси, пораженных микромицетами, по семействам, %
 Fig. 2. Quantitative distribution of alien plants of the Belarusian flora affected by micromycetes by family, %



Наибольшее количество фитопатогенов (185 видов и внутривидовых таксонов, или 81,1 %) отмечено на 139 видах (76,4 %) слабоагрессивных чужеродных растений, обладающих инвазионным потенциалом на территории Беларуси. Около трети из них (62 вида) относятся к чужеродным.

Наименьшее число фитопатогенных микромицетов (19 видов и внутривидовых таксонов, или 8,3 %) выявлено на 11 видах (6,0 %) агрессивных чужеродных растений, обладающих инвазионным потенциалом на территории Беларуси. Чужеродные виды микромицетов в пределах этой группы растений представлены только 6 видами.

Таким образом, имеющаяся в нашем распоряжении информация подтверждает, что чужеродные (в том числе инвазивные) виды растений для ряда фитопатогенов являются векторами их проникновения на новые территории. В значительной мере это микромицеты с высокой степенью паразитизма, строго приуроченные в своем развитии к растению-хозяину.

Заключение

Проведенный анализ показал, что фитопатогенные микромицеты, представленные в гербарии кафедры ботаники биологического факультета БГУ, зарегистрированы не на всех чужеродных для Беларуси растениях. Данные исследования могут послужить основой многолетнего мониторинга в целях выявления на таких растениях новых видов фитопатогенных микромицетов.

Представленные в настоящей работе сведения следует учитывать при прогнозе расширения у чужеродных микромицетов круга питающих растений из числа аборигенных для республики видов, в том числе хозяйственно значимых и ресурсных. Результаты исследования также будут полезны при разработке мероприятий по защите культивируемых чужеродных растений от микозов. Информацию о поражаемости чужеродных растений микромицетами необходимо учитывать в процессе подбора ассортимента растений для озеленения населенных пунктов Беларуси.

Библиографические ссылки

1. Дьяков ЮТ, Левитин ММ. *Инвазии фитопатогенных грибов*. Москва: URSS; 2017. 260 с.
2. Дубовик ДВ, Савчук СС, Скуратович АН, Сысой ИП, Чумаков ЛС, Яковлева ИМ и др. *Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения*. Парфенов ВИ, Пугачевский АВ, редакторы. Минск: Беларуская навука; 2020. 407 с.
3. Сауткина ТА, Третьяков ДИ, Зубкевич ГИ, Козловская НВ, Парфенов ВИ, Блажевич РЮ и др. *Определитель высших растений Беларуси*. Парфенов ВИ, редактор. Минск: Дизайн ПРО; 1999. 472 с.
4. Поликсенова ВД, Храпцов АК. Чужеродные виды фитопатогенных микромицетов в Беларуси. В: Дьяков ЮТ, редактор. *Современная микология в России. Том 3. Материалы 3-го съезда микологов России*. Москва: Национальная академия микологии; 2012. с. 303–304.
5. Поликсенова ВД, Храпцов АК. К вопросу о чужеродных видах фитопатогенных микромицетов в Беларуси. В: Парфенов ВИ, Семенченко ВП, Семеренко ЛВ, Груммо ДГ, Анисова ЖМ, редакторы. *Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов. Материалы II Международной научно-практической конференции; 22–26 октября 2012 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Минсктипроект; 2012. с. 488–491.
6. Поликсенова ВД, Храпцов АК. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География*. 2015;3:43–48.
7. Поликсенова ВД, Джус МА, Храпцов АК, Сауткина ТА, Тихомиров ВН, Черник ВВ и др. Оценить роль антропогенно нарушенных территорий как потенциальных источников проникновения и спонтанного распространения чужеродных видов растений и фитопатогенных грибов (на примере минской городской агломерации): отчет о НИР (заключительный). Поликсенова ВД, научный руководитель. Минск: БГУ; 2015. 200 с. № ГР 20115799.
8. Поликсенова ВД, Джус МА, Храпцов АК, Сауткина ТА, Тихомиров ВН, Черник ВВ и др. Чужеродные растения и фитопатогенные микромицеты в Беларуси: реальная и потенциальная опасность. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География*. 2016;3:60–67.
9. Поликсенова ВД, Храпцов АК, Федорович МН. Чужеродные и инвазивные фитопатогенные микромицеты в естественных и искусственных фитоценозах Беларуси. В: Дьяков ЮТ, Сергеев ЮВ, редакторы. *Современная микология в России. Том 7. Материалы 4-го съезда микологов России*. Москва: Национальная академия микологии; 2017. с. 90–91.
10. Поликсенова ВД, Храпцов АК, Лемеза НА, Сидорова СГ, Стадниченко МА. Чужеродные для Беларуси микромицеты – паразиты растений, используемых в зеленом строительстве. В: Титок ВВ, Володько ИК, Гончарова ЛВ, Лунина НМ, Шпитальная ТВ, редакторы. *Состояние и перспективы развития зеленого строительства в Республике Беларусь. Тезисы Республиканского научно-практического семинара; 26–27 апреля 2018 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Медисонт; 2018. с. 149–152.
11. Поликсенова ВД, Храпцов АК, Лемеза НА, Сидорова СГ, Стадниченко МА, Федюшко ИА. Чужеродные виды фитопатогенных микромицетов в Беларуси: потенциальная опасность. В: *Микология и альгология в России, XX–XXI век: смена парадигм. Материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, 110-летию со дня рождения профессора М. В. Горленко, памяти профессора Ю. Т. Дьякова; 17–19 ноября 2018 г.; Москва, Россия*. Москва: Перо; 2018. с. 199–200.
12. Поликсенова ВД, научный руководитель. Распространение потенциально инвазивных фитопатогенных видов грибов в естественных и антропогенно трансформированных фитоценозах: отчет о НИР (заключительный). Минск: БГУ; 2020. 99 с. № ГР 20170292.
13. Гирилович ИС. *Мучнисторосяные грибы (порядок Erysiphales) Беларуси*. Минск: БГУ; 2018. 279 с.
14. Храпцов АК, Волосач МН. Фитопатогенные микромицеты Чашникского района Беларуси. *Экологический вестник*. 2016;2:40–48.



15. Храмов А.К. Микромитеты, паразитирующие на листьях тополей города Минска. В: *Грибы в природных и антропогенных экосистемах. Труды Международной конференции, посвященной 100-летию начала работы профессора А. С. Бондарцева в Ботаническом институте имени В. Л. Комарова РАН; 24–28 апреля 2005 г.; Санкт-Петербург, Россия. Том 2.* Санкт-Петербург: [б. и.]; 2005. с. 282–286.

16. Храмов А.К., Романович М.А. Микромитеты в составе фитопатоконплексов в фитоценозах Беларуси. В: Кундас С.П., Позняк С.С., Лыбуха Н.А., редакторы. *Сахаровские чтения 2013 года: экологические проблемы XXI века. Материалы 13-й Международной научной конференции; 16–17 мая 2013 г.; Минск, Беларусь.* Минск: МГЭУ имени А. Д. Сахарова; 2013. с. 200–201.

17. Поликсенова В.Д., Канаши Е.В. Фитопатогенные микромитеты лесопарков «Медвежино» и «Зеленый луг». В: Бученков И.Э., Хандогий А.В., редакторы. *Антропогенная динамика ландшафтов и проблемы сохранения и устойчивого использования биологического разнообразия. Материалы II Республиканской научно-практической конференции; 1–2 декабря 2004 г.; Минск, Беларусь.* Минск: БГПУ имени М. Танка; 2004. с. 94–96.

18. Гирилович И.С. *Грибоподобные организмы (порядок Peronosporales) Беларуси.* Минск: БГУ; 2013. 183 с.

19. Поликсенова В.Д., Фетина И.М. Фитопатогенные микромитеты на территории Пружанского района Брестской области. В: Пугачевский А.В., Пабашова Т.Г., Гапиенко О.С., Беломесяцева Д.Б., Яцyna А.П., редакторы. *Биология, систематика и экология грибов и лишайников в природных экосистемах и агрофитоценозах. Материалы II Международной научной конференции; 20–23 сентября 2016 г.; Минск – Каменюки, Беларусь.* Минск: Колорград; 2016. с. 177–181.

20. Лемеза Н.А., Гирилович И.С., Брода Е.А. Фитопатогенные микромитеты на территории города Столбцы. В: *Ботаника (исследования). Выпуск 49.* Минск: Колорград; 2020. с. 195–206.

21. Храмов А.К. Материалы о разнообразии головневых и ржавчинных грибов Национального парка «Нарочанский». В: *Ботаника (исследования). Выпуск 42.* Минск: Институт радиологии; 2013. с. 136–150.

22. Сауткина Т.А., Джус М.А., Тихомиров В.Н., Черник В.В., Долгая Т.Н. Современное состояние биоразнообразия растений и микромитетов как основа мониторинга ресурсов растительного мира центрального региона Белорусской гряды. Часть 2. Микромитеты: отчет о НИР (заключительный). Поликсенова В.Д., научный руководитель. Минск: БГУ; 2010. 192 с. № ГР 20063149.

23. Гирилович И.С., Лемеза Н.А. *Erysiphe macleayae* R. Y. Zheng et G. Q. Chen (порядок Erysiphales) – новый инвазивный вид в Беларуси. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2017;1:111–115.

24. Лемеза Н.А., Гирилович И.С. Ржавчинные грибы родов *Uromyces* и *Melampsora* на территории Минской возвышенности. В: Деревинский А.В., Таранчук А.В., Козлова-Козыревская А.Л., Жукова И.А., Деревинская А.А., Жудрик Е.В., редакторы. *Современные проблемы естествознания в науке и образовательном процессе. Сборник статей Республиканской научно-практической конференции с международным участием; 19 ноября 2019 г.; Минск, Беларусь* [Интернет]. Минск: БГПУ имени М. Танка; 2019 [процитировано 10 апреля 2021 г.]. с. 57–59. Доступно по: https://elibrary.ru/download/elibrary_42542563_42938058.pdf.

25. Гирилович И.С., Лемеза Н.А. Ржавчинные грибы рода *Russinia* на территории Минской возвышенности. В: Тихомиров В.Н., Поликсенова В.Д., Карпук В.В., Гельтман Д.В., Аначков Г., Сенников А.Н., редакторы. *Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты. Материалы III Международной научно-практической конференции; 11–13 ноября 2020 г.; Минск, Беларусь.* Минск: БГУ; 2020. с. 24–29.

26. Храмов А.К. Дополнение к перечню фитопатогенных анаморфных грибов Национального парка «Нарочанский». *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География.* 2013;3:36–40.

27. Федорович М.Н., Поликсенова В.Д. Грибы рода *Alternaria* Nees. в Беларуси. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География.* 2012;1:54–57.

28. Храмов А.К. Материалы о разнообразии фитопатогенных сумчатых микромитетов Национального парка «Нарочанский». *Экологический вестник.* 2014;3:98–105.

References

1. D'yakov YuT, Levitin MM. *Invazii fitopatogennykh gribov* [Invasions of phytopathogenic fungi]. Moscow: URSS; 2017. 260 p. Russian.
2. Dubovik DV, Savchuk SS, Skuratovich AN, Sysoi IP, Chumakov LS, Yakovleva IM, et al. *Chernaya kniga flory Belarusi: chuzherodnye vredenostnye rasteniya* [Black Book of the flora of Belarus: alien harmful plants]. Parfenov VI, Pugachevskii AV, editors. Minsk: Belaruskaja navuka; 2020. 407 p. Russian.
3. Sautkina TA, Tret'yakov DI, Zubkevich GI, Kozlovskaya NV, Parfenov VI, Blazhevich RYu, et al. *Opredelitel' vysshikh rastenii Belarusi* [The determinant of higher plants of Belarus]. Parfenov VI, editor. Minsk: Dizain PRO; 1999. 472 p. Russian.
4. Poliksenova VD, Khrantsov AK. [Alien species of phytopathogenic micromycetes in Belarus]. In: D'yakov YuT, editor. *Sovremennaya mikologiya v Rossii. Tom 3. Materialy 3-go s'ezda mikologov Rossii* [Modern mycology in Russia. Volume 3. Materials of the 3rd Congress of Russian mycologists]. Moscow: National Academy of Mycology; 2012. p. 303–304. Russian.
5. Poliksenova VD, Khrantsov AK. [On the issue of alien species of phytopathogenic micromycetes in Belarus]. In: Parfenov VI, Semenchenko VP, Semerenko LV, Grummo DG, Anisova ZhM, editors. *Problemy sokhraneniya biologicheskogo raznoobraziya i ispol'zovaniya biologicheskikh resursov. Materialy II Mezhduнародnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii; 22–26 oktyabrya 2012 g.; Minsk, Belarus* [Problems of biodiversity conservation and use of biological resources. Materials of the 2nd International scientific and practical conference; 2012 October 22–26; Minsk, Belarus]. Minsk: Minsktipproekt; 2012. p. 488–491. Russian.
6. Poliksenova VD, Khrantsov AK. [Alien phytopathogenic micromycetes of Belarus]. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya.* 2015;3:43–48. Russian.
7. Poliksenova VD, Dzhus MA, Khrantsov AK, Sautkina TA, Tikhomirov VN, Chernik VV, et al. [To assess the role of anthropogenically disturbed territories as potential sources of penetration and spontaneous spread of alien plant species and phytopathogenic fungi (on the example of the Minsk urban agglomeration): research report (conclusion)]. Poliksenova VD, supervisor. Minsk: Belarusian State University; 2015. 200 p. Report No. SR 20115799. Russian.
8. Poliksenova VD, Dzhus MA, Khrantsov AK, Sautkina TA, Tikhomirov VN, Chernik VV, et al. Alien plants and phytopathogenic micromycetes in Belarus: real and potential danger. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya.* 2016;3:60–67. Russian.
9. Poliksenova VD, Khrantsov AK, Fedorovich MN. [Alien and invasive phytopathogenic micromycetes in natural and artificial phytocenoses of Belarus]. In: D'yakov YuT, Sergeev YuV, editors. *Sovremennaya mikologiya v Rossii. Tom 7. Materialy 4-go s'ezda mikologov Rossii* [Modern mycology in Russia. Volume 7. Materials of the 4th Congress of Russian mycologists]. Moscow: National Academy of Mycology; 2017. p. 90–91. Russian.
10. Poliksenova VD, Khrantsov AK, Lemeza NA, Sidorova SG, Stadnichenko MA. [Micromycetes alien to Belarus – parasites of plants used in green construction]. In: Titok VV, Volod'ko IK, Goncharova LV, Lunina NM, Shpital'naya TV, editors. *Sostoyanie*



