



БЕЛОРУССКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

---

# EXPERIMENTAL BIOLOGY and BIOTECHNOLOGY

Издается с января 1969 г.

(с 1969 по 2016 г. – под названием

«Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География»,

с 2017 по 2021 г. – под названием

«Журнал Белорусского государственного университета. Биология»)

Выходит три раза в год

---

# 1

# 2023

---

МИНСК  
БГУ

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор**      **ДЕМИДЧИК В. В.** – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, доцент; декан биологического факультета Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь.  
E-mail: dzemidchyk@bsu.by

**Заместитель  
главного редактора**      **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

**Ответственный  
секретарь**      **ФИЛИПЦОВА Г. Г.** – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь.  
E-mail: filiptsova@bsu.by

- Адамович Б. В.*      Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.  
*Валентович Л. Н.*      Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.  
*Гельтман Д. В.*      Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия.  
*Гурин А. В.*      Университетский колледж Лондона, Лондон, Великобритания.  
*Кильчевский А. В.*      Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.  
*Костюк В. А.*      Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.  
*Кульчицкий В. А.*      Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.  
*Лермонтова И. Н.*      Институт генетики и исследования сельскохозяйственных растений им. Г. В. Лейбница, Гатерслебен, Германия.  
*Медведев С. С.*      Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.  
*Мороз Л. Л.*      Флоридский университет, Гейнсвилл, США.  
*Семак И. В.*      Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.  
*Стржалка К.*      Ягеллонский университет, Краков, Польша.  
*Тихомиров В. Н.*      Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.  
*Усанов С. А.*      Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.  
*Чубанов В. С.*      Институт фармакологии и токсикологии им. Вальтера Штрауба Мюнхенского университета им. Людвига и Максимилиана, Мюнхен, Германия.  
*Шабала С. Н.*      Университет Тасмании, Хобарт, Австралия.  
*Ю Мин*      Международный исследовательский центр экологической биологии мембран Фошаньского университета, Фошань, Китай.

## EDITORIAL BOARD

**Editor-in-chief**      **DEMIDCHIK V. V.**, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), docent; dean of the faculty of biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
E-mail: dzemidchyk@bsu.by

**Deputy editor-in-chief**      **SIDOROV A. V.**, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
E-mail: sidorov@bsu.by

**Executive secretary**      **FILIPTSOVA G. G.**, PhD (biology), docent; associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
E-mail: filiptsova@bsu.by

- Adamovich B. V.* Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
*Chubanov V. S.* Walther Straub Institute of Pharmacology and Toxicology, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Germany.  
*Geltman D. V.* V. L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia.  
*Gourine A. V.* University College of London, London, United Kingdom.  
*Kilchevsky A. V.* National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.  
*Kostyuk V. A.* Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
*Kulchitsky V. A.* Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.  
*Lermontova I. N.* Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany.  
*Medvedev S. S.* Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia.  
*Moroz L. L.* University of Florida, Gainesville, USA.  
*Semak I. V.* Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
*Shabala S. N.* University of Tasmania, Hobart, Australia.  
*Strzalka K.* Jagiellonian University, Kraków, Poland.  
*Tikhomirov V. N.* Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
*Usanov S. A.* National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.  
*Valentovich L. N.* Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.  
*Yu Min* International Research Centre for Environmental Membrane Biology, Foshan University, Foshan, China.

---

---

# КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

---

## CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

---

---

УДК 57.043

### ПОСТЛУЧЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО КАЛЬЦИЯ В ТРОМБОЦИТАХ, АКТИВИРОВАННЫХ АДФ И ТРОМБИНОМ

О. Г. ПАРХИМОВИЧ<sup>1)</sup>, О. Д. БИЧАН<sup>2)</sup>, К. Я. БУЛАНОВА<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ,  
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

В ближайшие сроки после облучения в дозе 1 Гр (3-и, 10-е и 30-е сутки) в тромбоцитах отмечается повышенный по сравнению с контрольными значениями базальный уровень ионов кальция в цитоплазме как при наличии, так и при отсутствии ионов кальция во внешней среде. При действии АДФ (20 мкмоль/л) и тромбина (0,02 ЕД/мл) в аналогичных условиях происходит увеличение концентрации ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов в постлучевой период. Максимально выраженные радиационно-индуцированные изменения в содержании цитоплазматического кальция в покоящихся и активированных тромбоцитах наблюдаются на 3-и сутки постлучевого периода.

---

#### Образец цитирования:

Пархимович ОГ, Бичан ОД, Буланова КЯ. Постлучевые изменения концентрации цитоплазматического кальция в тромбоцитах, активированных АДФ и тромбином. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:4–13. <https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-4-13>

#### For citation:

Parkhimovich OG, Bichan OD, Bulanova KYa. Post-radiation changes of cytoplasmatic calcium concentration in platelets activated by ADP and thrombin. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:4–13. Russian. <https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-4-13>

---

#### Авторы:

**Ольга Георгиевна Пархимович** – преподаватель кафедры экологической химии и биохимии факультета экологической медицины.

**Ольга Дмитриевна Бичан** – заведующий учебной лабораторией физического факультета.

**Клавдия Яковлевна Буланова** – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологической химии и биохимии факультета экологической медицины.

#### Authors:

**Olga G. Parkhimovich**, lecturer at the department of environmental chemistry and biochemistry, faculty of environmental medicine.

[olga\\_parkhimovich@mail.ru](mailto:olga_parkhimovich@mail.ru)

**Olga D. Bichan**, head of the educational laboratory, faculty of physics.

[bichan@bsu.by](mailto:bichan@bsu.by)

**Klavdiya Ya. Bulanova**, PhD (biology), docent; associate professor at the department of environmental chemistry and biochemistry, faculty of environmental medicine.

[bulanova\\_home@tut.by](mailto:bulanova_home@tut.by)

Полученные данные свидетельствуют, что повышенная реактивность (ресенсилизация) рецепторов плазматических мембран в ближайшие сроки после облучения в дозе 1 Гр создает условия для проявления геморрагического синдрома не только при развитии лучевой болезни, но и при облучении даже в малых дозах.

**Ключевые слова:** тромбоциты; облучение; кальциевый обмен; агрегация; АДФ; тромбин.

## POST-RADIATION CHANGES OF CYTOPLASMATIC CALCIUM CONCENTRATION IN PLATELETS ACTIVATED BY ADP AND THROMBIN

*O. G. PARKHIMOVICH<sup>a</sup>, O. D. BICHAN<sup>b</sup>, K. Ya. BULANOVA<sup>a</sup>*

*<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,  
23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus*

*<sup>b</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus  
Corresponding author: O. G. Parkhimovich (olga\_parkhimovich@mail.ru)*

In the short term (3<sup>rd</sup>, 10<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days) after irradiation at a dose of 1 Gy, platelets show an increased basal level of calcium ions in the cytoplasm compared to the control values, both in the presence and in the absence of calcium ions in the external environment. Under the action of ADP (20  $\mu\text{mol/L}$ ) and thrombin (0.02 U/mL) under similar conditions, there is an increase in the concentration of calcium ions in the cytoplasm of platelets in the post-radiation period. The most pronounced radiation-induced changes in the content of cytoplasmic calcium in resting and activated platelets are typical for the 3<sup>rd</sup> day of the post-radiation period. The data obtained indicate that the increased reactivity (resensitisation) of plasma membrane receptors in the short term after irradiation at a dose of 1 Gy creates conditions for the manifestation of hemorrhagic syndrome not only with the development of radiation sickness, but even with low-dose irradiation.

**Keywords:** platelets; irradiation; calcium metabolism; aggregation; ADP; thrombin.

### Введение

В патогенезе лучевого поражения наблюдается геморрагический синдром, обусловленный повышением функциональной активности тромбоцитов на ранних стадиях (1-е – 3-и сутки) развития лучевой болезни [1]. Этот факт ориентирует исследования на установление молекулярных механизмов данного феномена в целях выяснения методов коррекции. Нарушения в состоянии агрегационной способности тромбоцитов определяются изменениями сложных механизмов регуляции внутриклеточной концентрации ионов кальция, которые не изучены в достаточной степени для того, чтобы осуществить поиск способов их коррекции.

Цель настоящей работы – изучение молекулярных механизмов рецепторзависимой регуляции содержания цитоплазматического кальция в тромбоцитах животных, облученных в дозе 1 Гр, в различные сроки реабилитационного периода.

### Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись тромбоциты крови облученных и необлученных беспородных белых крыс зрелого возраста (6–7 мес.), стадного разведения массой (250  $\pm$  30) г, содержащихся на стандартном рационе вивария.

Животных подвергали однократному и равномерному облучению  $\gamma$ -квантами <sup>137</sup>Cs в дозе 1 Гр (мощность дозы 0,62 Гр/мин, длительность воздействия 1,61 мин) на установке ИГУР. Контролем служили необлученные животные соответствующего возраста. Облучение проводилось на базе Института радиобиологии НАН Беларуси. Объемы выборок показателей в экспериментальных и контрольных группах сравнения составляли  $n = 15$  и  $n = 18$  соответственно.

Перед забором крови крыс наркотизировали тиопенталом натрия (из расчета 45 мг на 1 кг массы животного). Кровь брали пункцией, при этом применяли короткую иглу достаточно большого диаметра с силиконовой трубкой на тупом конце, которые предварительно промывали 15 % раствором ЭДТА. Полученную кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия в объемном соотношении 9 : 1.

Для исключения контактной активации тромбоцитов во всех экспериментах использовалась только пластиковая или силиконовая посуда.

Тромбоциты для исследования трансмембранных механизмов кальциевого обмена выделяли из обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП), полученной в результате центрифугирования крови при комнатной температуре и ускорении 200 g в течение 5 мин. Для этого ОТП разводили фосфатно-солевым буфером (4,3 ммоль/л  $K_2HPO_4$ , 4,3 ммоль/л  $Na_2HPO_4$ , 22,4 ммоль/л  $NaH_2PO_4$ , 113 ммоль/л NaCl, 10 ммоль/л цитрат натрия, 5 ммоль/л D-глюкоза (pH 6,5)) в объемном соотношении 1 : 1 и наслаивали на фиколл-верографин плотностью  $(1,087 \pm 0,005)$  г/мл. После центрифугирования при комнатной температуре и ускорении 250 g в течение 15 мин тромбоциты располагались в широком мутном слое над кольцом мононуклеаров. Слой тромбоцитов переносили в пластиковые пробирки и осаждали центрифугированием при комнатной температуре и ускорении 650 g в течение 5 мин. Осадок после однократного отмывания суспендировали в буферном растворе (pH 6,5), доводя концентрацию тромбоцитов до  $2 \cdot 10^8 - 5 \cdot 10^8$  клеток на 1 мл. Далее проводили микроскопический контроль чистоты выделяемых тромбоцитов (присутствия других форменных элементов крови не обнаружено).

Для количественного определения концентрации кальция в тромбоцитах использовали флуоресцентный зонд Fura-2 AM (*ION Biosciences*, США). Полученные тромбоциты инкубировали с Fura-2 AM (конечная концентрация 2,5 мкмоль/л), затем осаждали центрифугированием при ускорении 745 g в течение 8 мин. Отмытые тромбоциты суспендировали в HEPES-буфере без ионов кальция (pH 7,4) и доводили концентрацию тромбоцитов до  $2,5 \cdot 10^9$  клеток на 1 мл. Исследование кинетики изменения интенсивности флуоресценции нагруженных Fura-2 AM тромбоцитов проводили на длине волны 510 нм с использованием спектрофлуориметра CM 2203 (*SOLAR*, Беларусь). Длины волн возбуждения составляли 340 и 380 нм. Концентрацию ионов кальция рассчитывали на основе измерения флуоресценции при возбуждении этими двумя длинами волн по формуле

$$[Ca^{2+}]_{цит} = K_d \frac{R_{380, max} F - F_{min}}{R_{380, min} F_{max} - F},$$

где  $K_d$  – константа диссоциации комплекса Fura-2 AM с кальцием ( $K_d = 224$  нмоль/л);  $F = \frac{R_{340}}{R_{380}}$  – теку-

щее отношение флуоресцентных сигналов;  $F_{min}$  – то же отношение в растворе с низкой концентрацией ионов кальция (при добавлении 100 мкмоль/л ЭГТА);  $F_{max}$  – то же отношение в растворе с высокой концентрацией ионов кальция (при добавлении 10 % тритона);  $R_{380, max}$  и  $R_{380, min}$  – флуоресцентный сигнал при добавлении тритона и ЭГТА соответственно.

Анализ и статистическую обработку данных проводили на вычислительном комплексе IBM PC/AT с использованием программного обеспечения *GraphPad Prism 9*. Достоверность различий между средними значениями изучаемых параметров оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

## Результаты и их обсуждение

По мере совершенствования физиологических, электроно-микроскопических, гематологических, биофизических, биохимических и других методов исследования все более четко обозначается и раскрывается физиологическая роль кровяных пластинок, углубляются представления об их значении в гемостазе, выявляются новые функции тромбоцитов, а также молекулярные механизмы нарушений процессов активации и дезактивации при патологических состояниях организма. Исходя из результатов предыдущих исследований, в инициации повышенной реакции тромбоцитов на индукторы агрегации на 3-и сутки после облучения в дозе 1 Гр, вероятнее всего, ведущая роль принадлежит изменению регуляторных кальций-зависимых механизмов, поскольку число тромбоцитов в этих условиях облучения не изменялось [2].

Функции тромбоцитов в состоянии покоя, а также при активации и дезактивации определяются в основном двумя сбалансированными процессами – поступлением ионов кальция в цитоплазму и их оттоком, в которых участвуют специализированные молекулярные структуры плазматической мембраны и внутриклеточных органелл. Приток и отток ионов кальция в активированных тромбоцитах осуществляются несколькими путями, но какой из них становится мишенью для поражения радиацией, в настоящее время неизвестно. Для определения вклада каждого из регуляторных компонентов в поддержание стабильного уровня ионов кальция в покоящихся тромбоцитах или его изменение в ходе процессов активации применяются специальные методические приемы, в том числе с использованием бескальциевой (100 мкмоль/л ЭГТА) и кальцийсодержащей (1 ммоль/л  $CaCl_2$ ) сред. Отсутствие ионов кальция в среде инкубации позволяет исключить трансмембранный перенос ионов внутрь клетки из межклеточного пространства. Это дает возможность оценить эффективность работы мембраносвязанных  $Ca^{2+}$ -АТФаз (одни из них осуществляют депонирование цитозольного кальция во внутриклеточные структуры, другие выполняют перенос ионов кальция из цитоплазмы тромбоцитов во внеклеточную среду). Наличие ионов кальция во внеклеточной жидкости создает условия для экспериментальной оценки роли трансмембранного поступления этих ионов в цитоплазму извне.

**Особенности накопления ионов кальция в цитоплазме покоящихся тромбоцитов облученных крыс.** При отсутствии ионов кальция во внешней среде базальный уровень свободного кальция в цитоплазме тромбоцитов необлученных животных составил  $(34,2 \pm 6,6)$  нмоль/л. После внесения ионов кальция во внеклеточную среду содержание цитоплазматического кальция в покоящихся тромбоцитах возросло на 18,7 нмоль/л (в 1,5 раза) за счет функций систем транспорта ионов через плазматическую мембрану в прямом (в цитоплазму) и обратном (во внеклеточное пространство) направлениях.

На 3-и сутки после облучения в тромбоцитах крыс отмечалось увеличение базального уровня ионов кальция на 49,7 нмоль/л (в 2 раза) в бескальциевой среде и на 120,8 нмоль/л (в 3 раза) в кальцийсодержащей среде. В последующие сроки реабилитационного периода (10-е и 30-е сутки) как в бескальциевой, так и в кальцийсодержащей среде концентрация ионов кальция в цитоплазме покоящихся тромбоцитов постепенно снижалась, приходя к норме на 90-е сутки (см. таблицу).

**Изменение базального уровня ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов крыс в ближайшие и отдаленные сроки после облучения в дозе 1 Гр, нмоль/л**

**Changes in the basal level of calcium ions in the platelet cytoplasm of rats in the immediate and long-term periods after irradiation at a dose of 1 Gy, nmol/L**

Условия инкубации	Контроль	Сроки после облучения			
		3-и сутки	10-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
Бескальциевая среда (100 мкмоль/л ЭГТА)	$34,2 \pm 6,6$	$83,9 \pm 9,2^*$	$49,2 \pm 7,2^*$	$49,6 \pm 3,2^*$	$30,9 \pm 3,0$
Кальцийсодержащая среда (1 ммоль/л $\text{CaCl}_2$ )	$52,9 \pm 8,8^\#$	$173,7 \pm 15,5^{*\#}$	$89,4 \pm 12,3^{*\#}$	$79,1 \pm 4,0^{*\#}$	$53,9 \pm 5,1^\#$

Примечание. Знаком \* отмечены достоверные различия по отношению к соответствующему контролю, знаком # – достоверные различия по отношению к соответствующим данным бескальциевой среды ( $p < 0,05$ ).

В целом полученные данные показывают, что исходными условиями для формирования острой фазы на 3-и сутки после облучения являются повышенные уровни ионов кальция в цитоплазме покоящихся тромбоцитов. Увеличение концентрации цитоплазматического кальция может быть связано с изменением входа этих ионов из внешнего пространства, нарушением функционирования  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз плазматической мембраны, отвечающих за удаление избытка ионов кальция из цитоплазмы во внешнюю среду, и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз тубулярной системы и кислотных органелл, откачивающих ионы кальция из цитоплазмы в эти внутриклеточные депонирующие структуры.

**Изменение рецепторзависимых процессов регуляции притока ионов кальция в цитоплазму тромбоцитов облученных животных.** Среди факторов, инициирующих активность тромбоцитов, выделяют АДФ, АТФ, адреналин, тромбоксан  $\text{A}_2$  ( $\text{TxA}_2$ ), тромбин, фактор активации тромбоцитов (РАФ). Кроме того, активировать тромбоциты могут элементы внеклеточного матрикса, такие как ламинин, фибронектин, коллаген, фактор фон Виллебранда и др. В целом у тромбоцитов выявлено около 50 типов рецепторов, определяющих их физиологическую активность [3].