- i perspektivy razvitiya zelenogo stroitel'stva v Respublike Belarus'. Tezisy Respublikanskogo nauchno-prakticheskogo seminar; 26–27 aprelya 2018 g.; Minsk, Belarus'* [State and prospects for the development of green building in the Republic of Belarus. Theses of the Republican scientific and practical seminar; 2018 April 26–27; Minsk, Belarus]. Minsk: Medisont; 2018. p. 149–152. Russian.
11. Poliksenova VD, Khrantsov AK, Lemeza NA, Sidorova SG, Stadnichenko MA, Fedyushko IA. Alien species of phytopathogenic micromycetes in Belarus: potential danger. In: *Mikologiya i al'gologiya v Rossii, XX–XXI vek: smena paradig. Materialy Vserossiiskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 100-letiyu kafedry mikologii i al'gologii biologicheskogo fakul'teta MGU imeni M. V. Lomonosova, 110-letiyu so dnya rozhdeniya professora M. V. Gorlenko, pamyati professora Yu. T. Dyakova; 17–19 noyabrya 2018 g.; Moskva, Rossiya* [Mycology and algology in Russia, 20th–21st century: a change of paradigms. Materials of the All-Russian conference with international participation dedicated to the 100th anniversary of the department of mycology and algology, faculty of biology, Lomonosov Moscow State University, 110th anniversary of the birth of professor M. V. Gorlenko, in memory of professor Yu. T. Dyakov; 2018 November 17–19; Moscow, Russia]. Moscow: Pero; 2018. p. 199–200. Russian.
12. Poliksenova VD, supervisor. [Distribution of potentially invasive phytopathogenic fungi species in natural and anthropogenically transformed phytocenoses: research report (conclusion)]. Minsk: Belarusian State University; 2020. 99 p. Report No. SR 20170292. Russian.
13. Hirilovich IS. *Muchnistorosyanye griby (poryadok Erysiphales) Belarusi* [Powdery fungi (order Erysiphales) of Belarus]. Minsk: Belarusian State University; 2018. 279 p. Russian.
14. Khrantsov AK, Volosach MN. [Phytopathogenic micromycetes of the Chashniki region of Belarus]. *Ekologicheskii vestnik*. 2016;2:40–48. Russian.
15. Khrantsov AK. [Micromycetes parasitising on the leaves of poplars of the city of Minsk]. In: *Griby v prirodnykh i antropogennykh ekosistemakh. Trudy Mezhdunarodnoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu nachala raboty professora A. S. Bondartseva v Botanicheskom institute imeni V. L. Komarova RAN; 24–28 aprelya 2005 g.; Sankt-Peterburg, Rossiya. Tom 2* [Mushrooms in natural and anthropogenic ecosystems. Proceedings of the International conference dedicated to the 100th anniversary of the beginning of the work of professor A. S. Bondartsev at the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences; 2005 April 24–28; Saint Petersburg, Russia. Volume 2]. Saint Petersburg: [s. n.]; 2005. p. 282–286. Russian.
16. Khrantsov AK, Romanovich MA. [Micromycetes in the composition of phytopathocomplexes in phytocenoses of Belarus]. In: Kundas SP, Poznyak SS, Lysukho NA, editors. *Sakharovskie chteniya 2013 goda: ekologicheskie problemy XXI veka. Materialy 13-i Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii; 16–17 maya 2013 g.; Minsk, Belarus'* [Sakharov readings of 2013: ecological problems of the 21st century. Materials of the 13th International scientific conference; 2013 May 16–17; Minsk, Belarus]. Minsk: Sakharov International State Ecological Institute; 2013. p. 200–201. Russian.
17. Poliksenova VD, Kanash EV. [Phytopathogenic micromycetes of the «Medvezhino» and «Green meadow» forest parks]. In: Buchenkov IE, Khandogii AV, editors. *Antropogennaya dinamika landshaftov i problemy sokhraneniya i ustoichivogo ispol'zovaniya biologicheskogo raznoobraziya. Materialy II Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii; 1–2 dekabrya 2004 g.; Minsk, Belarus'* [Anthropogenic dynamics of landscapes and problems of conservation and sustainable use of biological diversity. Materials of the 2nd Republican scientific and practical conference; 2004 December 1–2; Minsk, Belarus]. Minsk: Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank; 2004. p. 94–96. Russian.
18. Hirilovich IS. *Gribopodobnye organizmy (poryadok Peronosporales) Belarusi* [Pseudofungi (order Peronosporales) of Belarus]. Minsk: Belarusian State University; 2013. 183 p. Russian.
19. Poliksenova VD, Fetina IM. [Phytopathogenic micromycetes on the territory of the Pruzhany district of the Brest region]. In: Pugachevskii AV, Shabashova TG, Gapienko OS, Belomesyatseva DB, Yatsyna AP, editors. *Biologiya, sistematika i ekologiya gribov i lichainikov v prirodnykh ekosistemakh i agrofytotsenozakh. Materialy II Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii; 20–23 sentyabrya 2016 g.; Minsk – Kamenyuki, Belarus'* [Biology, taxonomy and ecology of fungi and lichens in natural ecosystems and agro-phytocenoses. Materials of the 2nd International scientific conference; 2016 September 20–23; Minsk – Kamenyuki, Belarus]. Minsk: Kolorgrad; 2016. p. 177–181. Russian.
20. Lemeza NA, Hirilovich IS, Broda EA. Phytopathogenic micromycetes in the territory of Stolbtsy town. In: *Botanika (issledovaniya). Vypusk 49* [Botany (research). Issue 49]. Minsk: Kolorgrad; 2020. p. 195–206. Russian.
21. Khrantsov AK. Materials about diversity of smut and rust fungi of the «Narochansky» National Park. In: *Botanika (issledovaniya). Vypusk 42* [Botany (research). Issue 42]. Minsk: Institut radiologii; 2013. p. 136–150. Russian.
22. Sautkina TA, Dzhus MA, Tikhomirov VN, Chernik VV, Dolgaya TN. [The current state of biodiversity of plants and micromycetes as a basis for monitoring plant resources in the central region of the Belarusian ridge. Part 2. Micromycetes: research report (conclusion)]. Poliksenova VD, supervisor. Minsk: Belarusian State University; 2010. 192 p. Report No. SR 20063149. Russian.
23. Hirilovich IS, Lemeza NA. *Erysiphe macleayae* R. Y. Zheng et G. Q. Chen (Erysiphales order) – a new invasive species in Belarus. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2017;1:111–115. Russian.
24. Lemeza NA, Hirilovich IS. Rust fungi of the genera *Uromyces* and *Melampsora* on the territory of the Minsk Upland. In: Derevinskii AV, Taranchuk AV, Kozlova-Kozyrevskaya AL, Zhukova IA, Derevinskaya AA, Zhudrik EV, editors. *Sovremennye problemy estestvoznaniya v nauke i obrazovatel'nom protsesse. Sbornik statei Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem; 19 noyabrya 2019 g.; Minsk, Belarus'* [Modern problems of natural science in science and educational process. Collection of articles of the Republican scientific and practical conference with international participation; 2019 November 19; Minsk, Belarus] [Internet]. Minsk: Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank; 2019 [cited 2021 April 10]. p. 57–59. Available from: https://elibrary.ru/download/elibrary_42542563_42938058.pdf. Russian.
25. Hirilovich IS, Lemeza NA. Rust fungi of the genus *Puccinia* Pers. in the territory Minsk upland. In: Tikhomirov VN, Poliksenova VD, Karpuk VV, Gel'tman DV, Anachkov G, Sennikov AN, editors. *Aktual'nye problemy izucheniya i sokhraneniya fito- i mikrobioty. Materialy III Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii; 11–13 noyabrya 2020 g.; Minsk, Belarus'* [Actual problems of studying and conservation phyto- and microbiota. Materials of the 3rd International scientific and practical conference; 2020 November 11–13; Minsk, Belarus]. Minsk: Belarusian State University; 2020. p. 24–29. Russian.
26. Khrantsov AK. [Supplement to the list of phytopathogenic anamorphic fungi of the «Narochansky» National Park]. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2013;3:36–40. Russian.
27. Fedorovich MN, Poliksenova VD. [Mushrooms of the genus *Alternaria* Nees. in Belarus]. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2012;1:54–57. Russian.
28. Khrantsov AK. Materials about diversity of phytopathogenic sac micromycetes of the «Narochansky» National Park. *Ekologicheskii vestnik*. 2014;3:98–105. Russian.

ЭКОЛОГИЯ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ

ECOLOGY AND CONSERVANCY

УДК 574.5

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЗООПЛАНКТОНА В ОЗЕРАХ РАЗНОГО ТРОФИЧЕСКОГО СТАТУСА

И. Н. СЕЛИВОНЧИК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Приведены доминирующие комплексы видов зоопланктона пелагиали озер Нарочь, Мястро, Баторино (2014–2019), Малые и Большие Швакшты (2014–2015), Свирь (2018). Проанализирована сезонная динамика развития зоопланктона, отмечен вклад таксономических групп и отдельных видов в численность и биомассу зоопланктона озер, различающихся по трофическому статусу. В развитии зоопланктона на протяжении вегетационного сезона прослеживалась двухвершинная кривая количественных показателей. В весенний период в зоопланктоне, как правило, преобладали коловратки, в летне-осенний – представители рачкового зоопланктона. По мере повышения трофического статуса озер возрастало относительное значение биомассы ветвистоусых ракообразных и уменьшался удельный вес веслоногих ракообразных.

Ключевые слова: озеро; зоопланктон; видовой состав; численность; биомасса; сезонная динамика.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б20У-003).

Образец цитирования:

Селивончик И.Н. Сезонная динамика зоопланктона в озерах разного трофического статуса. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:88–101. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-88-101>

For citation:

Selivonchik IN. Seasonal dynamics of zooplankton in lakes of different trophic status. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:88–101. Russian. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-88-101>

Автор:

Ирина Николаевна Селивончик – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Author:

Iryna N. Selivonchik, researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology. selivonchik@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0003-2120-0055>



SEASONAL DYNAMICS OF ZOOPLANKTON IN LAKES OF DIFFERENT TROPHIC STATUS

I. N. SELIVONCHYK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

In the article, we present the data about the dominant complexes of zooplankton species in the pelagic zone of lakes Naroch, Myastro, Batorino (2014–2019), Malye and Bolshie Shvakshty (2014–2015), Svir (2018). The seasonal dynamics of zooplankton is analysed. The contribution of taxonomic groups and individual species in the abundance and biomass of zooplankton in lakes with different trophic status is studied. We noted two peaks in the seasonal dynamics of zooplankton. Rotifers prevailed in the spring, while Crustacea dominated in the summer-autumn period. The relative biomass of cladocerans increased and the proportion of copepods decreased with the increasing of trophic status of the lakes.

Keywords: lake; zooplankton; species composition; abundance; biomass; seasonal dynamics.

Acknowledgements. This research has been financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project No. B20U-003).

Введение

Зоопланктон – один из важных компонентов для биологического анализа водных экосистем и мониторинга экологического состояния водных объектов разного типа. Являясь вторичным звеном в трофической цепи водных экосистем, зоопланктон играет важную роль в их структуре и функционировании: потребляя бактерио- и фитопланктон, он участвует в процессах самоочищения, служит кормовой базой для многих видов рыб¹.

Благодаря короткому жизненному циклу зоопланктонные сообщества даже при непродолжительных исследованиях позволяют охарактеризовать современное состояние водного объекта². Сезонная динамика зоопланктона определяется сезонными изменениями численности и биомассы доминирующих видов, количественным соотношением таксономических групп и быстротой реакции организмов на изменения условий окружающей среды [1]. Состояние и динамика видовой структуры сообщества гидробионтов являются достаточно информативными показателями для оценки происходящих в экосистеме процессов. Особую ценность и интерес при гидробиологических исследованиях представляют многолетние и многократные в течение года наблюдения за гидробионтами.

В связи с этим целью данной работы было изучение сезонной динамики развития зоопланктона в озерах разного трофического статуса.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили пробы, отобранные на протяжении вегетационного сезона в озерах Нарочь, Мястро и Баторино с 2014 по 2019 г., Малые и Большие Швакшты с 2014 по 2015 г. и оз. Свирь в 2018 г. Схема расположения данных озер представлена на рис. 1.

Исследованные озера являются крупными водными объектами и входят в состав Белорусского Поозерья [2].

Озера Нарочь, Мястро и Баторино принадлежат к Нарочанской группе озер. Озеро Баторино, являющееся начальным в цепи озер, представляет собой эвтрофный водоем с высокой степенью водообмена. В него впадают ручей и несколько мелиорационных каналов, а вытекает р. Дробня, впадающая в оз. Мястро. Озеро Мястро – крупный среднеглубокий мезотрофный водоем с высокой степенью водообмена. Помимо оз. Баторино, оно связано протоками с озерами Скрипово, Шестаково. Сток происходит по протоке (реке) Скеме в оз. Нарочь [3]. Озеро Нарочь является самым большим в Беларуси и представляет собой олигомезотрофный водоем с низкой степенью водообмена. Приток воды происходит из оз. Мястро, а также по 17 ручьям, сток – по р. Нарочь.

Озера Малые и Большие Швакшты принадлежат к Швакштинской группе озер. Озеро Большие Швакшты – высокоэвтрофный, значительный по площади, но мелководный и слабопроточный водоем. В него впадают 5 небольших ручьев, а вытекает протока, направленная в оз. Малые Швакшты и далее в р. Страчу. В водном балансе значительную роль играют осадки на водное зеркало, а также поверхностный приток. Расход воды примерно в одинаковой мере обусловлен испарением с поверхности водного зеркала и вытоком в хорошо проточное оз. Малые Швакшты [3; 4].

¹Науменко Е. Н. Структурно-функциональная организация зоопланктона Куршского и Вислинского заливов Балтийского моря : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.18. СПб., 2009. 42 с.

²Кучко Я. А. Влияние форелевого хозяйства на сообщество зоопланктона озерно-речной экосистемы : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.08 ; 03.00.16. Петрозаводск, 2004. 26 с.

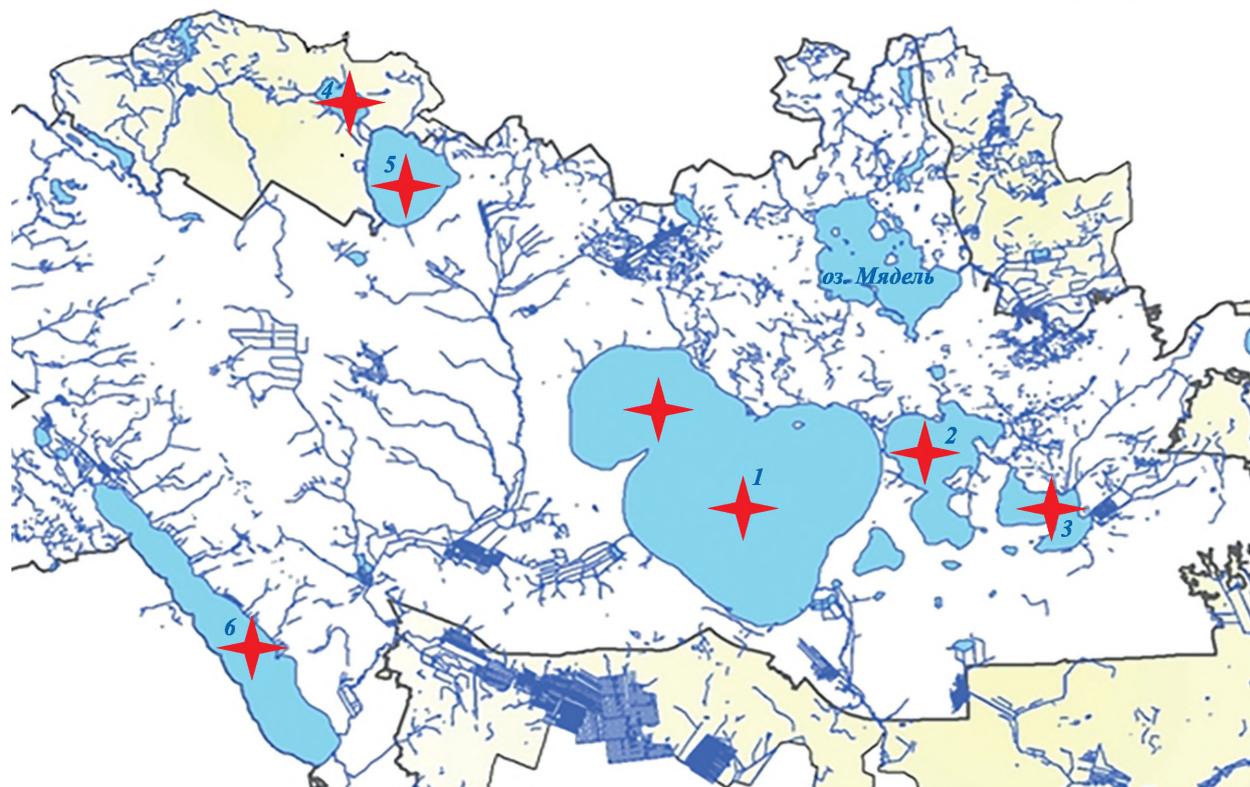


Рис. 1. Карта-схема расположения озер Нарочь (1), Мястро (2), Баторино (3), Малые Швакшты (4), Большие Швакшты (5), Свирь (6)

Fig. 1. Schematic map of the location of lakes Naroch (1), Myastro (2), Batorino (3), Malye Shvakshty (4), Bolshie Shvakshty (5), Svir (6)

Озеро Свирь принадлежит к Свирской группе озер. Это крупный, мелководный, проточный, эвтрофный водоем, характеризующийся низким качеством воды. В него впадают реки Смолка, Большой Перекоп, а на севере вытекает р. Свирица [3].

Отбор и обработку проб зоопланктона проводили стандартными, принятыми в гидробиологии методами [5]. Пробы отбирали батометром Рутнера (2 л), а затем смешивали в черном баллоне (50 л) для получения интегральной пробы, отражающей средний состав озерной воды. Объем воды каждого горизонта в интегральной пробе был пропорционален его доле в общем объеме озера в соответствии с данными батиметрии. Из интегральной пробы отбирали пробу зоопланктона объемом 10 л и процеживали через планктонную сеть Апштейна с длиной стороны ячейки, равной 64 мкм. Полученный осадок объемом 150 мл сливали в пластиковые бутылки. Фиксировали пробы 4 % раствором формалина. Обработку собранного материала выполняли под микроскопом Zeiss Axio Lab (Германия) на счетной пластинке. Размеры организмов измеряли с помощью окуляр-микрометра.