В настоящем исследовании произведена оценка пострадиационных изменений воздействия АДФ и тромбина на функциональное состояние тромбоцитов. Пуриновые соединения являются наиболее важными активаторами тромбоцитов и играют главенствующую роль в реализации их ответа на повреждение сосудистой стенки, а также в регуляции сосудистого тонуса и воспалительно-репаративного процесса [4]. На поверхности тромбоцитов представлены три варианта пуриновых рецепторов –  $\text{P2X}_1$  (катионный канал, активируемый АТФ [5]),  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$  (ассоциированные с G-белками рецепторы, которые активируются АДФ [6]). Рецепторы  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$  считаются абсолютно необходимыми для осуществления агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. Ответ тромбоцитов на действие АДФ при фармакологическом выключении или генетическом дефиците этих рецепторов полностью отсутствует [7]. На внутриклеточном уровне это проявляется нарушением  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналикации. Для АДФ-индуцированной агрегации необходима совместная активация рецепторов  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$ , изолированное ингибирование одного типа рецепторов ведет к значимому снижению агрегации тромбоцитов.

Известно, что при активации агрегации тромбоцитов под действием АДФ увеличение внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция в тромбоцитах происходит за счет их выброса из внутриклеточных депо и входа через плазматическую мембрану [8].

У крыс экспериментальной группы в ответ на действие АДФ (20 мкмоль/л) в присутствии 1 ммоль/л  $\text{CaCl}_2$  отмечают более значительное, чем у животных контрольной группы, увеличение концентрации ионов кальция в тромбоцитах в ближайшие сроки после облучения и ее нормализация в отдаленные сроки постлучевого периода (рис. 1).

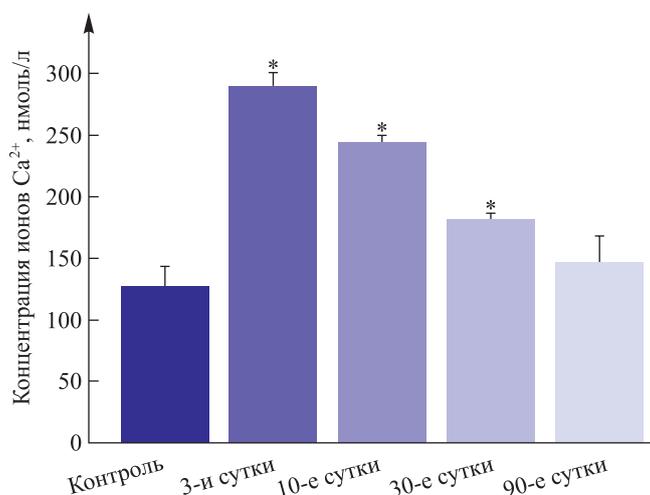


Рис. 1. АДФ-индуцированное высвобождение ионов кальция в тромбоцитах, суспендированных в буфере, содержащем 1 ммоль/л CaCl<sub>2</sub>. Знаком \* отмечены достоверные различия по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Fig. 1. ADP-induced release of calcium ions in platelets suspended in a buffer containing 1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>. Sign \* marked significant differences in relation to control ( $p < 0.05$ )

Так, содержание цитоплазматического кальция в тромбоцитах облученных животных при добавлении АДФ максимально возрастало (в 2,8 раза) по сравнению с контролем ((127,4 ± 16,1) нмоль/л) на 3-и сутки ((289,5 ± 11,7) нмоль/л), снижаясь к 10-м и 30-м суткам ((244,0 ± 6,0) нмоль/л и (181,6 ± 22,3) нмоль/л соответственно). Только на 90-е сутки после облучения при действии АДФ в кальцийсодержащей среде не выявлено достоверных изменений в концентрации ионов кальция ((145,9 ± 5,8) нмоль/л) по сравнению с контрольным значением ((127,4 ± 16,1) нмоль/л).

В условиях ингибирования входа ионов кальция из внешней среды при добавлении 100 мкмоль/л ЭГТА, связывающей двухвалентные катионы, на 3-и сутки постлучевого периода отмечалось достоверное по сравнению с контролем ((182,1 ± 11,2) нмоль/л) увеличение концентрации цитоплазматического кальция ((223,5 ± 11,2) нмоль/л) (рис. 2) за счет снижения его депонирования во внутриклеточных структурах и выброса через плазматическую мембрану. Содержание цитоплазматического кальция в ответ на действие АДФ на 10-е сутки ((190,4 ± 6,3) нмоль/л), 30-е сутки ((180,6 ± 5,1) нмоль/л) и 90-е сутки ((185,7 ± 9,5) нмоль/л) достоверно не изменялось.

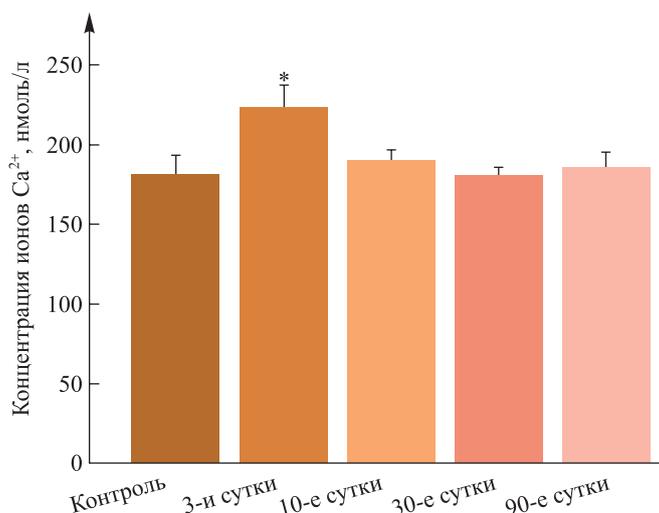


Рис. 2. АДФ-индуцированное высвобождение ионов кальция в тромбоцитах, суспендированных в буфере, содержащем 100 мкмоль/л ЭГТА. Знаком \* отмечены достоверные различия по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Fig. 2. ADP-induced release of calcium ions in platelets suspended in a buffer containing 100 μmol/L EGTA. Sign \* marked significant differences in relation to control ( $p < 0.05$ )

Таким образом, при наличии ионов кальция во внеклеточной среде АДФ вызывал повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция в тромбоцитах облученных животных до 289,5 нмоль/л, а при ингибировании поступления этих ионов извне – до 223,5 нмоль/л. То есть увеличение концентрации на 66 нмоль/л обусловлено постлучевыми нарушениями в содержании цитоплазматического кальция, происходящими в условиях сохранения обмена ионов с внеклеточной средой. При добавлении АДФ постлучевое повышение уровня ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов за счет нарушений в системах депонирования составило 42,4 нмоль/л, а за счет входа через мембрану – 23,6 нмоль/л.

Известно, что АДФ активирует два типа рецепторов ( $P2Y_1$  и  $P2Y_{12}$ ), но каждый из них имеет специфическое функциональное значение. На мембранной поверхности неактивированных тромбоцитов количество рецепторов  $P2Y_1$  невелико, при активации же АДФ происходит их ресенситизация – дополнительная секреция из  $\alpha$ -гранул, приводящая к увеличению количества рецепторов на поверхности наружных мембран [9]. Взаимодействуя с рецептором  $P2Y_1$ , АДФ передает сигнал на  $G_q$ -белок, что вызывает активацию фосфолипазы  $C\beta$ . Это ведет к образованию диацилглицерола (ДАГ) и инозитолтрифосфата (ИФ3). Данные метаболиты активируют протеинкиназу  $C$  и увеличивают содержание цитоплазматического кальция вследствие освобождения его из внутриклеточных депо [10]. Можно полагать, что повышенное накопление ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов облученных животных под воздействием АДФ обусловлено усилением процессов ресенситизации рецепторов  $P2Y_1$ , которое, как показывают исследования [11], связано с нарушением механизмов центрального управления.

Взаимодействие АДФ с рецептором  $P2Y_{12}$  тромбоцитов активирует  $G_i$ -белок, который ингибирует аденилатциклазу, что приводит к снижению концентрации цАМФ в клетке и изменению величины отношения ионов кальция к цАМФ. Таким образом, возникает количественный перевес в сторону пула ионов кальция, это способствует реализации его регуляторных функций в условиях стабильного уровня ионов кальция [12].

Следует учесть, что функция рецепторов  $P2Y_{12}$  в тромбоцитах в некоторых условиях может повышаться из-за сопряжения с активированными рецепторами  $P2Y_1$ , что приводит к стимуляции секреции гранул и выбросу АДФ из тромбоцитов, вызывая тем самым вторичную волну агрегации [13]. Также активация рецепторов  $P2Y_{12}$  под действием АДФ запускает  $G_q$ -зависимые процессы, что стимулирует активность нерецепторной киназы Src типа Lyn. Это сопровождается не только экскрецией содержимого  $\alpha$ -гранул, синтезом  $TxA_2$ , но и активацией сигнального пути PI3K/Akt/mTOR, которая способствует увеличению активности NO-синтазы. Повышение уровня NO в клетке приводит к активации гуанилатциклазы и росту концентрации цГМФ, активирующего цГМФ-зависимую протеинкиназу  $G$ . В результате происходят снижение уровня цитоплазматического кальция и ингибирование тромбоцитов [14]. По этой причине действие АДФ характеризуется обратимостью процесса агрегации.

Таким образом, повышение концентрации цитоплазматического кальция в ближайшие сроки после облучения может быть обусловлено постлучевой ресенситизацией аденозиновых рецепторов  $P2Y_1$  и стимулирующими воздействиями на сопряженные с ними рецепторы  $P2Y_{12}$  тромбоцитов.

В последующих исследованиях эффектов постлучевых нарушений агрегационной способности тромбоцитов было изучено действие тромбина.