Идентификацию водных беспозвоночных проводили с использованием определителей коловраток по Кутиковой [6], ветвистоусых ракообразных по Мануйловой [7], веслоногих ракообразных по Вежновцу [8], а также пособия «Определитель пресноводных беспозвоночных европейской части СССР» [9]. Массу ракообразных устанавливали расчетным методом [10] в соответствии со степенными уравнениями зависимости массы тела от его длины. Массу коловраток находили, приравнявая форму их тела к определенным геометрическим фигурам. Общую биомассу зоопланктона вычисляли суммированием биомасс отдельных его представителей.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ *Microsoft Excel*.

Результаты и их обсуждение

Видовой состав зоопланктона исследованных озер представлен обычным для Белорусского Поозерья комплексом видов. Доминирующий комплекс организмов зоопланктона в изученных водоемах имел сходные черты. Из веслоногих ракообразных (Copepoda) преобладающими по численности во всех озерах являлись *Eudiaptomus graciloides* (Lilljeborg, 1888), *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857), *Thermocyclops oithonoides* (Sars, 1863). Доминирующий комплекс ветвистоусых ракообразных (Cladocera) в исследованных водных объектах незначительно различался: в оз. Нарочь он был представлен *Daphnia cristata*



(Sars, 1862), *Daphnia cuculata* (Sars, 1862), *Bosmina longispina* (Leydig, 1860); в оз. Мясро – *D. cristata*, *D. cuculata*, *Bosmina crassicornis* (P. E. Müller, 1867), *Chydorus sphaericus* (O. F. Müller, 1785); в оз. Баторино – *D. cuculata*, *Ch. sphaericus*, *Bosmina coregoni* (Baird, 1857), *Diaphanosoma brachyurum* (Lievin, 1848); в озерах Малые и Большие Швакшты – *D. cuculata*, *Ch. sphaericus*, в оз. Свирь – *D. cuculata*, *Ch. sphaericus*, *B. crassicornis*. Из коловраток (Rotifera) в видовом составе в оз. Нарочь преобладали *Conochilus unicornis* (Rousselet, 1892), *Kellicottia longispina* (Kellicott, 1879), *Keratella cochlearis* (Gosse, 1851), представители рода *Polyarthra*; в оз. Мясро – *K. cochlearis*, представители рода *Polyarthra*; в оз. Баторино – *C. unicornis*, *K. cochlearis*, представители рода *Polyarthra*; в озерах Малые и Большие Швакшты – *Filinia longiseta* (Ehrenberg, 1834), *K. cochlearis*, представители рода *Brachionus* (*Br. diversicornis homoceros* (Wierzejski, 1891), *Br. angularis* (Gosse, 1851), *Br. diversicornis diversicornis* (Daday, 1883)); в оз. Свирь – *C. unicornis*, *K. longispina*, *K. cochlearis*, *Keratella quadrata* (O. F. Müller, 1786).

Развитие зоопланктона в озерах на протяжении вегетационного сезона, как правило, характеризовалось наличием двух максимумов, которые в большинстве случаев приходились на начало (май – июнь) и конец (август – сентябрь) вегетационного периода.

В оз. Нарочь (рис. 2–7) с 2014 по 2016 г. максимальная численность зоопланктона наблюдалась в июне (от 86,0 до 154,9 тыс. экз./м³) и августе (от 86,9 до 239,6 тыс. экз./м³) главным образом за счет развития мелких коловраток и веслоногих ракообразных на разных стадиях онтогенеза. Динамика биомассы зоопланктона в точности повторяла динамику его численности: максимумы пришлись на июнь (от 0,49 до 0,76 г/м³) и август (от 0,63 до 1,47 г/м³). В июне биомассу формировали веслоногие ракообразные, в августе – в равной степени веслоногие и ветвистоусые ракообразные (представители родов *Daphnia* и *Bosmina*, *D. brachyurum*, единично отмечены *Leptodora kindti* (Focke, 1844)). В 2017 г. пики численности сместились в сторону мая (124,0 тыс. экз./м³) и июля (216,9 тыс. экз./м³). В начале сезона наблюдалось развитие веслоногих ракообразных на ранних стадиях онтогенеза, которые внесли основной вклад в биомассу (1,27 г/м³), в июле была отмечена вспышка численности коловраток *C. unicornis*. Вегетационный сезон 2018 г. отличался наличием одного пика численности в середине лета (178,0 тыс. экз./м³) за счет развития мелких коловраток (*C. unicornis*) и веслоногих ракообразных на ранних стадиях онтогенеза. Биомасса была высокой в мае (1,20 г/м³) благодаря обилию веслоногих ракообразных на разных стадиях онтогенеза и присутствию в составе крупных коловраток *Asplanchna priodonta* (Gosse, 1850) и в сентябре (1,55 г/м³) ввиду развития *D. brachyurum*, *A. priodonta* и веслоногих ракообразных на разных стадиях онтогенеза. В 2019 г. подъемы численности были отмечены в июне (148,5 тыс. экз./м³) и сентябре (126,6 тыс. экз./м³). Биомасса на протяжении сезона колебалась в пределах от 0,46 до 1,28 г/м³, ее формировали веслоногие ракообразные на разных стадиях развития и крупные формы ветвистоусых ракообразных (*D. cuculata*, *D. brachyurum*), под конец сезона дополнительный вклад вносила коловратка *A. priodonta*.

В оз. Нарочь как олигомезотрофном водоеме количественные показатели зоопланктона были невелики. Среднесезонная численность за период исследований колебалась от (64,2 ± 33,3) до (125,9 ± 65,1) тыс. экз./м³, а биомасса – от (0,44 ± 0,12) до (0,94 ± 0,32) г/м³, составив в среднем (93,1 ± 20,7) тыс. экз./м³ и (0,77 ± 0,19) г/м³ соответственно. По значениям биомассы (по Андрониковой [1]) озеро соответствовало трофическому статусу, который определен для него по другим гидробиологическим и гидрохимическим характеристикам.

В оз. Мясро в рассматриваемые годы численность зоопланктона колебалась, пики смещались на протяжении сезона, но в развитии зоопланктона сохранялась двухвершинная кривая количественных показателей (см. рис. 2–7). С 2014 по 2016 г. первый пик численности приходился на май (от 309,8 до 470,0 тыс. экз./м³), в 2017 г. – на июнь (362,0 тыс. экз./м³), в 2018 г. – на июль (213,0 тыс. экз./м³), в 2019 г. – снова на май (354,0 тыс. экз./м³). Второй пик в большинстве случаев отмечался в сентябре (от 153,0 до 418,0 тыс. экз./м³ в разные годы), лишь в 2015 г. он наблюдался в августе (218,0 тыс. экз./м³), в 2016 г. – в июле (182,0 тыс. экз./м³). В начале сезона численность создавали коловратки (*C. unicornis*, *K. longispina*, *K. cochlearis*) и веслоногие ракообразные, под конец сезона – в основном ракообразные. Сезонная динамика биомассы зоопланктона, как правило, повторяла динамику его численности. В разные годы в начале сезона (май – июнь) биомасса колебалась в пределах от 0,59 до 5,75 г/м³ (максимальные значения были отмечены в мае 2015 г. при развитии взрослых форм *E. graciloides*), под конец сезона (сентябрь – октябрь) – от 0,46 до 3,30 г/м³. За период исследований биомассу формировали ветвистоусые (*D. cuculata*, *D. cristata*, *D. brachyurum*, *L. kindti*, представители рода *Bosmina*), веслоногие ракообразные и коловратки *A. priodonta*. Среднесезонная численность зоопланктона в рассматриваемые годы колебалась в пределах от (146,2 ± 113,4) до (249,9 ± 124,9) тыс. экз./м³, биомасса – от (0,58 ± 0,47) до (1,79 ± 1,05) г/м³, составив в среднем (173,4 ± 39,9) тыс. экз./м³ и (1,26 ± 0,47) г/м³ соответственно. По значениям биомассы (по Андрониковой [1]) в 2017 г. озеро соответствовало олиготрофному трофическому статусу, в остальные годы – мезотрофному.



В оз. Баторино за исследуемый период (см. рис. 2–7) максимальные значения численности зоопланктона отмечались в мае (от 272,0 до 958,0 тыс. экз./м³). Вклад в численность вносили ветвистоусые ракообразные (*Bosmina longirostris* (O. F. Müller, 1785)), коловратки (*K. longispina*, *K. cochlearis*, *C. unicornis*) и веслоногие ракообразные на разных стадиях онтогенеза. Под конец вегетационного сезона наблюдался второй пик (от 246,1 до 634,0 тыс. экз./м³) за счет развития ветвистоусых (доминант *B. coregoni*) и веслоногих ракообразных. Также в конце сезона (сентябрь – октябрь) было отмечено максимальное развитие биомассы зоопланктона (от 3,24 до 7,22 г/м³), что связано с массовым развитием и встречаемостью в составе взрослых форм веслоногих ракообразных и крупных форм ветвистоусых ракообразных, в 2018 г. дополнительный вклад в биомассу вносила коловратка *A. priodonta*. Среднесезонная численность зоопланктона за период исследований колебалась в пределах от (216,2 ± 44,5) до (488,8 ± 158,2) тыс. экз./м³, биомасса – от (1,68 ± 0,79) до (4,90 ± 0,94) г/м³, составив в среднем (333,6 ± 114,9) тыс. экз./м³ и (3,43 ± 1,19) г/м³ соответственно. По значениям биомассы (по Андрониковой [1]) в 2014–2015 гг. трофность озера превышала эвтрофный статус, в 2016 г. снизилась до мезотрофного статуса, с 2017 по 2019 г. озеро находилось в эвтрофном состоянии.

В оз. Малые Швакшты (см. рис. 2 и 3) развитие зоопланктона в 2014 г. характеризовалось наличием двух отчетливо выраженных пиков численности – в мае (620,0 тыс. экз./м³) и сентябре (1486,0 тыс. экз./м³). Максимум численности под конец сезона главным образом обусловлен массовым развитием ветвистоусых ракообразных *B. crassicornis*, *B. longirostris*, *Ch. sphaericus*. Под конец сезона зафиксированы и высокие значения биомассы (8,1 г/м³). В 2015 г. максимальная численность зоопланктона отмечена в мае (1912,0 тыс. экз./м³) и связана с массовым развитием коловраток (*K. longispina*, *K. cochlearis*, *K. quadrata*, *F. longiseta*, *A. priodonta*, *Brachionus calyciflorus* (Pallas, 1766)). Второй пик численности зоопланктона зарегистрирован в августе (872,0 тыс. экз./м³) и вызван развитием ветвистоусых ракообразных (*Ch. sphaericus*, *D. cuculata*, *B. longirostris*), веслоногих ракообразных на разных стадиях онтогенеза и коловраток (*Br. diversicornis homoceros*, *Brachionus forficula* (Wierzejski, 1891), *F. longiseta*, *Trichocerca cylindrica* (Imhof, 1891)). Высокие значения биомассы отмечены в августе (6,19 г/м³) за счет развития веслоногих (*M. leuckarti*, *Th. oithonoides* и представителей подкласса на ранних стадиях онтогенеза) и ветвистоусых (крупных форм *D. cuculata*, *L. kindti*, доминирующих по численности *Ch. sphaericus*) ракообразных. Среднесезонная численность зоопланктона за период исследований составила от (638,0 ± 500,4) до (860,0 ± 573,7) тыс. экз./м³, биомасса – от (3,34 ± 1,53) до (3,91 ± 2,45) г/м³. По количественным показателям зоопланктона (по Андрониковой [1]) озеро соответствовало эвтрофному статусу.

В оз. Большие Швакшты (см. рис. 2 и 3) в 2014 г. в развитии зоопланктона сохранялась двухвершинная кривая количественных показателей. Пики численности и биомассы наблюдались в июне (906,0 тыс. экз./м³ и 6,37 г/м³ соответственно) и сентябре, когда отмечалось максимальное развитие зоопланктона (1478,0 тыс. экз./м³ и 24,1 г/м³ соответственно) за счет представителей ветвистоусых ракообразных (*B. crassicornis*, *Ch. sphaericus*, *D. cuculata*). В 2015 г. максимальная численность зоопланктона зафиксирована в мае (3108,0 тыс. экз./м³). Очень высокие значения численности в начале сезона были связаны с массовым развитием мелких коловраток (*K. longispina*, *K. cochlearis* и *K. quadrata*). Биомассу в мае (10,11 г/м³) формировали коловратки (*A. priodonta*), ветвистоусые (*B. longirostris*) и веслоногие ракообразные, в сентябре (7,57 г/м³) – ветвистоусые (*B. crassicornis*, *Ch. sphaericus*, *D. cuculata*, *Bythotrephes longimanus* (Leydig, 1860)) и веслоногие ракообразные. Среднесезонная численность зоопланктона за период исследований составила от (811,8 ± 386,6) до (936,5 ± 1067,5) тыс. экз./м³, биомасса – от (6,95 ± 1,78) до (8,51 ± 7,91) г/м³. По значениям биомассы (по Андрониковой [1]) в период исследований трофность озера превышала эвтрофный статус.

В оз. Свирь в 2018 г. (см. рис. 6) наиболее высокие численность и биомасса зоопланктона зарегистрированы в начале вегетационного сезона (332,2 тыс. экз./м³ и 4,47 г/м³ соответственно). Это обусловлено присутствием ветвистоусых ракообразных *B. longirostris*, *B. longispina* и крупных форм *D. cristata*; веслоногих ракообразных с преобладанием в составе главным образом взрослых форм *E. graciloides*, а также представителей подкласса на науплиальной и копеподидной стадиях развития; доминированием в составе коловраток мелких форм *C. unicornis* (91,0 экз./л) и крупных форм *A. priodonta* (2,54 г/м³). Второй пик численности был отмечен в июле (219,5 тыс. экз./м³), биомасса повторно возрастала под конец сезона. На протяжении всего сезона основную численность и биомассу из веслоногих ракообразных создавали взрослые формы *E. graciloides*, *M. leuckarti* и представители подкласса на разных стадиях развития. Из ветвистоусых ракообразных наибольший вклад в середине лета (июнь – июль) вносили *Ch. sphaericus*, *B. crassicornis*, с августа по октябрь доминировали крупные формы *D. cuculata*, в августе – сентябре – *D. brachyurum*. Численность коловраток с июня по октябрь практически не менялась, за исключением июля, когда наблюдалось массовое развитие *C. unicornis*. Высокие значения биомассы коловраток с июля по сентябрь связаны со встречаемостью крупных форм *A. priodonta*. Среднесезонная



численность зоопланктона в 2018 г. составила $(180,4 \pm 85,3)$ тыс. экз./м³, биомасса – $(2,31 \pm 1,20)$ г/м³. По значениям биомассы (по Андрониковой [1]) озеро находилось в мезотрофном состоянии.

В исследуемых озерах прослеживается сходство в динамике развития зоопланктона в течение вегетационного сезона, что в первую очередь связано с климатическими и гидрологическими особенностями каждого года. Средняя температура воды различалась в разных озерах. В оз. Нарочь в первой половине лета наблюдалась незначительная температурная стратификация, а затем она сменялась гомотермией. В отдельные годы температурная стратификация зафиксирована в июле и даже начале августа. Температура воды в оз. Нарочь на протяжении сезона была ниже, чем в озерах Мястро и Баторино [11–16]. Озерам Мястро, Баторино, Малые и Большие Швакшты и оз. Свирь свойственна гомотермия, которая совместно с развитием потенциальной кормовой базы (бактерио- и фитопланктона) благоприятно сказывается на развитии зоопланктона.

Зимне-весенний период 2014 г. характеризовался поздним коротким ледоставом, небольшим количеством атмосферных осадков (снега), что обусловило высокую прозрачность ледового покрова и способствовало развитию фитопланктона [12]. На протяжении сезона отмечалась аномально высокая температура воздуха. Прогрев воды в озерах до оптимальных для развития зоопланктона температур (в оз. Нарочь температура достигла оптимума в июне) и обилие кормовых ресурсов способствовали развитию зоопланктона в начале сезона. Благоприятные климатические условия в течение всего года привели к тому, что в вегетационном сезоне 2014 г. в Нарочанских озерах отмечено наиболее высокое количественное развитие зоопланктона по сравнению с другими рассмотренными годами. В исследованных озерах (см. рис. 2) максимум численности наблюдался во второй половине сезона при наличии двух пиков, за исключением оз. Баторино, в котором показатели численности в начале и конце сезона были равны. Динамика биомассы повторяла динамику численности, наиболее высокие значения отмечены в летне-осенний период.

Вегетационному сезону 2015 г. предшествовал зимне-весенний период с коротким ледоставом, что способствовало интенсивному развитию фитопланктона еще подо льдом. В оз. Нарочь по сравнению с другими озерами температура воды в начале вегетационного сезона (май) являлась невысокой (в пределах 10,4–11,0 °С). Среднесезонная температура воды в поверхностном слое в оз. Нарочь была близка к таковой в предыдущие годы, а в озерах Мястро и Баторино оказалась несколько ниже [13]. В озерах Мястро, Баторино, Малые и Большие Швакшты в 2015 г. (см. рис. 3), в отличие от предыдущего года, высокое развитие зоопланктона отмечено в начале вегетационного сезона за счет преобладания в составе коловраток. Развитие коловраток вносило основные различия в количественные показатели зоопланктона близких по трофическому статусу озер Баторино, Малые и Большие Швакшты при равном вкладе представителей рачкового зоопланктона. В динамике биомассы зоопланктона прослеживалась зависимость от динамики численности рачкового зоопланктона, вклад коловраток был невелик, за исключением оз. Большие Швакшты, в котором наблюдалось развитие крупных форм коловраток в начале сезона. В оз. Нарочь ход сезонной динамики соответствовал предыдущему году.

Зимне-весенний период 2016 г. характеризовался несколько большей, чем в предыдущие два года, продолжительностью ледостава. В начале сезона температура воды в оз. Нарочь была невысокой, а в озерах Мястро и Баторино являлась оптимальной для развития зоопланктона. Температурный режим воды в оз. Нарочь характеризовался стратификацией водной массы в мае – августе и гомотермией в конце сезона. В оз. Мястро стратификация наблюдалась в мае – июле, но была менее выраженной. В оз. Баторино стратификация отсутствовала [14]. Вегетационный сезон отличался снижением показателей численности и биомассы зоопланктона практически вдвое по сравнению с предыдущими годами. В близких по трофности озерах Нарочь и Мястро (см. рис. 4) веслоногие ракообразные получили наибольшее развитие в течение сезона, развитие коловраток в весенний и летний периоды способствовало проявлению двух пиков численности. В оз. Баторино высокая численность была зафиксирована в мае и октябре, на протяжении сезона отмечалось развитие ветвистоусых ракообразных. Биомасса в озерах зависела от численности ракообразных и повторяла ее развитие. Несмотря на невысокие показатели среднесезонной биомассы зоопланктона в оз. Баторино, характеризующие его как мезотрофный водоем, высокое развитие ветвистоусых ракообразных на протяжении сезона указывает на его эвтрофный статус.

Вегетационный сезон 2017 г. отличался неустойчивой погодой: холодные дождливые периоды с сильными ветрами сменялись резким кратковременным потеплением, особенно в мае и июне. В оз. Нарочь в мае температура воды по всему столбу водного слоя была в пределах 7,4–8,0 °С (наиболее низкая величина для этого периода за последние 10 лет). В целом во время вегетационного сезона 2017 г. температурный режим воды в оз. Нарочь характеризовался гомотермией в мае и октябре и прямой стратификацией водной массы в июне – сентябре. В оз. Мястро небольшая стратификация наблюдалась в первой половине вегетационного сезона (май – июль) с максимальным градиентом в мае и последующей гомотермией в августе – октябре. В оз. Баторино необычно развитая стратификация была отмечена в мае (градиент температуры от 14,4 °С в поверхностном слое до 8,4 °С в придонном), в дальнейшем она сменилась



гомотермией [15]. Вегетационный сезон характеризовался невысоким развитием зоопланктона. В оз. Нарочь (см. рис. 5) в начале сезона наблюдалось развитие веслоногих ракообразных, в летний период – коловраток. Биомассу на протяжении сезона в основном формировали веслоногие ракообразные. В озерах Мястро и Баторино (см. рис. 5) коловратки получили большее развитие в начале сезона, вклад в летние месяцы был невысоким. Биомассу создавали веслоногие и ветвистоусые ракообразные.

В 2018 г. в связи с ранним вскрытием оз. Нарочь в апреле содержание хлорофилла оказалось выше величин, наблюдаемых в летние месяцы. Длительный период существования температурной стратификации в озере (июнь – август), по всей видимости, обусловил низкое содержание хлорофилла в мае – июле, лишь с началом полного перемешивания водной массы в августе – сентябре содержание хлорофилла увеличилось. В оз. Мястро гомотермия наблюдалась с августа – сентября, в оз. Баторино температурная стратификация была отмечена лишь в мае. Среднемесячная температура воды, особенно в поверхностном слое, была несколько выше многолетних значений [16]. В 2018 г. (см. рис. 6) в близких по трофности озерах Нарочь и Мястро первый пик численности был отмечен в летний период при развитии всех групп зоопланктона, второй пик в оз. Мястро приходился на сентябрь. Отсутствие пика в начале сезона, вероятнее всего, обусловлено недостатком кормовой базы в связи с неблагоприятными климатическими условиями. В озерах Баторино и Свирь высокое развитие зоопланктона отмечалось в начале сезона, далее численность с рядом колебаний постепенно снижалась к концу сезона. Подъемы и максимумы биомассы частично совпадали с таковыми численности и зависели от индивидуальной массы доминирующих видов.

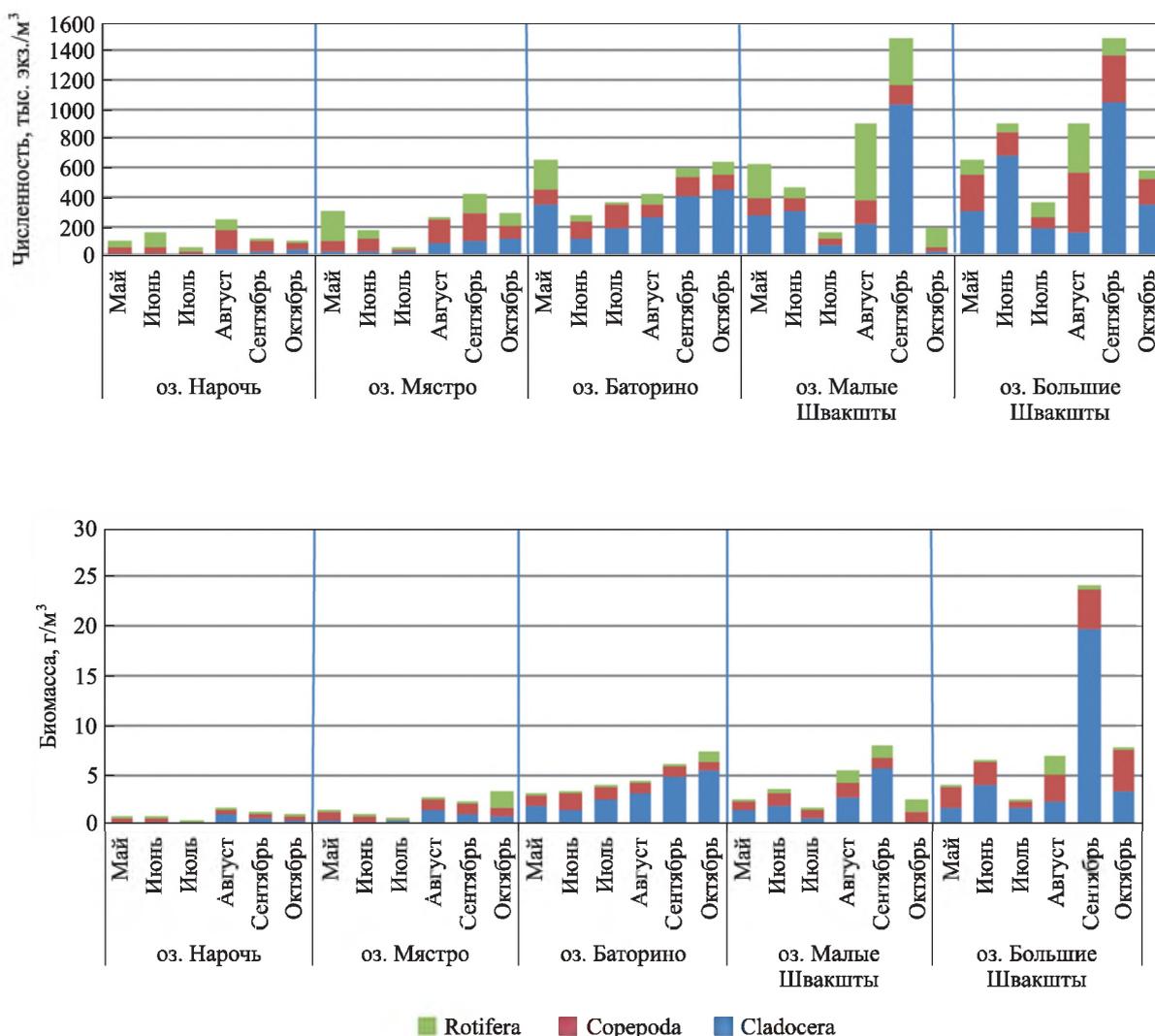


Рис. 2. Сезонная динамика численности и биомассы зоопланктона озер Нарочь, Мястро, Баторино, Малые и Большие Швакшты в 2014 г.

Fig. 2. Seasonal dynamics of the abundance and biomass of zooplankton in lakes Naroch, Myastro, Batorino, Malye and Bolshie Shvakshty in 2014

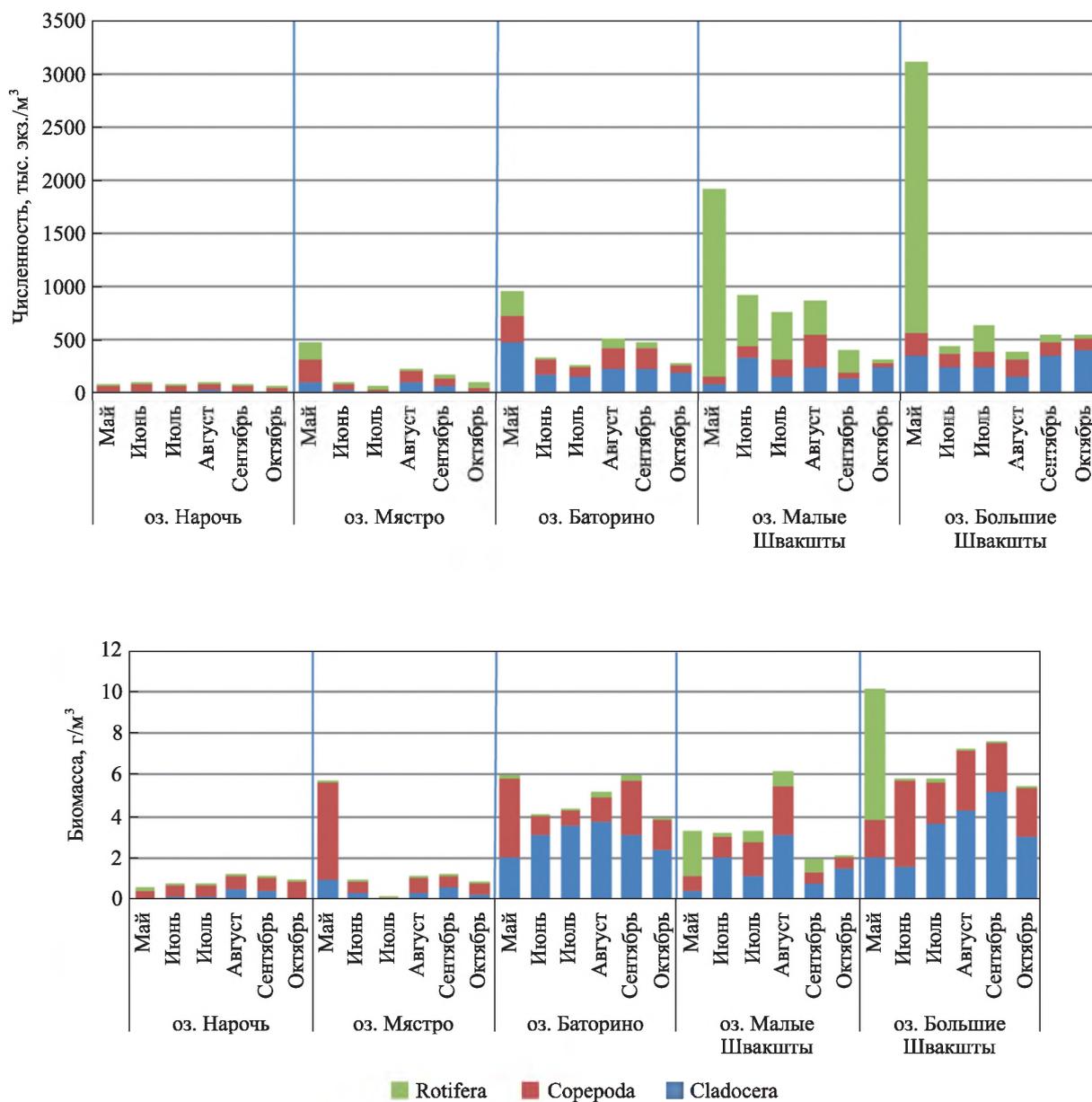


Рис. 3. Сезонная динамика численности и биомассы зоопланктона озер Нарочь, Мястро, Баторино, Малые и Большие Швакшты в 2015 г.
Fig. 3. Seasonal dynamics of the abundance and biomass of zooplankton in lakes Naroch, Myastro, Batorino, Malye and Bolshie Shvakshty in 2015

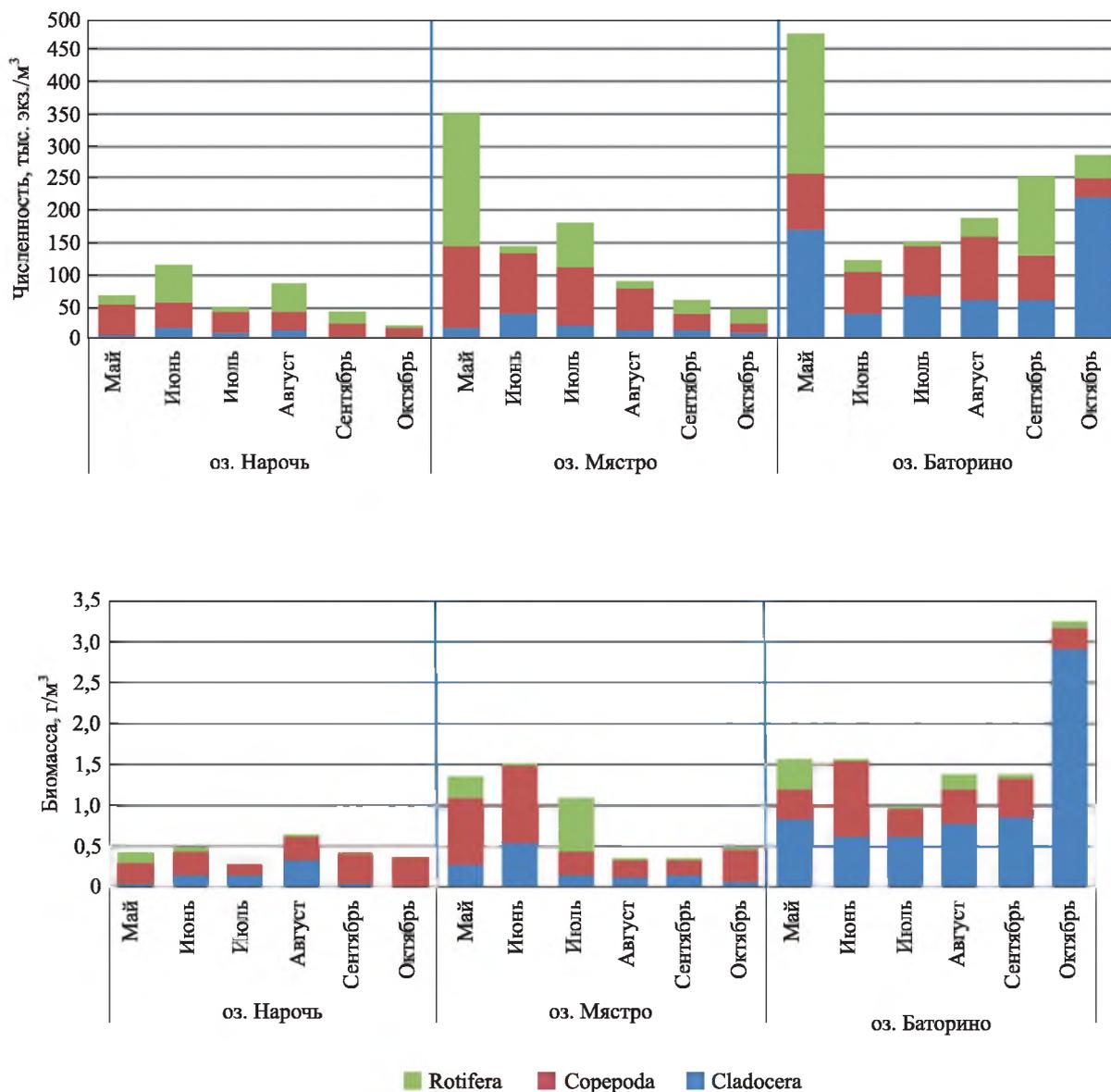


Рис. 4. Сезонная динамика численности и биомассы зоопланктона озер Нарочь, Мястро, Баторино в 2016 г.
 Fig. 4. Seasonal dynamics of the abundance and biomass of zooplankton in lakes Naroch, Myastro, Batorino in 2016