Если АДФ является слабым агонистом и индуцирует только обратимую агрегацию вследствие особенностей его расположения на поверхности мембран тромбоцитов и множественности путей реализации сигнала [15], то тромбин выступает самым сильным индуктором агрегации тромбоцитов, причем при низких концентрациях в плазме крови (0,5–2,0 нмоль/л), ввиду воздействия сразу на несколько путей активации тромбоцитов [16]. Взаимодействие протеолитически активного тромбина с тромбоцитами и эндотелиальными клетками играет важную роль при нормальном гемостазе и развитии некоторых патологических состояний [17], что позволяет предполагать возможность его участия в патологических процессах, вызванных действием радиации.

В ходе проведенных исследований влияния тромбина на активность тромбоцитов, определяемого по уровню содержания ионов кальция в цитоплазме, установлено, что радиационно-индуцированные процессы проявляются в разной степени в течение реабилитационного периода. Для выявления радиочувствительности различных механизмов, участвующих в регуляции содержания цитоплазматического кальция в присутствии тромбина, исследования проводились в бескальциевой и кальцийсодержащей средах.

При инкубации в кальцийсодержащей среде в ответ на действие тромбина наблюдалось значительное увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция в тромбоцитах облученных крыс во все рассмотренные сроки постлучевого периода с максимальным эффектом на 3-и сутки (рис. 3).

Как следует из рис. 3, содержание цитоплазматического кальция при добавлении тромбина (0,2 ЕД/мл), действующего через PAR-рецепторы, у необлученных животных достигало ( $174,5 \pm 23,6$ ) нмоль/л. После

облучения этот показатель возрастал до  $(561,9 \pm 12,1)$  нмоль/л на 3-и сутки постлучевого периода, постепенно снижаясь до  $(374,4 \pm 15,7)$  нмоль/л на 10-е сутки и до  $(320,2 \pm 15,1)$  нмоль/л на 30-е сутки. К 90-м суткам постлучевого периода уровень кальция в цитоплазме тромбоцитов все еще превышал контрольное значение на 100 нмоль/л.

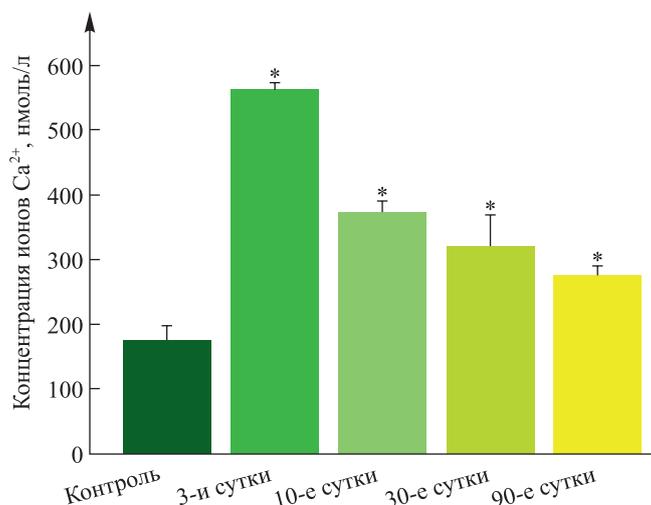


Рис. 3. Индуцированное тромбином высвобождение ионов кальция в тромбоцитах, суспендированных в буфере, содержащем 1 ммоль/л CaCl<sub>2</sub>.  
Знаком \* отмечены достоверные различия по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Fig. 3. Thrombin-induced release of calcium ions in platelets suspended in a buffer containing 1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>.  
Sign \* marked significant differences in relation to control ( $p < 0.05$ )

Таким образом, при наличии ионов кальция во внешней среде постлучевое действие тромбина характеризовалось длительным превышением уровня цитоплазматического кальция с максимальным эффектом на 3-и сутки реабилитационного периода.

В бескальциевой среде обусловленные действием тромбина постлучевые изменения содержания ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов по сравнению с контролем ( $(152,2 \pm 18,3)$  нмоль/л) проявлялись исключительно на 3-и сутки ( $(201,8 \pm 10,9)$  нмоль/л) (рис. 4). Уровни цитоплазматического кальция на 10-е сутки ( $(168,4 \pm 15,2)$  нмоль/л), 30-е сутки ( $(159,2 \pm 13,6)$  нмоль/л) и 90-е сутки ( $(146,9 \pm 15,0)$  нмоль/л) после облучения статистически не отличались от значений в контрольной группе.

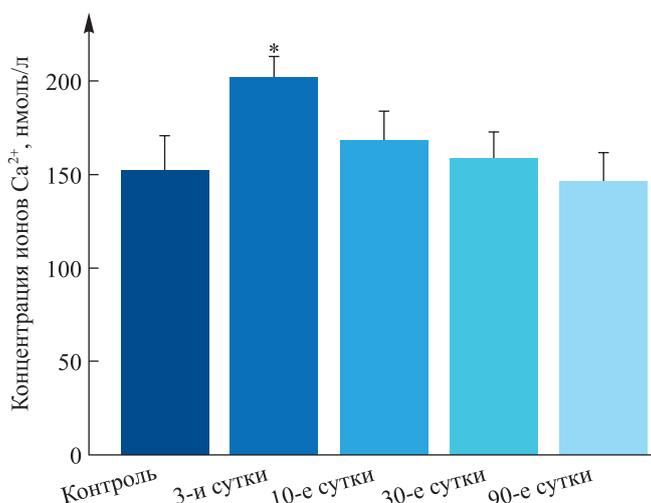


Рис. 4. Индуцированное тромбином изменение уровня цитоплазматического кальция в тромбоцитах, суспендированных в бескальциевом буфере.  
Знаком \* отмечены достоверные различия по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Fig. 4. Thrombin-induced change in the level of cytoplasmic calcium in platelets suspended in a calcium-free buffer.  
Sign \* marked significant differences in relation to control ( $p < 0.05$ )

Известно, что активация тромбоцитов тромбином осуществляется через два типа PAR-рецепторов, сопряженных с G-белками, – PAR1 и PAR4 [18]. В основном она обеспечивается за счет взаимодействия тромбина с высокоаффинным рецептором PAR1. Активация рецепторов этого типа тромбином приводит к ферментативному отщеплению N-концевого фрагмента. В дальнейшем происходит активация фосфолипазы C $\beta$ , что ведет к расщеплению фосфоинозитидов и образованию ДАГ и ИФ3. Данные метаболиты активируют протеинкиназу C и увеличивают содержание цитоплазматического кальция вследствие освобождения его из внутриклеточных депо. Также после рецепторного взаимодействия тромбина и активации G<sub>12/13</sub>-белка происходит инициация активности Rho- и RhoA-киназ. Первый фермент обуславливает фосфорилирование легких цепей миозина и конформационные изменения цитоскелета, второй фермент способствует увеличению секреции плотных гранул тромбоцитов [19].

Важно отметить, что рецепторы PAR1 повышают свою аффинность (ресенситизируются) при небольшом увеличении дозы тромбина, поступившего в кровь. Следовательно, повышение концентрации цитоплазматического кальция в тромбоцитах облученных животных в первую очередь может быть обусловлено активизацией механизмов ресенситизации рецепторов PAR1.

Низкоаффинные рецепторы PAR4 вносят свой вклад только в условиях недостаточности PAR1-сигнализации. Особенностью данного типа рецепторов является способность поддерживать активацию тромбоцитов довольно долгое время независимо от изменения интенсивности внешних стимулов, и только при очень высоких концентрациях тромбина рецепторы PAR4 быстро десенситизируются, т. е. снижают или теряют активность [20]. Еще одна особенность рецепторов PAR4 – сопряжение с АДФ-сигнализацией в тромбоцитах, а именно с рецепторами P2Y<sub>12</sub>. Имеющаяся физическая связь между рецепторами P2Y<sub>12</sub> и PAR4 взаимно влияет на их функциональную активность. Было показано, что эффекты сопряжения рецепторов PAR4 с рецепторами P2Y<sub>12</sub> особенно выражены в условиях ограничения концентрации кальция во внешней среде [21].

Таким образом, стимулирующее действие тромбина на содержание ионов кальция в цитоплазме на 3-и сутки постлучевого периода при инкубации в бескальциевой среде может быть обусловлено усиленным сопряжением рецепторов PAR4 с активированными рецепторами P2Y<sub>12</sub> и проявлением Ca<sup>2+</sup>-стимулирующей функции последних. Активация рецепторов P2Y<sub>12</sub> в тромбоцитах облученных животных, вероятнее всего, вызвана сопряжением с активированными рецепторами P2Y<sub>1</sub>. То есть в формировании повышенного уровня ионов кальция на 3-и сутки постлучевого периода при действии тромбина в бескальциевой среде участвуют сопряженные с рецепторами PAR4 аденозиновые рецепторы, связь между которыми усиливается, возможно, вследствие постлучевых изменений состава фосфолипидов и белок-липидных взаимодействий.

Известно, что при действии тромбина увеличение содержания цитоплазматического кальция в результате освобождения его из внутриклеточных депо также приводит к экспонированию наружу фосфатидилсерина [22], который сам по себе относится к апоптотическим факторам, но при этом способен вызывать изменение соотношения зарядов на внутренней и внешней сторонах мембранного бислоя, нарушая взаимодействие мембранных структур с ионным окружением и меняя их трансмембранный перенос. При тромбинзависимой активации тромбоцита и переходе заряженного фосфатидилсерина на наружную поверхность создаются условия для дополнительного выхода наружу факторов агрегации V, VIII, IX и X.

Не исключено, что скорость функциональных перестроек липидов в бислое мембран тромбоцитов после облучения затормаживается, что также стимулирует рост содержания цитоплазматического кальция.