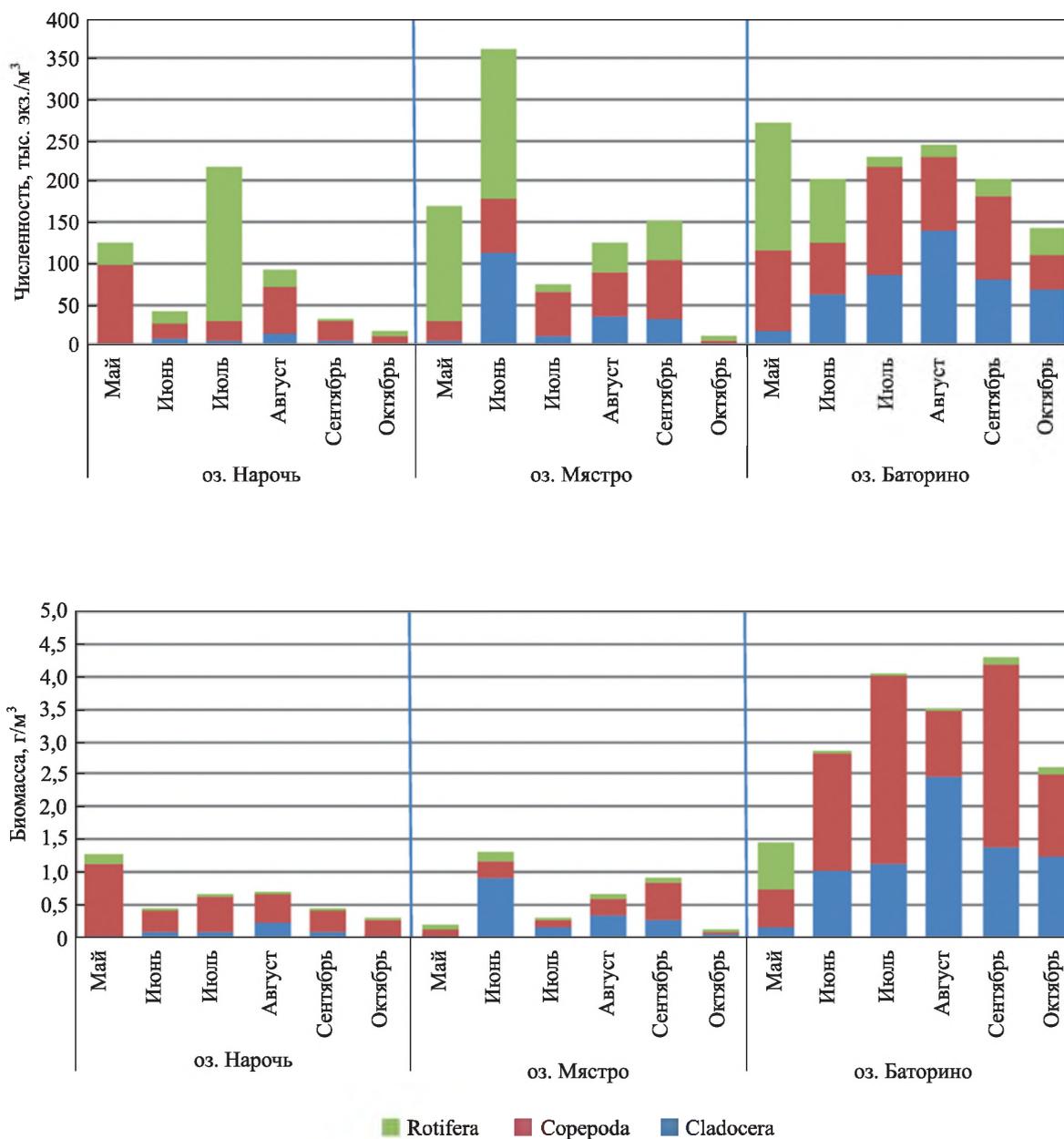


Рис. 5. Сезонная динамика численности и биомассы зоопланктона озер Нарочь, Мястро, Баторино в 2017 г.
Fig. 5. Seasonal dynamics of the abundance and biomass of zooplankton in lakes Naroch, Myastro, Batorino in 2017

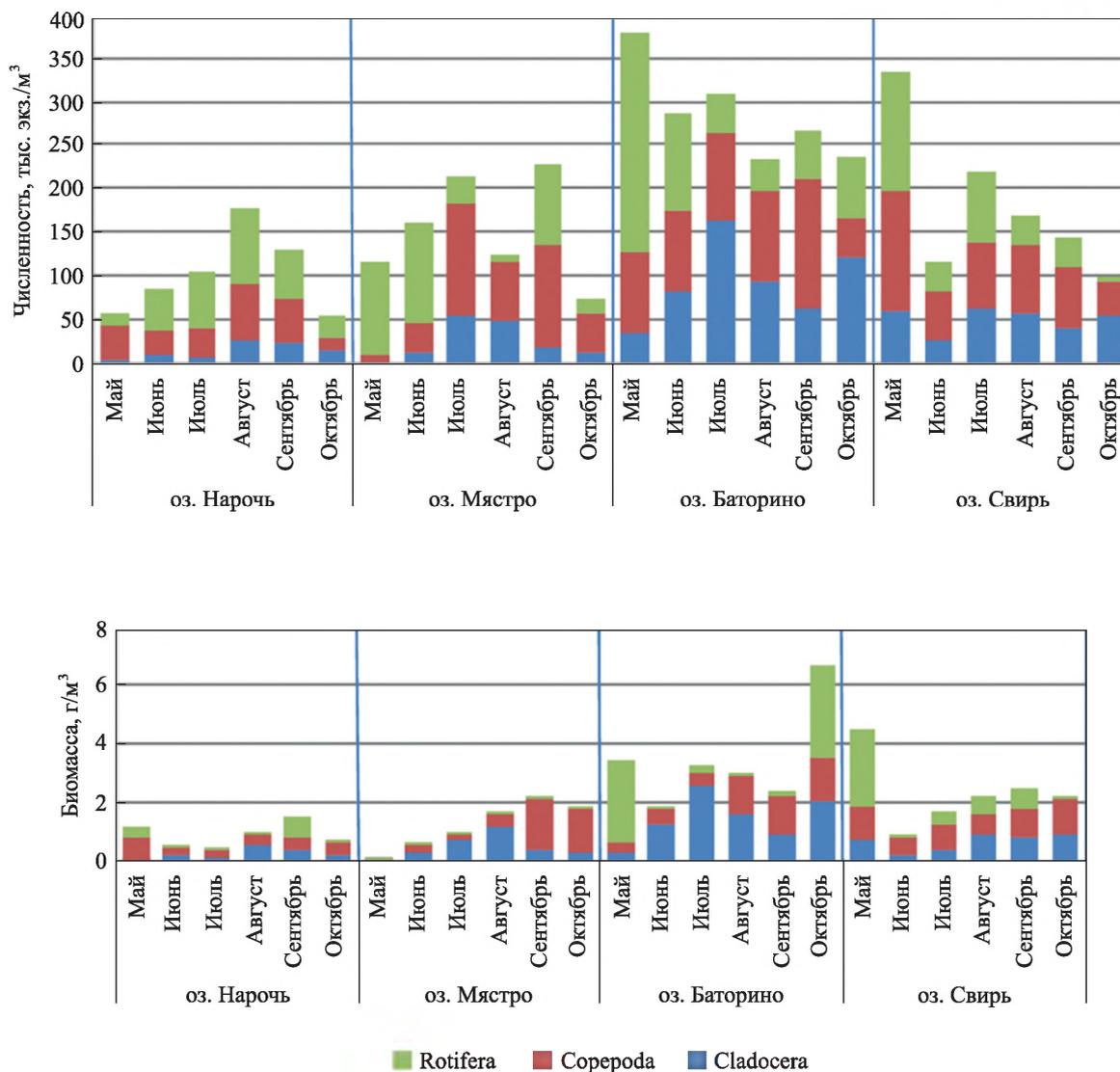


Рис. 6. Сезонная динамика численности и биомассы зоопланктона озер Нарочь, Мястро, Баторино, Свирь в 2018 г.
Fig. 6. Seasonal dynamics of the abundance and biomass of zooplankton in lakes Naroch, Myastro, Batorino, Svir in 2018

В 2019 г., как и в предыдущие годы с относительно коротким сроком ледостава, уже в мае в озерах Нарочь и Мястро была отмечена температурная стратификация. Теплый июнь с большим количеством штилевых дней обусловил дальнейший прогрев водной толщи с нарастанием температурных градиентов. В более холодных и ветреных июле и августе температурная стратификация постепенно исчезала, и в сентябре – октябре водная масса озер Нарочь и Мястро была термически однородной. В мелководном оз. Баторино некоторая температурная стратификация наблюдалась лишь в аномально теплом июне, когда в середине месяца разница значений температуры составляла от 25,2 °С в поверхностном слое воды до 20,2 °С в придонном. В развитии зоопланктона в этих трех озерах (см. рис. 7) четко прослеживались два подъема. В оз. Нарочь с мая по июнь отмечался рост развития коловраток, которые вносили основной вклад в проявление пика в июне, второй пик при их развитии приходился на сентябрь. В озерах Мястро и Баторино подъемы численности наблюдались в мае и сентябре. Развитие биомассы повторяло развитие численности рачкового зоопланктона.

В развитии зоопланктона в озерах на протяжении вегетационного сезона прослеживалось явное сходство с сезонной динамикой, описываемой PEG-моделью [17]. Только в 2018 г. в озерах Нарочь и Мястро наблюдались некоторые отличия от данной модели: первый пик в развитии зоопланктона сместился в летний период. В начале весны при высоком содержании в озерах накопившихся за зиму минеральных форм биогенных веществ и увеличении количества света происходил быстрый рост популяций мелких водорослей, пригодных для питания зоопланктона. Благодаря этому в начале вегетационного сезона

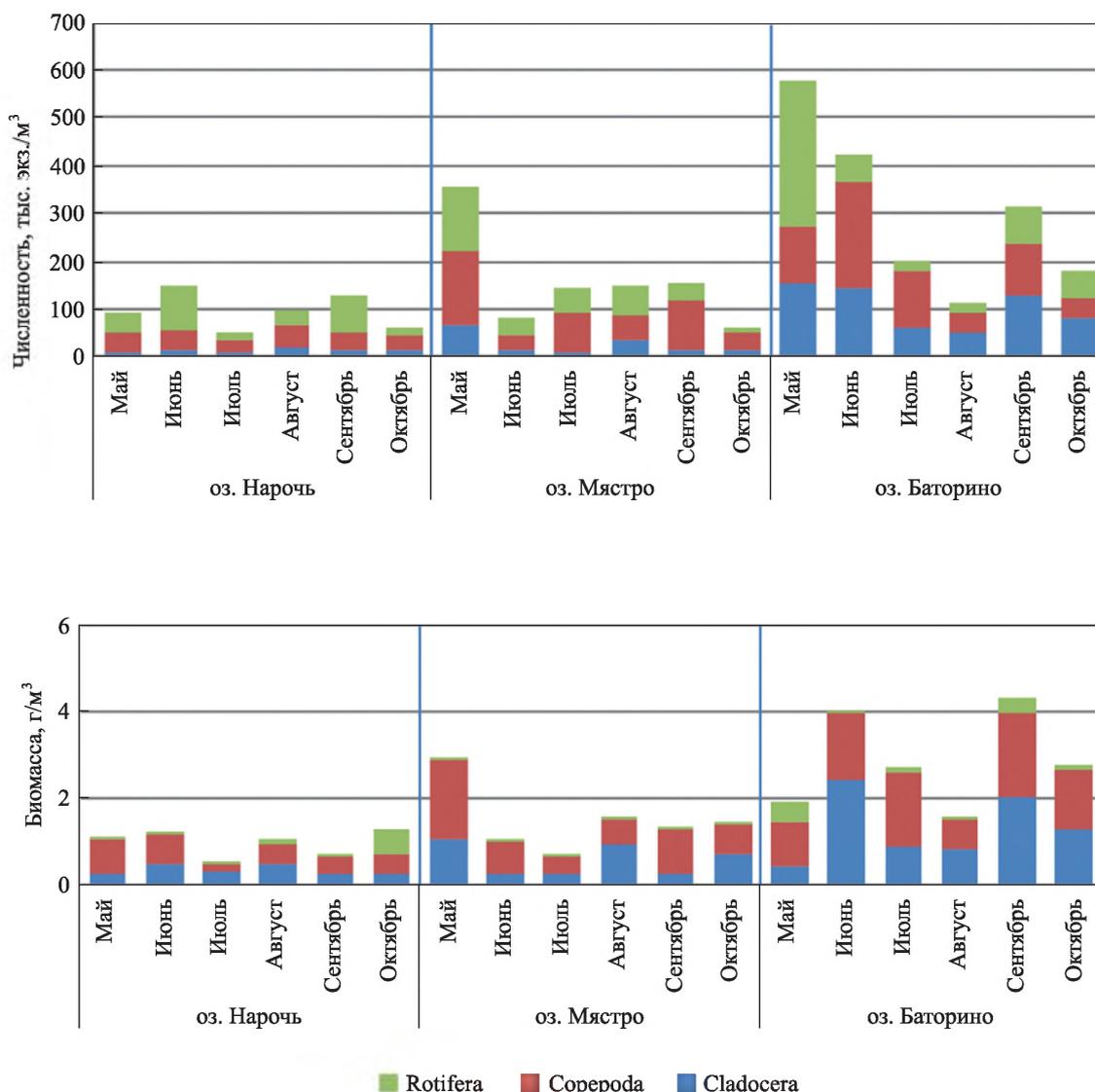


Рис. 7. Сезонная динамика численности и биомассы зоопланктона озер Нарочь, Мястро, Баторино в 2019 г.
Fig. 7. Seasonal dynamics of the abundance and biomass of zooplankton in lakes Naroch, Myastro, Batorino in 2019

наблюдался первый пик численности зоопланктона, в составе которого преобладали организмы с высокой скоростью оборота биомассы (как правило, коловратки) и веслоногие ракообразные на начальных стадиях развития. По мере истощения кормовой базы происходило снижение численности зоопланктона. В течение всего лета на плотность и видовой состав зоопланктона влияли наличие кормовой базы, пресс рыбного населения и температура. Под конец вегетационного периода (август – сентябрь) при снижении давления рыбного населения и развитии кормовой базы (фитопланктона) наблюдался второй пик численности зоопланктона. В летне-осенний период по развитию в основном преобладал рачковый зоопланктон. В октябре при снижении температуры воды и биомассы водорослей отмечалось уменьшение численности зоопланктона.

Сезонная структура зоопланктона озер отражает основные черты жизненных циклов массовых видов. В близких по трофическому статусу озерах наблюдалась сходная картина развития зоопланктона, соотношения таксономических групп.

В оз. Нарочь как олигомезотрофном водоеме плотность зоопланктона была невысокой по сравнению с его плотностью в озерах более высокого трофического статуса. Кривая сезонного хода количественных показателей двухвершинная, обусловленная наличием весенней и летней генераций доминирующих видов веслоногих ракообразных, дополненная развитием коловраток и в меньшей степени ветвистоусыми ракообразными. Численность и биомасса зоопланктона в оз. Мястро были незначительно выше, чем в оз. Нарочь, в развитии сезонной динамики и соотношении таксономических групп имелись сходные



черты с оз. Свирь и другими изученными озерами более высокого трофического статуса. Следует отметить, что для озер более высокого трофического статуса (Баторино, Малые и Большие Швакшты) было характерно преобладание в составе ветвистоусых ракообразных и коловраток. Как правило, по мере повышения трофности водоемов возрастало относительное значение биомассы ветвистоусых ракообразных и, соответственно, уменьшался удельный вес веслоногих ракообразных.

Заключение

Видовой состав зоопланктона исследованных озер представлен обычным для Белорусского Поозерья комплексом видов. Доминирующий комплекс веслоногих ракообразных включал *E. graciloides*, *M. leuckarti*, *Th. oithonoides*. Ветвистоусые ракообразные в оз. Нарочь были представлены *D. cristata*, *D. cuculata*, *B. longispina*; в оз. Мястро – *D. cristata*, *D. cuculata*, *B. crassicornis*, *Ch. sphaericus*; в оз. Баторино – *D. cuculata*, *Ch. sphaericus*, *B. coregoni*, *D. brachyurum*; в озерах Малые и Большие Швакшты – *D. cuculata*, *Ch. sphaericus*; в оз. Свирь – *D. cuculata*, *Ch. sphaericus*, *B. crassicornis*. Из коловраток в оз. Нарочь доминировали *C. unicornis*, *K. longispina*, *K. cochlearis*, представители рода *Polyarthra*; в оз. Мястро – *K. cochlearis*, представители рода *Polyarthra*; в оз. Баторино – *C. unicornis*, *K. cochlearis*, представители рода *Polyarthra*; в озерах Малые и Большие Швакшты – *F. longiseta*, *K. cochlearis*, представители рода *Brachionus* (*Br. diversicornis homoceros*, *Br. angularis*, *Br. diversicornis diversicornis*); в оз. Свирь – *C. unicornis*, *K. longispina*, *K. cochlearis*, *K. quadrata*.

Развитие зоопланктона в озерах на протяжении вегетационного сезона, как правило, характеризовалось наличием двух максимумов, которые в большинстве случаев приходились на начало (май – июнь) и конец (август – сентябрь) вегетационного периода, т. е. наблюдалось явное сходство с сезонной динамикой, описываемой PEG-моделью. В весенний период в зоопланктоне преобладали в основном коловратки, в летне-осенний – представители рачкового зоопланктона. По мере повышения трофности водоемов возрастало относительное значение биомассы ветвистоусых ракообразных и, соответственно, уменьшался удельный вес веслоногих ракообразных.

В озерах прослеживалась связь количественного развития зоопланктона и его динамики в течение вегетационного сезона с климатическими условиями каждого года. Длительность ледостава, время вскрытия озера, температурный режим на протяжении сезона совместно с развитием потенциальной кормовой базы (бактерио- и фитопланктона) сказывались на развитии зоопланктона. Так, короткий ледостав, способствующий интенсивному развитию фитопланктона еще подо льдом, прогрев воды до оптимальных температур приводили к развитию зоопланктона в начале сезона. Длительность и периодичность температурной стратификации оказывали сдерживающий эффект на развитие фитопланктона, соответственно, влияли и на развитие зоопланктона. Периоды гомотермии при благоприятных температурных условиях положительно сказывались на развитии зоопланктона.

Среднесезонные значения численности и биомассы зоопланктона за период исследований в оз. Нарочь колебались в пределах от 64,2 до 125,9 тыс. экз./м³ ((93,1 ± 20,7) тыс. экз./м³) и от 0,44 до 0,94 г/м³ ((0,77 ± 0,19) г/м³); в оз. Мястро – от 146,2 до 249,9 тыс. экз./м³ ((173,4 ± 39,9) тыс. экз./м³) и от 0,58 до 1,79 г/м³ ((1,26 ± 0,47) г/м³); в оз. Баторино – от 216,2 до 488,8 тыс. экз./м³ ((333,6 ± 114,9) тыс. экз./м³) и от 1,68 до 4,90 г/м³ ((3,43 ± 1,19) г/м³); в оз. Малые Швакшты – от 638,0 до 860,0 тыс. экз./м³ и от 3,34 до 3,91 г/м³; в оз. Большие Швакшты – от 811,8 до 936,5 тыс. экз./м³ и от 6,95 до 8,51 г/м³; в оз. Свирь составили 180,4 тыс. экз./м³ и 2,31 г/м³ соответственно.

Библиографические ссылки

1. Андроникова ИИ. Структурно-функциональная организация зоопланктона озерных экосистем разных трофических типов. Санкт-Петербург: Наука, 1996. 189 с.
2. Лопух ПС, Якушко ОФ. Общая лимнология. Минск: БГУ; 2011. 365 с.
3. Аронов АГ, Аронова ТИ, Власов БП, Ежова ОС, Жукова ТВ, Ковалевская РЗ и др. Водные ресурсы Национального парка «Нарочанский». Любчик ВС, Жукова ТВ, редакторы. Минск: Рифтур принт, 2012. 128 с.
4. Жукоўская ГС, Логінава АУ, Лопух ПС, Макарэвіч АА, Пірожнік П, Рудакоўскі ІА і інш. *Блакітны скарб Беларусі: рэкі, азёры, вадасховішчы, турысцкі патэнцыял водных аб'ектаў*. Пашкоў ГП, Календа ЛВ, Жукоўская П, рэдактары. Мінск: Беларуская энцыклапедыя імя Петруся Броўкі; 2007. 480 с.
5. Абакумов ВА, редактор. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений*. Ленинград: Гидрометеоздат; 1983. 240 с.
6. Кутикова ЛА. *Коловратки фауны СССР (Rotatoria). Подкласс Eurotatoria (Отряды Ploimida, Monimetrochida, Paedotrochida)*. Ленинград: Наука; 1970. 744 с. (Определители по фауне СССР, издаваемые Зоологическим институтом Академии наук СССР; 104).
7. Мануйлова ЕФ. *Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР*. Москва: Наука; 1964. 328 с. (Определители по фауне СССР, издаваемые Зоологическим институтом Академии наук СССР; 88).
8. Вежновец ВВ. *Ракообразные (Cladocera, Copepoda) в водных экосистемах Беларуси*. Минск: Белорусская наука; 2005. 150 с.



9. Кутикова ЛА, Старобогатов ЯИ, редакторы. *Определитель пресноводных беспозвоночных европейской части СССР (Планктон и бентос)*. Ленинград: Гидрометеиздат; 1977. 512 с.
10. Балущкина ЕВ, Винберг ГГ. Зависимость между длиной и массой тела планктонных ракообразных. В: Винберг ГГ, редактор. *Экспериментальные и полевые исследования биологических основ продуктивности озер*. Ленинград: Зоологический институт АН СССР; 1979. с. 58–79.
11. Винберг ГГ, редактор. *Экологическая система Нарочанских озер*. Минск: Университетское; 1985. 302 с.
12. Жукова ТВ, Михеева ТМ, Ковалевская РЗ, Верес ЮК, Лукьянова ЕВ, Никитина ЛВ и др. *Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино (2014 год)*. Михеева ТМ, редактор. Минск: БГУ; 2015. 111 с.
13. Жукова ТВ, Михеева ТМ, Адамович БВ, Ковалевская РЗ, Верес ЮК, Лукьянова ЕВ и др. *Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино (2015 год)*. Михеева ТМ, редактор. Минск: БГУ; 2016. 99 с.
14. Жукова ТВ, Михеева ТМ, Адамович БВ, Ковалевская РЗ, Верес ЮК, Лукьянова ЕВ и др. *Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино (2016 год)*. Михеева ТМ, редактор. Минск: БГУ; 2017. 107 с.
15. Жукова ТВ, Михеева ТМ, Адамович БВ, Ковалевская РЗ, Верес ЮК, Лукьянова ЕВ и др. *Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино (2017 год)*. Михеева ТМ, редактор. Минск: БГУ; 2018. 119 с.
16. Жукова ТВ, Михеева ТМ, Адамович БВ, Ковалевская РЗ, Жукова АА, Верес ЮК и др. *Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино (2018 год)*. Михеева ТМ, редактор. Минск: БГУ; 2019. 111 с.
17. Sommer U, Gliwicz ZM, Lampert W, Duncan A. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*. 1986;106(4):433–471.

References

1. Andronikova IN. *Strukturno-funktsional'naya organizatsiya zooplanktona ozernykh ekosistem raznykh troficheskikh tipov* [Structural and functional organisation of zooplankton in lake ecosystems of different trophic types]. Saint Petersburg: Nauka; 1996. 189 p. Russian.
2. Lopukh PS, Yakushko OF. *Obshchaya limnologiya* [General limnology]. Minsk: Belarusian State University; 2011. 365 p. Russian.
3. Aronov AG, Aronova TI, Vlasov BP, Ezhova OS, Zhukova TV, Kovalevskaya RZ, et al. *Vodnye resursy Natsional'nogo parka «Narochanskii»* [Water resources of the National Park «Narochansky»]. Lyushtyk VS, Zhukova TV, editors. Minsk: Rifting print; 2012. 128 p. Russian.
4. Zhukovskaja GS, Loginava AU, Lopuh PS, Makarjevich AA, Pirozhnik II, Rudakowski IA, et al. *Blakitny skarb Belarusi: rjeki, azjory, vadashovichy, turyjski patjencyjal vodnyh ab'ektaw* [Blue treasure of Belarus: rivers, lakes, reservoirs, tourist potential of water objects]. Pashkow GP, Kalenda LV, Zhukovskaja TI, editors. Minsk: Belaruskaja jencyklapedyja imja Petrusja Browki; 2007. 480 p. Belarusian.
5. Abakumov VA, editor. *Rukovodstvo po metodam gidrobiologicheskogo analiza poverkhnostnykh vod i donnykh otlozhenii* [Guide to methods for hydrobiological analysis of surface water and bottom sediments]. Leningrad: Gidrometeoizdat; 1983. 240 p. Russian.
6. Kutikova LA. *Kolovratki fauny SSSR (Rotatoria). Podklass Eurotatoria (Otryady Ploimida, Monimotrochida, Paedotrochida)* [Rotifers of the fauna of the USSR (Rotatoria). Eurotatoria subclass (Orders Ploimida, Monimotrochida, Paedotrochida)]. Leningrad: Nauka; 1970. 744 p. (Opredeliteli po faune SSSR, izdavaemye Zoologicheskim institutom Akademii nauk SSSR; 104). Russian.
7. Manuilova EF. *Vetvistousye rachki (Cladocera) fauny SSSR* [Cladocera of the fauna of the USSR]. Moscow: Nauka; 1964. 328 p. (Opredeliteli po faune SSSR, izdavaemye Zoologicheskim institutom Akademii nauk SSSR; 88). Russian.
8. Vezhnovets VV. *Rakoobraznye (Cladocera, Copepoda) v vodnykh ekosistemakh Belarusi* [Crustaceans (Cladocera, Copepoda) in aquatic ecosystems of Belarus]. Minsk: Belorusskaya nauka; 2005. 150 p. Russian.
9. Kutikova LA, Starobogатов YaI, editors. *Opredelitel' presnovodnykh bespozvonochnykh evropeiskoi chasti SSSR (Plankton i bentos)* [Keys to freshwater invertebrates of the European part of the USSR (Plankton and benthos)]. Leningrad: Gidrometeoizdat; 1977. 512 p. Russian.
10. Balushkina EV, Vinberg GG. [The relationship between length and body weight of planktonic crustaceans]. In: Vinberg GG, editor. *Ekspperimental'nye i polevye issledovaniya biologicheskikh osnov produktivnosti ozer* [Experimental and field studies of the biological foundations of lake productivity]. Leningrad: Zoological Institute of the Academy of Sciences of the USSR; 1979. p. 58–79. Russian.
11. Vinberg GG, editor. *Ekologicheskaya sistema Narochanskikh ozer* [Ecological system of Narochanskie lakes]. Minsk: Universitetskoe; 1985. 302 p. Russian.
12. Zhukova TV, Mikheeva TM, Kovalevskaya RZ, Veres YuK, Luk'yanova EV, Nikitina LV, et al. *Byulleten' ekologicheskogo sostoyaniya ozer Naroch', Myastro, Batorino (2014 god)* [Bulletin of ecological state of lakes Naroch, Myastro, Batorino (2014)]. Mikheeva TM, editor. Minsk: Belarusian State University; 2015. 111 p. Russian.
13. Zhukova TV, Mikheeva TM, Adamovich BV, Kovalevskaya RZ, Veres YuK, Luk'yanova EV, et al. *Byulleten' ekologicheskogo sostoyaniya ozer Naroch', Myastro, Batorino (2015 god)* [Bulletin of ecological state of lakes Naroch, Myastro, Batorino (2015)]. Mikheeva TM, editor. Minsk: Belarusian State University; 2016. 99 p. Russian.
14. Zhukova TV, Mikheeva TM, Adamovich BV, Kovalevskaya RZ, Veres YuK, Luk'yanova EV, et al. *Byulleten' ekologicheskogo sostoyaniya ozer Naroch', Myastro, Batorino (2016 god)* [Bulletin of ecological state of lakes Naroch, Myastro, Batorino (2016)]. Mikheeva TM, editor. Minsk: Belarusian State University; 2017. 107 p. Russian.
15. Zhukova TV, Mikheeva TM, Adamovich BV, Kovalevskaya RZ, Veres YuK, Luk'yanova EV, et al. *Byulleten' ekologicheskogo sostoyaniya ozer Naroch', Myastro, Batorino (2017 god)* [Bulletin of ecological state of lakes Naroch, Myastro, Batorino (2017)]. Mikheeva TM, editor. Minsk: Belarusian State University; 2018. 119 p. Russian.
16. Zhukova TV, Mikheeva TM, Adamovich BV, Kovalevskaya RZ, Zhukova AA, Veres YuK, et al. *Byulleten' ekologicheskogo sostoyaniya ozer Naroch', Myastro, Batorino (2018 god)* [Bulletin of ecological state of lakes Naroch, Myastro, Batorino (2018)]. Mikheeva TM, editor. Minsk: Belarusian State University; 2019. 111 p. Russian.
17. Sommer U, Gliwicz ZM, Lampert W, Duncan A. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*. 1986;106(4):433–471.

Получена 01.05.2021 / исправлена 24.05.2021 / принята 23.06.2021.
Received 01.05.2021 / revised 24.05.2021 / accepted 23.06.2021.

УДК 57.04:57.085.23-612.112

ХАРАКТЕРИСТИКА КРИОПРОТЕКТОРОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ДОЛГОВРЕМЕННОГО ХРАНЕНИЯ ДОНОРСКИХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

О. В. ТИМОХИНА¹⁾, А. Е. ГОНЧАРОВ¹⁾

¹⁾Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Полученные из донорских моноцитов дендритные клетки перспективны для использования в лечении онкологических заболеваний. Однако имеются проблемные вопросы, лимитирующие в настоящее время их клиническое применение. Одним из таковых является протокол криоконсервации клеток с последующим восстановлением по востребованию. В целях снижения или полного исключения повреждающих факторов, действующих на клетки при замораживании, в питательную среду добавляется криопротектор. Используемые криопротекторы относятся к широкому спектру сахаров, диолов и аминокислот, которые стабилизируют биомолекулы различными способами в зависимости от их молекулярной массы и механизма действия на клетки. В работе охарактеризованы группы криопротекторов (эндо- и экзоцеллюлярные, смешанные и комбинированные), а также представлены методики криоконсервации дендритных клеток.

Ключевые слова: дендритные клетки; донорские дендритные клетки; криопротектор.

Образец цитирования:

Тимохина ОВ, Гончаров АЕ. Характеристика криопротекторов, используемых для длительного хранения донорских дендритных клеток. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2021;3:102–108. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-102-108>

For citation:

Timohina OV, Hancharou AY. Characteristics of cryoprotectors used for long-term storage of donor dendritic cells. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;3:102–108. Russian. <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-102-108>

Авторы:

Оксана Васильевна Тимохина – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и клеточной биофизики.
Андрей Евгеньевич Гончаров – кандидат медицинских наук, доцент, директор.

Authors:

Oksana V. Timohina, junior researcher at the laboratory of immunology and cell biophysics.
oksanabuschik@gmail.com
Andrei Y. Hancharou, PhD (medicine), docent, director.
andrei.hancharou@gmail.com



CHARACTERISTICS OF CRYOPROTECTORS USED FOR LONG-TERM STORAGE OF DONOR DENDRITIC CELLS

O. V. TIMOHINA^a, A. Y. HANCHAROU^a

^a*Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus*

Corresponding author: O. V. Timohina (oksanabuschik@gmail.com)

Monocyte-derived donor dendritic cells are promising for use in the treatment of cancer. However, there are some problems that currently limit their clinical use. One of which is the cryopreservation of cells followed by restoration on demand. A cryoprotector must be added to the nutrient medium in order to reduce or completely eliminate the damaging factors acting on cells during freezing. Cryoprotectors refer to a wide range of sugars, diols and amino acids that stabilise biomolecules in various ways, depending on their molecular weight and mechanism of action on cells. The work describes groups of cryoprotectors (endo- and exocellular, mixed and combined cryoprotectors), as well as presents techniques of cryopreservation of dendritic cells.