## Заключение

Динамика эффектов лучевого воздействия на тромбоциты в период реабилитации является результатом нарушения функции мембран и сигнальных путей, регулирующих процессы накопления и элиминации цитоплазматического кальция в тромбоцитах, что в определенной мере может быть связано с ослаблением регуляторных функций центральной нервной системы (ЦНС).

В целом полученные данные позволяют сделать следующие выводы.

1. В ближайшие сроки после облучения в дозе 1 Гр (3-и сутки) в тромбоцитах отмечается повышенный по сравнению с контролем базальный уровень ионов кальция в цитоплазме при инкубации как в бескальциевой, так и в кальцийсодержащей среде. В бескальциевой среде, где отсутствовал приток ионов извне, содержание цитоплазматического кальция увеличилось на 49,7 нмоль/л (в 2 раза), что можно связать с торможением функций Ca<sup>2+</sup>-АТФаз наружных мембран и депонирующих структур. В кальцийсодержащей среде уровень кальция в цитоплазме тромбоцитов облученных животных повысился на 120,8 нмоль/л (в 3 раза) за счет изменений функций систем транспорта ионов через плазматическую мембрану в цитоплазму, происходящих на фоне нарушений депонирования во внутриклеточных депо.

2. На 3-и сутки постлучевого периода при действии АДФ уровень кальция в тромбоцитах облученных животных возрастал в 2,8 раза в кальцийсодержащей среде и в 1,2 раза в бескальциевой среде относительно соответствующего контроля. Это может быть обусловлено постлучевой ресенситизацией аденозиновых рецепторов P2Y<sub>1</sub> и стимулирующими воздействиями на сопряженные с ними рецепторы P2Y<sub>12</sub> тромбоцитов. Указанные постлучевые изменения носят обратимый характер: к 90-м суткам наблюдается нормализация содержания ионов кальция в тромбоцитах.

3. При действии тромбина в кальцийсодержащей среде уровень цитоплазматического кальция максимально возрастал (в 3,2 раза) на 3-и сутки реабилитационного периода, постепенно снижаясь к 90-м суткам после облучения, но не достигая уровня контроля. В бескальциевой среде постлучевые изменения в содержании ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов при действии тромбина проявлялись исключительно на 3-и сутки (увеличение в 1,3 раза по сравнению с контролем), скорее всего, за счет активации функции аденозиновых рецепторов, сопряженных с рецепторами PAR4 (вероятно, вследствие временного критического изменения липидного микроокружения в эти сроки реабилитационного периода).

Полученные данные свидетельствуют, что повышенная реактивность (ресенситизация) рецепторов плазматических мембран в ближайшие сроки после облучения в дозе 1 Гр создает условия для проявления геморрагического синдрома не только при развитии лучевой болезни, но и при облучении даже в малых дозах. Ресенситизация рецепторов клеток организма – закономерное явление в условиях постлучевого снижения регуляторных функций ЦНС. Можно сделать вывод, что корректирующие препараты, применяемые для нормализации гемостаза, должны иметь разные точки приложения. Опосредованность эффектов, возникающих в рецепторах тромбоцитов облученных животных, предполагает коррекцию работы в первую очередь регуляторных центров ЦНС. Дополнительно может быть рекомендовано применение препаратов для местного снижения повышенной чувствительности рецепторов тромбоцитов у облученных организмов.

### Библиографические ссылки

1. Стожаров АН, Квиткевич ЛА, Солодкая ГА, Аветисов АР, Синякова ОК, Сычик СИ. *Радиационная медицина*. Стожаров АН, редактор. Минск: МГМИ; 2000. 154 с.
2. Пархимович ОГ, Бичан ОД, Буланова КЯ. Постлучевые изменения содержания в крови тромбоцитов и их функциональной активности. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2022;2:59–65. DOI: 10.46646/2521-683X/2022-2-59-65.
3. Шатурный ВИ, Шахиджанов СС, Свешникова АН, Пантелеев МА. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия*. 2014;60(2):182–200.
4. Загидуллин НШ, Валеева КФ, Гассанов Н, Загидуллин ШЗ. Значение дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях и методы ее медикаментозной коррекции. *Кардиология*. 2010;50(5):54–60.
5. Clifford EE, Parker K, Humphreys BD, Kertesy SB, Dubyak GR. The P2X<sub>1</sub> receptor, an adenosine triphosphate – gated cation channel, is expressed in human platelets but not in human blood leukocytes. *Blood*. 1998;91(9):3172–3181. DOI: 10.1182/blood.V91.9.3172.
6. Offermanns S. Activation of platelet function through G protein – coupled receptors. *Circulation Research*. 2006;99(12):1293–1304. DOI: 10.1161/01.RES.0000251742.71301.16.
7. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2003;4(7):517–529. DOI: 10.1038/nrm1155.
8. Баринов ЭФ, Сулаева ОН. Роль пуриновых рецепторов тромбоцитов в регуляции гемостаза (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012;11:30–35.
9. Kennedy C. The discovery and development of P2 receptor subtypes. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 2000;81(1–3):158–163. DOI: 10.1016/s0165-1838(00)00133-8.
10. Varga-Szabo D, Braun A, Nieswandt B. Calcium signaling in platelets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2009;7(7):1057–1066. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03455.x.
11. Léon C, Hechler B, Freund M, Eckly A, Vial C, Ohlmann P, et al. Defective platelet aggregation and increased resistance to thrombosis in purinergic P2Y<sub>1</sub> receptor – null mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 1999;104(12):1731–1737. DOI: 10.1172/JCI8399.
12. Remijn JA, Wu Y-P, Jenning EH, Ijsseldijk MJW, van Willigen G, de Groot PG, et al. Role of ADP receptor P2Y<sub>12</sub> in platelet adhesion and thrombus formation in flowing blood. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2002;22(4):686–691. DOI: 10.1161/01.atv.0000012805.49079.23.
13. Rozalski M, Nocun M, Watala C. Adenosine diphosphate receptors on blood platelets: potential new targets for antiplatelet therapy. *Acta Biochimica Polonica*. 2005;52(2):411–415. DOI: 10.18388/abp.2005\_3453.
14. Rasheed H, Tirmizi AH, Salahuddin F, Rizvi ND, Arshad M, Farooq SZ, et al. Calcium signaling in human platelet aggregation mediated by platelet activating factor and calcium ionophore. *Journal of Biological Sciences*. 2004;4(2):117–121. DOI: 10.3923/jbs.2004.117.121.
15. Foster CJ, Prosser DM, Agans JM, Zhai Y, Smith MD, Lachowicz JE, et al. Molecular identification and characterization of the platelet ADP receptor targeted by thienopyridine antithrombotic drugs. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001;107(12):1591–1598. DOI: 10.1172/JCI12242.
16. Brass L, Stalker TJ. Mechanisms of platelet activation. In: Gresele P, Fuster V, López JA, Page CP, Vermeylen J, editors. *Platelets in hematologic and cardiovascular disorders*. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. p. 37–52.

17. Stalker TJ, Newman DK, Ma P, Wannemacher KM, Brass LF. Platelet signaling. In: Gresele P, Born GVR, Patrono C, Page CP, editors. *Antiplatelet agents*. Heidelberg: Springer; 2012. p. 59–85 (Handbook of experimental pharmacology; volume 210). DOI: 10.1007/978-3-642-29423-5\_3.
18. Kahn ML, Zheng Y-W, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature*. 1998;394(6694):690–694. DOI: 10.1038/29325.
19. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: a short history. *Thrombosis Research*. 2012;129(3):250–256. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.11.001.
20. Власенко ЛП, Якутин МВ. Опосредование воздействия тромбина на тромбоциты рецепторами PAR4 и PAR1. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2020;8(часть 2):44–47. DOI: 10.23670/IRJ.2020.98.8.040.
21. Sambrano GR, Weiss EJ, Zheng Y-W, Huang W, Coughlin SR. Role of thrombin signalling in platelets in haemostasis and thrombosis. *Nature*. 2001;413(6851):74–78. DOI: 10.1038/35092573.
22. Sage SO. The Wellcome Prize lecture. Calcium entry mechanisms in human platelets. *Experimental Physiology*. 1997;82(5):807–823. DOI: 10.1113/expphysiol.1997.sp004066.