Keywords: dendritic cells; donor dendritic cells; cryoprotector.

Введение

В последние годы появились работы, посвященные применению полученных из донорских моноцитов дендритных клеток (ДК), отражающие перспективы аллогенного использования ДК в лечении онкологических заболеваний [1–3]. Однако имеются проблемные вопросы, лимитирующие в настоящее время их клиническое применение: отсутствие стандартизации протоколов генерации, индукции созревания, а также криоконсервации донорских ДК.

Для длительного хранения клеточного продукта необходима криоконсервация, которая позволит восстановить биологические функции клеток после размораживания. При замораживании на живые объекты воздействуют два повреждающих фактора – формирование внутриклеточного льда и обезвоживание. Чтобы снизить или полностью исключить эти факторы, в питательную среду следует добавлять криопротектор [4]. Для достижения оптимального режима криоконсервации необходимо обеспечить сбалансированное соотношение питательной среды и криопротектора, так как чрезмерно низкая концентрация криопротектора приводит к шоковому охлаждению, а слишком высокая его концентрация токсична [5].

Используемые криопротекторы относятся к широкому спектру сахаров, диолов и аминокислот, которые стабилизируют биомолекулы различными способами в зависимости от их молекулярной массы и механизма действия на клетки. Выделяют две основные группы криопротекторов – эндоцеллюлярные (глицерин, диметилсульфоксид (ДМСО), диметилацетамид (ДМАЦ), пропиленгликоль (ПГ), этиленгликоль (ЭГ)) и экзоцеллюлярные (поливинилпирролидон (ПВП), гидроксипропилкрахмал (ГЭК)).

Характеристика различных групп криопротекторов

Эндоцеллюлярные протекторы имеют низкую молекулярную массу (<100 Да), за счет чего способны проникать в клетки через плазматическую мембрану. Вещества данной группы обладают выраженной токсичностью, это обуславливает необходимость отмывки размороженной клеточной взвеси, что приводит к потере части криоконсервированных клеток [4].

Наиболее используемым криопротектором является ДМСО (7–10 % раствор) – органическое вещество, относящееся к классу оксидов, которое хорошо проникает в клетки, реорганизует структуру образующегося льда. Благодаря наличию кислорода ДМСО обладает высокой способностью вступать в реакции с солями и оксидами фосфора, серы, формировать связи с глицерином, сахарозой и другими органическими соединениями. Показано, что токсичность ДМСО на организменном уровне имеет видовую зависимость: полупетальная доза (ЛД₅₀) для кроликов составляет 19,2 г на 1 кг массы тела животного, для обезьян – 11,0, для мышей – 3,8, для собак – 2,5 г/кг.

Имеются данные об использовании в качестве криопротекторов глицерина, ДМАЦ, ПГ, ЭГ. Глицерин (10–20 % раствор) – органическое вещество, простейший представитель трехатомных спиртов. Его криопротекторная активность высока на различных биологических объектах. Однако как трехатомный спирт глицерин оказывает токсическое действие на данные биологические объекты (ЛД₅₀ составляет (4,57 ± 0,14) г/кг). Аминоспирт ДМАЦ обладает высокой криопротекторной активностью в отношении



тромбоцитов, лейкоцитов и других клеток. Он разрешен для клинического применения. Токсичность вещества изучена на различных животных: ЛД₅₀ для мышей составляет 4,2 г/кг, для крыс – 3,56 г/кг. Двухатомный спирт ПГ обладает протекторными свойствами в отношении различных клеток животных на более высоком уровне, чем глицерин и ДМСО, но при этом вызывает изменения на цитоплазматическом уровне. Установлено, что ЛД₅₀ для кроликов составляет 13,1 г/кг, для крыс – 6,0 г/кг [6]. Двухатомный спирт ЭГ – кислородсодержащее органическое соединение, которое при использовании в качестве криопротектора не оказывает выраженного цитотоксического действия на клетки. При этом отмечены низкая токсичность на клеточном уровне и выраженная токсичность на организменном [7]. Его ЛД₅₀ для крыс составляет 4,7 г/кг.

Экзоцеллюлярные протекторы не способны проникать в клетку из-за их высокой молекулярной массы (180–594 Да). Данные криопротекторы предотвращают гиперосмотический лизис [8; 9]. Растворы не проникающих в клетки органических веществ, как правило, обладают более слабыми криопротекторными свойствами и низкой токсичностью на клеточном и организменном уровнях. Интерес к криопротекторам этой группы не ослабевает благодаря возможности синтезировать протектор, не требующий удаления из размороженной взвеси клеток. Наиболее выраженными криопротекторными свойствами обладают ПВП, ГЭК и растворы на их основе. Искусственный полимер ПВП термоустойчив, ЛД₅₀ данного вещества на мышах не установлена. При внутривенном введении 25 % раствора ПВП переносимая доза составляет 8 г/кг, летальная – 12–15 г/кг. Являясь практически нетоксичным, биологически инертным веществом с почти отсутствующей иммунологической активностью [10], ГЭК может включаться в метаболические процессы в организме [11]. Однако в клиническом аспекте отмечена его способность вызывать аллергические и анафилактические реакции различной степени тяжести.

Кроме того, известны *вещества смешанного криопротекторного действия*, проявляющие свойства эндо- и экзоцеллюлярных криопротекторов, например полимерные соединения полиэтиленоксидов (ПЭО). Так, ПЭО с молекулярной массой 400 и 1500 применяются в качестве криопротекторов клеток костного мозга, крови и других биологических объектов. Установлено, что ПЭО с молекулярной массой до 400 обладают эндоцеллюлярным действием, а высокомолекулярные ПЭО – экзоцеллюлярным. Также отмечено, что ПЭО представляет собой малотоксичное вещество, криопротекторный эффект которого заключается в способности стабилизировать молекулы воды [12].

Появляется все больше фактов, свидетельствующих о том, что *комбинация эндо- и экзоцеллюлярных криопротекторов* более эффективна [13]. Перспективным направлением считается изучение эффективности комбинированных криопротекторов с включением в их состав дополнительных ингредиентов из солей органических и неорганических кислот, углеводов, белков плазмы крови, биологически активных веществ и других компонентов. По причине видоспецифичности биологического материала состав комбинированных криопротекторов вариативен (экзо- и эндоцеллюлярные криопротекторы, антиоксиданты и стабилизаторы биологических мембран (витамин Е, сывороточный альбумин)) [14]. Комбинированные криопротекторы способствуют стабилизации фракций воды, образованию мелкокристаллического льда, снижению эффекта гиперконцентрации солей и т. д. Однако в присутствии ряда криопротекторов отмечается увеличение интенсивности перекисного окисления липидов, которое зависит от вида вещества, его концентрации и времени экспозиции в нем клеток [15]. Замораживание и размораживание оказывают дополнительное влияние на повышение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, что приводит к изменению состояния липидного бислоя клеточных мембран и нарушению структурных и функциональных систем клетки – ионных насосов, мембранных ферментов. Следовательно, при комбинировании необходимо учитывать воздействие данных веществ на клетки.

До настоящего времени остается открытым вопрос, какими свойствами должен обладать эффективный криопротектор, хотя некоторые из них известны: способность сохранять биологическую полноценность после замораживания-оттаивания, нетоксичность, отсутствие необходимости отмывания взвеси клеток после размораживания, растворимость в воде, способность стабилизировать молекулы воды, отсутствие накопления в клетках и разрушения клеточных мембран, способность участвовать в метаболических процессах жизнеспособных клеток [16].

Преимущества и недостатки охарактеризованных групп криопротекторов представлены в таблице.

В клинических исследованиях используют различные методики криоконсервации ДК [17–19]. В проведенных в США исследованиях ДК моноцитарного происхождения, культивируемые в бессывороточной среде, замораживали и хранили при –80 °С с использованием 4 % человеческого сывороточного альбумина и криопротекторов – внеклеточного 6 % ГЭК и внутриклеточного 5 % ДМСО. После размораживания оценивали жизнеспособность, фенотип ДК и представление антигена до и после криоконсервации (3, 6, 9, 12 мес. и более). Показано, что ДК сохраняли жизнеспособность ((82,0 ± 2,3) %) не менее 24 мес. Фенотип и функции ДК были сопоставимы с показателями до криоконсервации [17].



Характеристика криопротекторов
Characteristics of cryoprotectors

| № п/п | Криопротекторы | Преимущества | Недостатки |
|-------|---|--|--|
| 1 | Эндоцеллюлярные | Низкая молекулярная масса (<100 Да), позволяющая проникать в клетки через плазматическую мембрану | Выраженная токсичность, обуславливающая необходимость отмывки взвеси клеток после размораживания |
| 1.1 | Диметилсульфоксид | Хорошее проникновение в клетки, реорганизация структуры образующегося льда, высокая способность вступать в реакции с солями и оксидами фосфата, серы, формировать связи с глицерином, сахарозой и др. | ЛД ₅₀ = 19,2 г/кг (для кроликов), ЛД ₅₀ = 11,0 г/кг (для обезьян), ЛД ₅₀ = 3,8 г/кг (для мышей), ЛД ₅₀ = 2,5 г/кг (для собак) |
| 1.2 | Глицерин | Высокая криопротекторная активность на различных биологических объектах | ЛД ₅₀ = (4,57 ± 0,14) г/кг |
| 1.3 | Диметилацетамид | Высокая криопротекторная активность в отношении тромбоцитов, лейкоцитов и других клеток, наличие разрешения на клиническое применение | ЛД ₅₀ = 4,2 г/кг (для мышей), ЛД ₅₀ = 3,56 г/кг (для крыс) |
| 1.4 | Пропиленгликоль | Протекторные свойства в отношении различных клеток животных на более высоком уровне, чем у глицерина и диметилсульфоксида | ЛД ₅₀ = 13,1 г/кг (для кроликов), ЛД ₅₀ = 6,0 г/кг (для крыс) |
| 1.5 | Этиленгликоль | Криопротекторные свойства, отсутствие выраженного цитотоксического действия на клетки | Выраженная токсичность на организменном уровне при низкой токсичности на клеточном уровне, ЛД ₅₀ = 4,7 г/кг (для крыс) |
| 2 | Экзоцеллюлярные | Низкая токсичность на клеточном и организменном уровнях, возможность синтезировать криоконсерванты, не требующие удаления из размороженной клеточной взвеси | Неспособность проникать в клетку из-за высокой молекулярной массы (180–594 Да), слабые криопротекторные свойства |
| 2.1 | Поливинилпирролидон | Термоустойчивость | Неустановление ЛД ₅₀ на мышах, переносимая доза при внутривенном введении 25 % раствора – 8 г/кг, летальная – 12–15 г/кг |
| 2.2 | Гидроксиэтилкрахмал | Нетоксичность, биологическая инертность с практически отсутствующей иммунологической активностью, способность включаться в метаболические процессы в организме | Способность вызывать аллергические и анафилактические реакции различной степени тяжести |
| 3 | Смешанные | – | – |
| 3.1 | Полимерные соединения полиэтиленоксидов | Эндоцеллюлярное (соединения полиэтиленоксидов с молекулярной массой до 400) и экзоцеллюлярное (высокомолекулярные соединения полиэтиленоксидов) действие, криопротекторный эффект, заключающийся в способности стабилизировать молекулы воды | Токсичность |



| № п/п | Криопротекторы | Преимущества | Недостатки |
|-------|-----------------|--|---|
| 4 | Комбинированные | Большая эффективность, способствование стабилизации фракций воды, образованию мелкокристаллического льда, снижению эффекта гиперконцентрации солей и т. д. | Наблюдаемое в присутствии ряда криопротекторов увеличение интенсивности перекисного окисления липидов, приводящее к изменению состояния липидного бислоя клеточных мембран и нарушению структурных и функциональных систем клетки |

В Республике Корее исследовали влияние криоконсервации моноцитов периферической крови на дифференцировку их в ДК. При этом криоконсервировали более $1 \cdot 10^8$ клеток на 1 мл моноцитов периферической крови ($n = 52$ нед.) с использованием морозильника с регулируемой скоростью замораживания и хранили их в паровой фазе резервуара с жидким азотом. Влияние криоконсервации моноцитов на дифференцировку в ДК оценивали путем сравнения фенотипических и функциональных свойств незрелых и зрелых ДК, полученных из криоконсервированных моноцитов, с аналогичными свойствами ДК, дифференцированных из свежих моноцитов. В результате было показано, что дифференцированные из восстановленных после криоконсервации моноцитов ДК имели типичный иммунофенотип и сохраняли функциональную активность, эквивалентную активности ДК, полученных из свежих моноцитов [18].

В Национальном центре клеточных наук (Индия) оценивали влияние добавления трегалозы (не проникающего внутрь клеток олигосахарида) в криопротекторную среду на восстановление ДК после криоконсервации. Для длительного хранения ($n = 6$ мес.) ДК, полученные из моноцитов периферической крови, замораживали с помощью программируемой морозильной камеры с регулируемой скоростью замораживания и хранили в жидком азоте. Для кратковременного хранения ($n = 1$ мес.) клетки замораживали и хранили при -80 °С. Криопротекторная среда контрольной группы включала IMDM, 10 % ДМСО и 20 % бычьего сывороточного альбумина; в опытной группе криопротекторная среда дополнительно содержала 50 мкг/мл трегалозы. После восстановления ДК обеих групп оценивали жизнеспособность, морфологию, функциональность и фенотип клеток. Установлено, что добавление трегалозы в криопротекторную среду лучше сохраняет жизнеспособность и функциональность ДК [19].

Заключение

В настоящее время наиболее распространенным криопротектором для длительного хранения ДК является ДМСО – эндоцеллюлярный протектор, хорошо проникающий в клетку. Преимуществами применения ДМСО считаются достаточно низкая токсичность, невысокая стоимость, а также простой протокол пробоподготовки клеток перед криоконсервацией. Однако существуют альтернативные варианты, которые были описаны в единичных работах и не получили широкого распространения. Для определения подходящего протектора для криоконсервации донорских ДК, предназначенных для лечения онкозаболеваний, нужны дальнейшие исследования.

Библиографические ссылки

1. Flörcken A, Kopp J, van Lessen A, Movassaghi K, Takvorian A, Jöhrens K, et al. Allogeneic partially HLA-matched dendritic cells pulsed with autologous tumor cell lysate as a vaccine in metastatic renal cell cancer: a clinical phase I/II study. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2013;9(6):1217–1227. DOI: 10.4161/hv.24149.
2. Saito S, Yanagisawa R, Yoshikawa K, Higuchi Y, Koya T, Yoshizawa K, et al. Safety and tolerability of allogeneic dendritic cell vaccination with induction of Wilms tumor 1-specific T cells in a pediatric donor and pediatric patient with relapsed leukemia: a case report and review of the literature. *Cytotherapy*. 2015;17(3):330–335. DOI: 10.1016/j.jcyt.2014.10.003.
3. Laurell A, Lönnemark M, Brekkan E, Magnusson A, Tolf A, Wallgren AC, et al. Intratumorally injected pro-inflammatory allogeneic dendritic cells as immune enhancers: a first-in-human study in unfavourable risk patients with metastatic renal cell carcinoma. *Journal for Immuno Therapy of Cancer*. 2017;5(1):52. DOI: 10.1186/s40425-017-0255-0.
4. Kusuma GD, Barabadi M, Tan JL, Morton DAV, Frith JE, Lim R. To protect and to preserve: novel preservation strategies for extracellular vesicles. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:1199. DOI: 10.3389/fphar.2018.01199.
5. Best BP. Cryoprotectant toxicity: facts, issues, and questions. *Rejuvenation Research*. 2015;18(5):422–436. DOI: 10.1089/rej.2014.1656.
6. Костяев АА, Утёмов СВ, Андреев АА, Полежаева ТВ, Мартусевич АК, Исаева НВ и др. Четырехклассная систематизация биокриоконсервантов. I класс хладоограждающих растворов – эндоцеллюлярные криоконсерванты. *Вестник гематологии*. 2016;12(3):28–35.



7. Boutron P, Kaufmann A. Stability of the amorphous state in the system water-glycerol-ethylene glycol. *Cryobiology*. 1979; 16(1):83–89. DOI: 10.1016/0011-2240(79)90015-4.
8. Van Blitterswijk C, De Boer J, Thomsen P, Hubbell J, Cancedda R, de Bruijn JD, et al. *Tissue engineering*. Amsterdam: Elsevier; 2008. 369 p.
9. Motta JPR, Paraguassú-Braga FH, Bouzas LF, Porto LC. Evaluation of intracellular and extracellular trehalose as a cryoprotectant of stem cells obtained from umbilical cord blood. *Cryobiology*. 2014;68(3):343–348. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2014.04.007.
10. Костяев АА, Утёмов СВ, Андреев АА, Полежаева ТВ, Мартусевич АК, Исаева НВ и др. Четырехклассная систематизация биокриоконсервантов. II класс хладоограждающих растворов – экзоцеллюлярные криоконсерванты. *Вестник гематологии*. 2016;12(3):36–39.
11. Polushina TV, Prostakova TM, Bogino NA. Antishock blood substitute on the basis of oxyethylated starch. *Проблемы гематологии и переливания крови*. 1980;25(3):40–44.
12. Костяев АА, Утёмов СВ, Андреев АА, Полежаева ТВ, Мартусевич АК, Исаева НВ и др. Четырехклассная систематизация биокриоконсервантов. III класс хладоограждающих растворов – криоконсерванты смешанного действия. *Вестник гематологии*. 2016;12(4):4–8.
13. Sung Yun Ha, Byung Chul Jee, Chang Suk Suh, Hee Sun Kim, Sun Kyung Oh, Seok Hyun Kim, et al. Cryopreservation of human embryonic stem cells without the use of a programmable freezer. *Human Reproduction*. 2005;20(7):1779–1785. DOI: 10.1093/humrep/deh854.
14. Костяев АА, Утёмов СВ, Андреев АА, Полежаева ТВ, Мартусевич АК, Исаева НВ и др. Четырехклассная систематизация биокриоконсервантов. IV класс хладоограждающих растворов – комбинированные криоконсерванты. *Вестник гематологии*. 2016;12(4):9–12.
15. Онищенко ЕВ, Зинченко АВ. Исследование влияния некоторых проникающих криопротекторов на микросомы методом хемилюминесценции. *Проблемы криобиологии*. 2005;15(1):50–55.
16. Сведенцов ЕП. *Криоконсерванты для живых клеток*. Оводов ЮС, редактор. Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН; 2010. 80 с.
17. Celluzzi CM, Welbon C. A simple cryopreservation method for dendritic cells and cells used in their derivation and functional assessment. *Transfusion*. 2003;43(4):488–494. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2003.00359.x.
18. Yoon Jeong Heo, Cheol Hun Son, Joo-Seop Chung, You-Soo Park, Jeong Hwa Son. The cryopreservation of high concentrated PBMC for dendritic cell (DC)-based cancer immunotherapy. *Cryobiology*. 2009;58(2):203–209. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2008.12.006.
19. Shinde P, Khan N, Melinkeri S, Kale V, Limaye L. Freezing of dendritic cells with trehalose as an additive in the conventional freezing medium results in improved recovery after cryopreservation. *Transfusion*. 2019;59(2):686–696. DOI: 10.1111/trf.15028.

References

1. Flörcken A, Kopp J, van Lessen A, Movassaghi K, Takvorian A, Jöhrens K, et al. Allogeneic partially HLA-matched dendritic cells pulsed with autologous tumor cell lysate as a vaccine in metastatic renal cell cancer: a clinical phase I/II study. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2013;9(6):1217–1227. DOI: 10.4161/hv.24149.
2. Saito S, Yanagisawa R, Yoshikawa K, Higuchi Y, Koya T, Yoshizawa K, et al. Safety and tolerability of allogeneic dendritic cell vaccination with induction of Wilms tumor 1-specific T cells in a pediatric donor and pediatric patient with relapsed leukemia: a case report and review of the literature. *Cytotherapy*. 2015;17(3):330–335. DOI: 10.1016/j.jcyt.2014.10.003.
3. Laurell A, Lönnemark M, Brekkan E, Magnusson A, Tolf A, Wallgren AC, et al. Intratumorally injected pro-inflammatory allogeneic dendritic cells as immune enhancers: a first-in-human study in unfavourable risk patients with metastatic renal cell carcinoma. *Journal for Immuno Therapy of Cancer*. 2017;5(1):52. DOI: 10.1186/s40425-017-0255-0.
4. Kusuma GD, Barabadi M, Tan JL, Morton DAV, Frith JE, Lim R. To protect and to preserve: novel preservation strategies for extracellular vesicles. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:1199. DOI: 10.3389/fphar.2018.01199.
5. Best BP. Cryoprotectant toxicity: facts, issues, and questions. *Rejuvenation Research*. 2015;18(5):422–436. DOI: 10.1089/rej.2014.1656.
6. Kostyaev AA, Utyomov SV, Andreev AA, Polezhaeva TV, Martusevich AK, Isaeva NV, et al. A four class systematization of biocryoconservants. The I class of cold preserving solutions – endocellular cryoprotectants. *The Bulletin of Hematology*. 2016; 12(3):28–35. Russian.
7. Boutron P, Kaufmann A. Stability of the amorphous state in the system water-glycerol-ethylene glycol. *Cryobiology*. 1979; 16(1):83–89. DOI: 10.1016/0011-2240(79)90015-4.
8. Van Blitterswijk C, De Boer J, Thomsen P, Hubbell J, Cancedda R, de Bruijn JD, et al. *Tissue engineering*. Amsterdam: Elsevier; 2008. 369 p.
9. Motta JPR, Paraguassú-Braga FH, Bouzas LF, Porto LC. Evaluation of intracellular and extracellular trehalose as a cryoprotectant of stem cells obtained from umbilical cord blood. *Cryobiology*. 2014;68(3):343–348. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2014.04.007.
10. Kostyaev AA, Utyomov SV, Andreev AA, Polezhaeva TV, Martusevich AK, Isaeva NV, et al. A four class systematization of biocryoconservants. The II class of cold preserving solutions – exocellular cryoprotectants. *The Bulletin of Hematology*. 2016;12(3):36–39. Russian.
11. Polushina TV, Prostakova TM, Bogino NA. Antishock blood substitute on the basis of oxyethylated starch. *Problemy gematologii i perelivaniya krovi*. 1980;25(3):40–44.
12. Kostyaev AA, Utyomov SV, Andreev AA, Polezhaeva TV, Martusevich AK, Isaeva NV, et al. A four class systematization of biocryoconservants. The III class of cold preserving solutions – cryoprotectants of mixed action. *The Bulletin of Hematology*. 2016; 12(4):4–8. Russian.
13. Sung Yun Ha, Byung Chul Jee, Chang Suk Suh, Hee Sun Kim, Sun Kyung Oh, Seok Hyun Kim, et al. Cryopreservation of human embryonic stem cells without the use of a programmable freezer. *Human Reproduction*. 2005;20(7):1779–1785. DOI: 10.1093/humrep/deh854.
14. Kostyaev AA, Utyomov SV, Andreev AA, Polezhaeva TV, Martusevich AK, Isaeva NV, et al. A four class systematization of biocryoconservants. The IV class of cold preserving solutions – combined cryoconservants. *The Bulletin of Hematology*. 2016;12(4):9–12. Russian.



15. Onischenko EV, Zinchenko AV. Study of effect of some permeable cryoprotectants on microsomes using chemiluminescence method. *Problems of Cryobiology*. 2005;15(1):50–55. Russian.
16. Svedentsov EP. *Kriokonservanty dlya zhivykh kletok* [Cryopreservatives for living cells]. Ovodov YuS, editor. Syktyvkar: Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2010. 80 p. Russian.
17. Celluzzi CM, Welbon C. A simple cryopreservation method for dendritic cells and cells used in their derivation and functional assessment. *Transfusion*. 2003;43(4):488–494. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2003.00359.x.
18. Yoon Jeong Heo, Cheol Hun Son, Joo-Seop Chung, You-Soo Park, Jeong Hwa Son. The cryopreservation of high concentrated PBMC for dendritic cell (DC)-based cancer immunotherapy. *Cryobiology*. 2009;58(2):203–209. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2008.12.006.
19. Shinde P, Khan N, Melinkeri S, Kale V, Limaye L. Freezing of dendritic cells with trehalose as an additive in the conventional freezing medium results in improved recovery after cryopreservation. *Transfusion*. 2019;59(2):686–696. DOI: 10.1111/trf.15028.

Получена 02.07.2021 / исправлена 22.07.2021 / принята 06.08.2021.
Received 02.07.2021 / revised 22.07.2021 / accepted 06.08.2021.

АННОТАЦИИ ДЕПОНИРОВАННЫХ В БГУ РАБОТ
INDICATIVE ABSTRACTS OF THE PAPERS DEPOSITED IN BSU

УДК 58(06)

Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты [Электронный ресурс] : материалы IV Междунар. науч.-практ. конф., приуроч. к 100-летию каф. ботаники (Минск, 31 мая 2021 г.) / БГУ ; [редкол.: В. Н. Тихомиров (гл. ред.) и др.]. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2021. 249 с. : ил., табл. Библиогр. в тексте. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/268321>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 15.09.2021, № 009215092021.

В сборник включены статьи, в которых рассмотрены современное состояние и перспективы исследований по систематике, географии, экологии растений и грибов, взаимоотношениям между растениями и их паразитами, генетике, физиологии и биохимии растений.

Сборник адресован научным сотрудникам, преподавателям высших и средних специальных учебных заведений, аспирантам и студентам старших курсов профильных специальностей.

СОДЕРЖАНИЕ

ИСТОРИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ

| | |
|---|---|
| <i>Демидчик В. В., Тихомиров В. Н., Мацкевич В. С., Сахвон В. В., Дитченко Т. И., Потина-ченко И. М., Буга С. В., Гричик В. В., Евтушенко А. Н., Максимова Н. П., Прокулевич В. А., Семак И. В., Смолич И. И., Чумак А. Г., Лысак В. В.</i> Биологическое образование в Белорусском государственном университете на протяжении 100 лет..... | 3 |
|---|---|

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

| | |
|---|----|
| <i>Узлова Е. В., Зиматкин С. М.</i> АТФ-синтаза в нейронах мозга крысы..... | 17 |
| <i>Потапович А. И., Шутова Т. Г., Костюк Т. В., Костюк В. А.</i> Способность природного химиофилактического агента куркумина функционировать как эффективный УФ-фотосенсибилизатор..... | 28 |
| <i>Филицкова Г. Г., Юрин В. М.</i> Физиолого-биохимические механизмы формирования устойчивости растений к окислительному стрессу под действием пептидного элиситора AtPep1..... | 38 |
| <i>Авимова К. П., Сандаков Д. Б.</i> Влияние стереотипных форм активности на параметры поведения мышей в стандартных поведенческих тестах..... | 47 |

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

| | |
|--|----|
| <i>Падутов В. Е.</i> Популяционно-генетическая структура дуба черешчатого (<i>Quercus robur</i> L.) в Беларуси по данным анализа хлоропластной ДНК..... | 59 |
| <i>Дюбо Ю. В., Охремчук А. Э., Валентович Л. Н., Николайчик Е. А.</i> Системы рестрикции-модификации и профиль метилирования ДНК <i>Pectobacterium carotovorum</i> 2A..... | 71 |

БИОРАЗНООБРАЗИЕ

| | |
|---|----|
| <i>Поликсенова В. Д., Храмцов А. К., Гирилович И. С., Лемеза Н. А., Сидорова С. Г., Стадниченко М. А.</i> Фитопатогенные микромицеты на чужеродных растениях из издания «Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения»..... | 78 |
|---|----|

ЭКОЛОГИЯ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ

| | |
|---|----|
| <i>Селивончик И. Н.</i> Сезонная динамика зоопланктона в озерах разного трофического статуса..... | 88 |
|---|----|

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

| | |
|--|-----|
| <i>Тимохина О. В., Гончаров А. Е.</i> Характеристика криопротекторов, используемых для длительного хранения донорских дендритных клеток..... | 102 |
| Аннотации депонированных в БГУ работ..... | 109 |

CONTENTS

HISTORICAL MATERIALS AND SIGNIFICANT DATES

| | |
|---|---|
| <i>Demidchik V. V., Tikhomirov V. N., Matskevich V. S., Sakhvon V. V., Ditchenko T. I., Popinachenko I. M., Buga S. V., Grichik V. V., Evtushenkov A. N., Maximova N. P., Prokulevich V. A., Semak I. V., Smolich I. I., Chumak A. G., Lysak V. V.</i> Biological education in Belarusian State University for 100 years..... | 3 |
|---|---|

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

| | |
|--|----|
| <i>Uzlova E. V., Zimatkin S. M.</i> ATP synthase in rat brain neurons | 17 |
| <i>Potapovich A. I., Shutava T. G., Kostyuk T. V., Kostyuk V. A.</i> The ability of the natural chemoprophylactic agent curcumin to function as an effective UV photosensitiser..... | 28 |
| <i>Filiptsova H. G., Yurin V. M.</i> Physiological and biochemical mechanisms of plants resistance to oxidative stress under peptide elicitor AtPep1..... | 38 |
| <i>Avimova K. P., Sandakov D. B.</i> The influence of the stereotypic forms of activity in mice behaviour in standard behavioural tests | 47 |

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

| | |
|---|----|
| <i>Padutov V. E.</i> Population genetic structure of pedunculate oak (<i>Quercus robur</i> L.) in Belarus according to the analysis of chloroplast DNA | 59 |
| <i>Diubo Y. V., Akhremchuk A. E., Valentovich L. N., Nikolaichik Y. A.</i> Restriction-modification systems and DNA methylation profile of <i>Pectobacterium carotovorum</i> 2A | 71 |

BIODIVERSITY

| | |
|---|----|
| <i>Poliksenova V. D., Khramtsov A. K., Hirilovich I. S., Lemeza N. A., Sidorova S. G., Stadnichenko M. A.</i> Phytopathogenic micromycetes on alien plants from the publication «Black book of the flora of Belarus: alien harmful plants»..... | 78 |
|---|----|

ECOLOGY AND CONSERVANCY

| | |
|--|----|
| <i>Selivonchyk I. N.</i> Seasonal dynamics of zooplankton in lakes of different trophic status | 88 |
|--|----|

SHORT COMMUNICATIONS

| | |
|---|-----|
| <i>Timohina O. V., Hancharou A. Y.</i> Characteristics of cryoprotectors used for long-term storage of donor dendritic cells..... | 102 |
| Indicative abstracts of the papers deposited in BSU..... | 109 |

*Журнал включен Высшей аттестационной комиссией Республики Беларусь в Перечень научных изданий для опубликования результатов диссертационных исследований по биологическим наукам.
Журнал включен в библиографическую базу данных научных публикаций «Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ).*

**Журнал Белорусского
государственного университета. Биология.
№ 3. 2021**

Учредитель:
Белорусский государственный университет

Юридический адрес: пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск.

Почтовый адрес: пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск.

Тел. (017) 259-70-74, (017) 259-70-75.

E-mail: jbiol@bsu.by

URL: <https://journals.bsu.by/index.php/biology>

«Журнал Белорусского государственного
университета. Биология» издается с января 1969 г.
До 2017 г. выходил под названием «Вестник БГУ.
Серия 2, Химия. Биология. География»
(ISSN 2308-9164).

Редактор *О. А. Семенец*
Технический редактор *В. В. Пижкова*
Корректор *Л. А. Меркуль*

Подписано в печать 29.10.2021.
Тираж 100 экз. Заказ 422.

Республиканское унитарное предприятие
«Информационно-вычислительный центр
Министерства финансов Республики Беларусь».
ЛП № 02330/89 от 03.03.2014.
Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.

© БГУ, 2021

**Journal
of the Belarusian State University. Biology.
No. 3. 2021**

Founder:
Belarusian State University

Registered address: 4 Niezaliežnasci Ave.,
Minsk 220030.

Correspondence address: 4 Niezaliežnasci Ave.,
Minsk 220030.

Tel. (017) 259-70-74, (017) 259-70-75.

E-mail: jbiol@bsu.by

URL: <https://journals.bsu.by/index.php/biology>

«Journal of the Belarusian State University. Biology»
published since January, 1969.
Until 2017 named «Vestnik BGU.
Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya»
(ISSN 2308-9164).

Editor *O. A. Semenets*
Technical editor *V. V. Pishkova*
Proofreader *L. A. Merkul'*

Signed print 29.10.2021.
Edition 100 copies. Order number 422.

Republican Unitary Enterprise
«Informatsionno-vychislitel'nyi tsentr
Ministerstva finansov Respubliki Belarus'».
License for publishing No. 02330/89, 3 March 2014.
17 Kal'varyjskaja Str., Minsk 220004.

© BSU, 2021