## References

1. Stozharov AN, Kvitkevich LA, Solodkaya GA, Avetisov AR, Sinyakova OK, Sychik SI. *Radiatsionnaya meditsina* [Radiation medicine]. Stozharov AN, editor. Minsk: Minsk State Medical Institute; 2000. 154 p. Russian.
2. Parkhimovich OG, Bichan OD, Bulanov K Ya. Post-radiation changes in the content of platelets in the blood and their functional activity. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2022;2:59–65. Russian. DOI: 10.46646/2521-683X/2022-2-59-65.
3. Shaturny VI, Shakhidzhanov SS, Sveshnikova AN, Panteleev MA. Activators, receptors and signal transduction pathways of blood platelets. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2014;60(2):182–200. Russian.
4. Zagidullin NSh, Valeeva KF, Gassanov N, Zagidullin ShZ. Value of endothelial dysfunction in cardiovascular diseases and methods of its correction with drugs. *Kardiologiya*. 2010;50(5):54–60. Russian.
5. Clifford EE, Parker K, Humphreys BD, Kertesy SB, Dubyak GR. The P2X<sub>1</sub> receptor, an adenosine triphosphate – gated cation channel, is expressed in human platelets but not in human blood leukocytes. *Blood*. 1998;91(9):3172–3181. DOI: 10.1182/blood.V91.9.3172.
6. Offermanns S. Activation of platelet function through G protein – coupled receptors. *Circulation Research*. 2006;99(12):1293–1304. DOI: 10.1161/01.RES.0000251742.71301.16.
7. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2003;4(7):517–529. DOI: 10.1038/nrm1155.
8. Barinov EF, Sulayeva ON. The role of purine receptors of thrombocytes in regulation of hemostasis. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2012;11:30–35. Russian.
9. Kennedy C. The discovery and development of P2 receptor subtypes. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 2000;81(1–3):158–163. DOI: 10.1016/s0165-1838(00)00133-8.
10. Varga-Szabo D, Braun A, Nieswandt B. Calcium signaling in platelets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2009;7(7):1057–1066. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03455.x.
11. Léon C, Hechler B, Freund M, Eckly A, Vial C, Ohlmann P, et al. Defective platelet aggregation and increased resistance to thrombosis in purinergic P2Y<sub>1</sub> receptor – null mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 1999;104(12):1731–1737. DOI: 10.1172/JCI8399.
12. Remijn JA, Wu Y-P, Jenning EH, Ijsseldijk MJW, van Willigen G, de Groot PG, et al. Role of ADP receptor P2Y<sub>12</sub> in platelet adhesion and thrombus formation in flowing blood. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2002;22(4):686–691. DOI: 10.1161/01.atv.0000012805.49079.23.
13. Rozalski M, Nocun M, Watala C. Adenosine diphosphate receptors on blood platelets: potential new targets for antiplatelet therapy. *Acta Biochimica Polonica*. 2005;52(2):411–415. DOI: 10.18388/abp.2005\_3453.
14. Rasheed H, Tirmizi AH, Salahuddin F, Rizvi ND, Arshad M, Farooq SZ, et al. Calcium signaling in human platelet aggregation mediated by platelet activating factor and calcium ionophore. *Journal of Biological Sciences*. 2004;4(2):117–121. DOI: 10.3923/jbs.2004.117.121.
15. Foster CJ, Prosser DM, Agans JM, Zhai Y, Smith MD, Lachowicz JE, et al. Molecular identification and characterization of the platelet ADP receptor targeted by thienopyridine antithrombotic drugs. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001;107(12):1591–1598. DOI: 10.1172/JCI12242.
16. Brass L, Stalker TJ. Mechanisms of platelet activation. In: Gresele P, Fuster V, López JA, Page CP, Vermylen J, editors. *Platelets in hematologic and cardiovascular disorders*. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. p. 37–52.
17. Stalker TJ, Newman DK, Ma P, Wannemacher KM, Brass LF. Platelet signaling. In: Gresele P, Born GVR, Patrono C, Page CP, editors. *Antiplatelet agents*. Heidelberg: Springer; 2012. p. 59–85 (Handbook of experimental pharmacology; volume 210). DOI: 10.1007/978-3-642-29423-5\_3.
18. Kahn ML, Zheng Y-W, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature*. 1998;394(6694):690–694. DOI: 10.1038/29325.
19. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: a short history. *Thrombosis Research*. 2012;129(3):250–256. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.11.001.
20. Vlasenko LP, Yakutin MV. Mediating the effect of thrombin on platelets by PAR4 and PAR1 receptors. *International Research Journal*. 2020;8(part 2):44–47. Russian. DOI: 10.23670/IRJ.2020.98.8.040.
21. Sambrano GR, Weiss EJ, Zheng Y-W, Huang W, Coughlin SR. Role of thrombin signalling in platelets in haemostasis and thrombosis. *Nature*. 2001;413(6851):74–78. DOI: 10.1038/35092573.
22. Sage SO. The Wellcome Prize lecture. Calcium entry mechanisms in human platelets. *Experimental Physiology*. 1997;82(5):807–823. DOI: 10.1113/expphysiol.1997.sp004066.

Получена 21.08.2022 / исправлена 14.10.2022 / принята 14.10.2022.  
Received 21.08.2022 / revised 14.10.2022 / accepted 14.10.2022.

## ВОЗНИКНОВЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНВАГИНАЦИЙ (ЭЙЗОСОМ) В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЕ ДРОЖЖЕЙ КАК РЕЗУЛЬТАТ СЕКРЕТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ: НОВАЯ ВЕРСИЯ

В. В. ДМИТРИЕВ<sup>1)</sup>, Т. Г. РУСАКОВА<sup>1)</sup>,  
А. В. МАЧУЛИН<sup>1)</sup>, В. В. ФАРОФОНОВА<sup>1)</sup>, А. Н. ЗВОНАРЕВ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина  
Пушкинского научного центра биологических исследований РАН,  
пр. Науки, 5, 142290, г. Пушкино, Россия

На основании цитобиохимических и морфометрических данных впервые показана значительная вариабельность морфологии плазмалеммы у дрожжей в различных физиологических ситуациях. Обнаружены три типа адаптивных структурно-функциональных перестроек плазмалеммы. Ультраструктурные изменения в плазматической мембране и клеточной оболочке *Candida maltosa*, *Cryptococcus humicola* и *Saccharomycopsis lipolytica*, происходящие при потреблении гексадекана, поверхностно-активного вещества лаурокс-9 и оливкового масла соответственно, изучены с помощью электронно-микроскопической цитохимии и криофрактографии. Отмечено, что в первые часы инкубации (лаг-фаза) в цитоплазматических мембранах этих дрожжей появляются специфические структуры: сферические инвагинации у *C. maltosa*, карманоподобные инвагинации у *Cr. humicola* и обычные инвагинации у *S. lipolytica*. При дальнейшем культивировании все указанные инвагинации либо претерпевают структурные изменения, либо исчезают. Высказано предположение, что появление этих структур связано с увеличением площади цитоплазматической мембраны за счет включения мембран секреторных везикул. Интересным открытием был тот факт, что модифицированные участки клеточной оболочки, ранее описанные нами как каналы, наблюдались и у условно-патогенных видов дрожжей *C. albicans* и *C. tropicalis* при росте на углеводородах. Полученные данные не только расширяют представление об адаптивных перестройках дрожжевых клеток, но и могут иметь практическое значение, а именно в терапии микозов, вызванных дрожжевыми организмами.

### Образец цитирования:

Дмитриев ВВ, Русакова ТГ, Мачулин АВ, Фарофонова ВВ, Звонарев АН. Возникновение специфических инвагинаций (эйзосом) в цитоплазматической мембране дрожжей как результат секреторных процессов: новая версия. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:14–25.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-14-25>

### For citation:

Dmitriev VV, Rusakova TG, Machulin AV, Farofonova VV, Zvonarev AN. The occurrence of specific invaginations (eizosomes) in the yeast cytoplasmic membrane as a result of secretory processes: a new version. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:14–25. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-14-25>

### Авторы:

**Владимир Васильевич Дмитриев** – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник, заведующий временным научно-творческим коллективом трехмерных структур микроорганизмов.

**Татьяна Геннадьевна Русакова** – младший научный сотрудник временного научно-творческого коллектива трехмерных структур микроорганизмов.

**Андрей Валерьевич Мачулин** – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник лаборатории цитологии микроорганизмов.

**Василина Валерьевна Фарофонова** – аспирантка лаборатории регуляции биохимических процессов. Научный руководитель – доктор биологических наук Т. В. Кулаковская.

**Антон Николаевич Звонарев** – младший научный сотрудник временного научно-творческого коллектива трехмерных структур микроорганизмов.

### Authors:

**Vladimir V. Dmitriev**, PhD (biology); senior researcher and head of the temporary scientific and creative team of three-dimensional structures of microorganisms.

[dmitrievibpm@gmail.com](mailto:dmitrievibpm@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0001-7294-3575>

**Tatiana G. Rusakova**, junior researcher at the temporary scientific and creative team of three-dimensional structures of microorganisms.

[tgrus74@gmail.com](mailto:tgrus74@gmail.com)

**Andrey V. Machulin**, PhD (biology); senior researcher at the laboratory of cytology of microorganisms.

[and.machul@gmail.com](mailto:and.machul@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0002-4859-7219>

**Vasilina V. Farofonova**, postgraduate student at the laboratory of regulation of biochemical processes.

[crazytide@yandex.ru](mailto:crazytide@yandex.ru)  
<https://orcid.org/0000-0002-7689-0738>

**Anton N. Zvonarev**, junior researcher at the temporary scientific and creative team of three-dimensional structures of microorganisms.

[zvonarevibpm@gmail.com](mailto:zvonarevibpm@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0001-7330-0678>

**Ключевые слова:** цитоплазматическая мембрана дрожжей; инвагинации; электронная микроскопия; криофрактография; цитохимия.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией регуляции биохимических процессов Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г. К. Скрыбина Пушкинского научного центра биологических исследований РАН доктору биологических наук Татьяне Владимировне Кулаковской за ценные советы, а также сектору электронной микроскопии Центра коллективного пользования Пушкинского научного центра биологических исследований РАН за помощь в проведении электронно-микроскопических исследований.

## THE OCCURRENCE OF SPECIFIC INVAGINATIONS (EIZOSOMES) IN THE YEAST CYTOPLASMIC MEMBRANE AS A RESULT OF SECRETORY PROCESSES: A NEW VERSION

V. V. DMITRIEV<sup>a</sup>, T. G. RUSAKOVA<sup>a</sup>,  
A. V. MACHULIN<sup>a</sup>, V. V. FAROFONOVA<sup>a</sup>, A. N. ZVONAREV<sup>a</sup>

<sup>a</sup>G. K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms,  
Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences,  
5 Nauki Avenue, Pushchino 142290, Russia

Corresponding author: V. V. Dmitriev (dmitrievibpm@gmail.com)

Based on cytobiochemical and morphometric data, a significant variability in the morphology of the plasmalemma in yeast in different physiological situations was shown for the first time. Three types of adaptive structural and functional rearrangements of the plasmalemma were found. Ultrastructural changes in the plasma membrane and cell wall of *Candida maltosa*, *Cryptococcus humicola* and *Saccharomycopsis lipolytica*, occurring with the consumption of hexadecane, the surfactant laurox-9 and olive oil respectively, were studied using electron microscopic cytochemistry and cryofractography. It was shown that in the first hours of incubation (lag phase), specific structures appear in the cytoplasmic membranes of these yeasts: spherical invaginations in *C. maltosa*, pocket-like invaginations in *Cr. humicola* and ordinary invaginations in *S. lipolytica*. With further cultivation, all these invaginations either underwent structural changes or disappeared. We assume that the appearance of these structures is associated with an increase in the area of the cytoplasmic membrane due to the inclusion of membranes of secretory vesicles. An interesting discovery was the fact that modified sections of the cell wall, which we previously described as canals, were also observed in opportunistic yeast species *C. albicans* and *C. tropicalis* when growing on hydrocarbons. The data obtained not only expand the understanding of the adaptive rearrangements of yeast cells, but may also be of practical importance, namely, in the treatment of mycoses caused by yeast organisms.

**Keywords:** yeast cytoplasmic membrane; invaginations; electron microscopy; cryofractography; cytochemistry.

**Acknowledgements.** The authors are grateful to Tatyana V. Kulakovskaya, doctor of science (biology), head of the laboratory of regulation of biochemical processes, G. K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, for valuable advice, as well as to the sector of electron microscopy, Center for collective use, Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, for assistance in conducting electron microscopic studies.

### Введение

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ) дрожжевых клеток участвует в широком спектре динамических процессов, таких как секреция, поглощение питательных веществ, морфогенез, а также в синтезе и модификации клеточной стенки. Х. Мур и К. Мюлеталер [1] с помощью электронно-микроскопической криофрактографии (в 1960-х гг. это был новый подход) обнаружили в ЦПМ *Saccharomyces cerevisiae* палочковидные инвагинации длиной 300 нм, шириной 20–30 нм и глубиной 50 нм. Вместе с внутримембранными частицами (ВМЧ), которые представляют собой полиферментные комплексы, инвагинации являются основными элементами морфологии ЦПМ дрожжей.

Позже Т. К. Вальтер и его соавторы [2] продемонстрировали связь этих инвагинаций с белками, участвующими в эндоцитозе, и предложили термин «эйзосомы» (от греч. *eis* – вход и *soma* – тело). Последующие исследования на почкующихся дрожжах показали, что эйзосомы не являются местами

эндоцитоза [3–5], но предложенное название сохранилось. Авторы [6] считают, что эйзосомы, содержащие преимущественно белки Pil1 и Lsp1, выступают ключевыми элементами в формировании ЦПМ у дрожжей. Подобные инвагинации (эйзосомы) были обнаружены с помощью электронно-микроскопической криофрактографии у других грибов, ряда красных и зеленых микроводорослей, а также в цистах инфузории *Euplotes* [7].

Некоторые авторы [8; 9] считают, что, подобно кавеолам в клетках животных, эйзосомы у дрожжей служат мембранными резервуарами для увеличения клеточной поверхности в процессе размножения, а также при механическом или гипосмотическом стрессе. Однако до настоящего времени механизмы увеличения площади дрожжевых ЦПМ остаются непонятными. Несмотря на многочисленные работы по изучению инвагинаций (эйзосом) у грибов и одноклеточных водорослей (см., например, [7]), функции этих образований во многом неясны. Высказывается предположение, что данные структуры представляют собой органеллы без явных физиологических функций. По мнению Дж. Б. Мозли [10], дальнейшие исследования инвагинаций (эйзосом) позволят раскрыть фундаментальные биологические принципы строения клетки и, возможно, ответить на вопросы о том, как происходят сборка и разборка эйзосом и как эти макромолекулярные структуры регулируют состав липидов. Кроме того, исследования инвагинаций (эйзосом) у патогенных грибов могут помочь определить мишени, чувствительные к лекарственным препаратам.

Проанализировав имеющиеся данные об инвагинациях (эйзосомах), мы полагаем, что для понимания смысла их образования в связи с изменением таких физиологических условий, как источники питания, фазы роста и т. д., необходимы дополнительные сведения об ультраструктуре ЦПМ. В настоящей работе представлены результаты сравнительного анализа адаптивных структурных изменений ЦПМ у дрожжей *Candida maltosa*, *Cryptococcus humicola* и *Saccharomycopsis lipolytica*, выращенных на гексадекане, поверхностно-активном веществе лаурокс-9 (эфир лауриновой кислоты и полиэтиленгликоля) и оливковом масле соответственно. Для утилизации этих субстратов клеткам нужны ферменты, которые секретируются и иммобилизуются на внеклеточных структурах.

## Материалы и методы исследования

**Микробные культуры и условия культивирования.** В работе использовались дрожжи *C. maltosa* ВКМ Y-2359, *Cr. humicola* ВКМ Y-2238, *S. lipolytica* ВКМ Y-2015, *C. tropicalis* ВКМ Y-2771, *C. albicans* ВКМ Y-2994 из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Для получения инокулята клетки культивировали при температуре 28 °С в азотно-основной среде для дрожжей (*Difco*, США) с добавлением 1 % глюкозы до стационарной фазы. После промывки фосфатным буфером (рН 6,8) инокулят вносили в среды, содержащие в качестве источника углерода (по 1 % каждый) гексадекан, глюкозу, лаурокс-9 либо оливковое масло (*Sigma Diagnostics*, США) (cat. No. 0-1500), или в так называемую голодную среду, лишенную источника углерода (0,05 моль/л фосфатный буфер (рН 8,0)). Рост культуры определяли по оптической плотности, измеренной на спектрофотометре Spectromom 204 (*МОН*, Венгрия) при длине волны 600 нм.

**Трансмиссионная электронная микроскопия.** Осадки клеток, собранные центрифугированием в разные периоды роста, фиксировали в 0,05 моль/л какодилатном буфере (рН 7,2), содержащем 1,5 % глутарового альдегида, при температуре 4 °С в течение 1 ч и постфиксировали в том же буфере, содержащем 1 % OsO<sub>4</sub>, при температуре 20 °С в течение 3 ч. После обезвоживания клетки заключали в эпоксидную смолу Epon 812 (*Sigma*, Швейцария). Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме Ultracut E (*Reichert-Jung*, Австрия) с помощью алмазного ножа и идеальной петли (*perfect loop*) и просматривали в электронном микроскопе JEM-100B (*Jeol*, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

**Сканирующая электронная микроскопия.** Клетки фиксировали сначала в 0,05 моль/л натрий-какодилатном буфере (рН 6,8), содержащем 1,5 % глутарового альдегида, при температуре 4 °С в течение 1 ч, а затем в том же буфере, содержащем 1 % OsO<sub>4</sub>, при температуре 20 °С в течение 3 ч. После обезвоживания клетки напыляли золотом с помощью ионного распылителя JFC-1100 (*Jeol*) и исследовали в сканирующем микроскопе JSM-6510LV (*Jeol*).

**Электронно-микроскопическая криофрактография.** Криофрактографические исследования проводили по методике, описанной в работе [11, с. 49–91]. Образцы в виде микрокапель клеточной суспензии замораживали в жидком пропане при температуре –150 °С и скорости более 10 000 °С в секунду без предварительной химической фиксации и пропитки антифризами. По достижении вакуума  $3 \cdot 10^{-6}$  торр и температуры образца –100 °С производили разрыв замороженной капли и выдерживали образец в этих условиях в течение 1 мин (вакуумное травление). Для получения реплик поверхности скола покрывали платиноуглеродной смесью, напыляемой под углом 30° на протяжении 2–3 с, затем распыляли чистый уголь под углом 90° в течение 5–6 с. Для вытравления органического материала реплики помещали в 40 % хромовую кислоту на 2 ч. После пятикратной промывки в дистиллированной воде реплики исследовали в электронном микроскопе.

**Электронно-микроскопическая цитохимия.** В ходе электронно-цитохимических исследований выявлялись следующие вещества.

**Цитохромы.** Для электронно-микроскопического выявления цитохромов клетки предварительно фиксировали 2,5 % глутаровым альдегидом в 0,1 моль/л какодилатном буфере (рН 7,2) при температуре 4 °С в течение 1 ч, затем окрашивали окисленным диаминобензидином по Хираи [12].

**Липаза.** Электронно-микроскопическое определение локализации липазы проводили по методу Нагаты [13]. Клетки предварительно фиксировали 2,5 % глутаровым альдегидом в 0,1 моль/л какодилатном буфере (рН 7,2) при температуре 4 °С в течение 1 ч, промывали тем же буфером и инкубировали при температуре 37 °С на протяжении 1 ч в среде следующего состава: 0,1 моль/л трис-буфер (рН 7,2) – 5 мл, 10 % CaCl<sub>2</sub> – 2 мл, оливковое масло – 2 мл, дистиллированная вода – 40 мл. После инкубации клетки промывали какодилатным буфером и 2 % ЭДТА в том же буфере, переносили на 30 мин в 0,15 % Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> и затем фиксировали 1 % OsO<sub>4</sub> в 0,1 моль/л какодилатном буфере при температуре 0 °С в течение 2 ч.

**Эстеразы лаурокса-9.** Электронно-цитохимическое исследование локализации гидролаз лаурокса-9 в дрожжах проводили по методу Нагаты [13]. Клетки фиксировали 1 % глутаровым альдегидом в 0,1 моль/л какодилатном буфере (рН 7,2) в течение 1 ч. После трехкратной отмывки в какодилатном буфере материал инкубировали при температуре 28 °С в течение 1 ч на средах с Tween 60 (*Sigma-Aldrich*, Германия) или лауроксом-9 в качестве субстрата. Затем материал фиксировали 1 % OsO<sub>4</sub> в этом же какодилатном буфере при температуре 0 °С в течение 2 ч.

**Аналитические методы исследования.** В рамках данного этапа определялись следующие параметры.

**Количество лаурокса-9.** Поверхностно-активное вещество лаурокс-9 экстрагировали из культуральной жидкости четыреххлористым углеродом. Его концентрацию определяли методом инфракрасной (ИК) спектроскопии по полосам валентных колебаний связей С=О и С—О—С ( $\nu = 1730 \text{ см}^{-1}$  и  $\nu = 1100 \text{ см}^{-1}$  соответственно). Для записи ИК-спектров использовали спектрометр Specord IR-75 (*Carl Zeiss*, Германия) и неразборные кюветы из бромида калия (KBr) с толщиной поглощающего слоя 0,19 мм. Условия сканирования: время записи – 2,2 мин, масштаб – 400–2000 см<sup>-1</sup>, усиление – 1.

**Липолитическая активность.** Липолитическую активность в культуральной жидкости (экзолипазы) определяли по модифицированному методу Оты и Ямады [14] и выражали в объемах 0,05 н. раствора NaOH, израсходованных на титрование образовавшихся жирных кислот.

**Статистический анализ.** Каждое табличное значение является результатом выборочного усреднения не менее 50 измерений. Данные представлены как среднее значение и стандартное отклонение. Наличие каких-либо статистически значимых различий ( $p < 0,05$ ) между средними значениями исследуемых групп определялось с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Вертикальные планки погрешностей на диаграммах представляют стандартные ошибки среднего значения.

**Статистический анализ криофрактографических данных.** Для количественного ультраструктурного анализа использовали негативы, экспонированные при увеличении в 25 000 раз. Окончательное увеличение на экране проектора, на котором проводили измерения, составляло 150 000 раз. Для измерений выбирали фрагменты плазмалеммы, параллельные плоскости реплики. Длину инвагинаций измеряли курвиметром. Подсчет плотности ВМЧ на инвагинациях проводили на периплазматической поверхности складок. Стереологический параметр  $S_{s_n}$  («складчатость» плазмалеммы), численно равный площади инвагинаций, находящихся на единице площади плазмалеммы, определяли следующим образом. На выбранном для измерений фрагменте изображения наружной поверхности плазмалеммы, площадь которого  $S_0$  не превышала 1 мкм<sup>2</sup>, измеряли общую протяженность инвагинаций  $L = \sum_{i=1}^n l_i$ , а также подсчитывали число складок  $n$ . Значение стереологического параметра  $S_{s_n}$  вычисляли по формуле

$$S_{s_n} = \frac{P(L + 0,57nd)}{S_0 + (P - 2d)(L + 0,57nd)},$$

где  $d$  – ширина инвагинаций в плане реплики;  $P$  – длина поперечного профиля складок (ширина «разглаженной» инвагинации). Параметр  $P$  определяли на поперечных сколах клеток. При вычислении  $S_{s_n}$  поперечное строение инвагинаций у клеток, принадлежащих одной популяции, считали одинаковым.

## Результаты и их обсуждение

Были изучены три физиологические ситуации, при которых первичные этапы утилизации углеродного субстрата у дрожжей происходят с помощью секретруемых ферментов (экзоферментов).

**Дрожжи-аскомицеты *C. maltosa*, утилизирующие гексадекан (ситуация 1).** Ранее нами было обнаружено образование в клеточной стенке дрожжей гидрофобных участков, способных утилизировать

углеводороды при замене углеводного субстрата (глюкоза) на углеводородный (гексадекан и др.). Эти гидрофобные участки мы назвали каналами [15–17]. Наличие в них высоких концентраций окислительных ферментов и других белков позволило предположить, что каналы являются местами первичного окисления углеводов. В настоящей работе аналогичное явление наблюдалось в клеточной стенке *C. maltosa* (рис. 1, а–в).

Большинство каналов образовались в лаг-фазе и ранней лог-фазе роста *C. maltosa* на гексадекане. При дальнейшем культивировании количество каналов оставалось относительно постоянным (рис. 2).

С помощью электронно-микроскопической криофрактографии в местах контакта каналов с ЦПМ были выявлены специфические инвагинации (см. рис. 1, а и б; рис. 3, а–в), которые отличаются по морфологии от обычных инвагинаций, описанных у многих видов дрожжей. Они названы нами сферическими инвагинациями. Распределение ВМЧ в этих инвагинациях существенно отличалось от их распределения в остальной части ЦПМ (табл. 1). Как видно из табл. 1, у сферических инвагинаций ВМЧ переходят с внешней (ЕФ) на внутреннюю (РФ) поверхность скола по трансмембранному и латеральному типу, в остальной части ЦПМ они перемещаются в обратном направлении: от РФ- к ЕФ-поверхности скола.

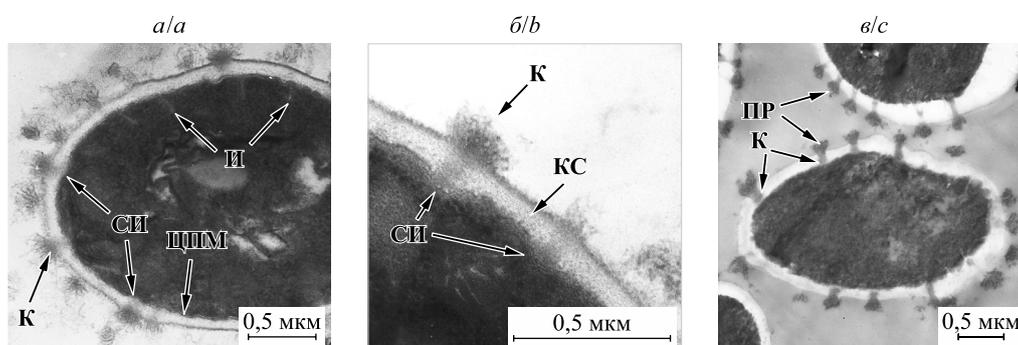


Рис. 1. *C. maltosa*, растущая на гексадекане: а, б – ультратонкие срезы, на которых выявляются каналы в клеточной стенке; в – электронно-цитохимическое определение гемсодержащих окислительных ферментов (клетки окрашивали окисленным диаминобензидином).

Используемые обозначения: И – обычные (палочковидные) инвагинации;

СИ – сферические инвагинации; ЦПМ – цитоплазматическая мембрана;

К – каналы в клеточной стенке; КС – клеточная стенка; ПР – продукт реакции

Fig. 1. *C. maltosa* growing on hexadecane: а, b – ultrathin sections, which reveal canals in the cell wall; c – electron cytochemical detection of heme-containing oxidative enzymes (the cells were stained with oxidised diaminobenzidine).

Designations: И – usual (rod-shaped) invaginations; СИ – spherical invaginations;

ЦПМ – cytoplasmic membrane; К – canals in the cell wall; КС – cell wall; ПР – product of reaction

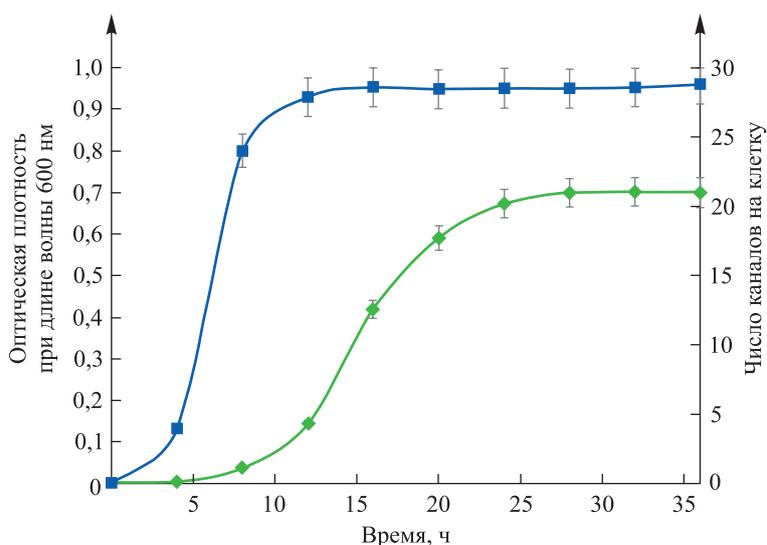


Рис. 2. Динамика формирования каналов (синяя линия) в процессе роста *C. maltosa* на гексадекане (зеленая линия)

Fig. 2. The dynamics of canal formation (blue line) during growth of *C. maltosa* on hexadecane (green line)

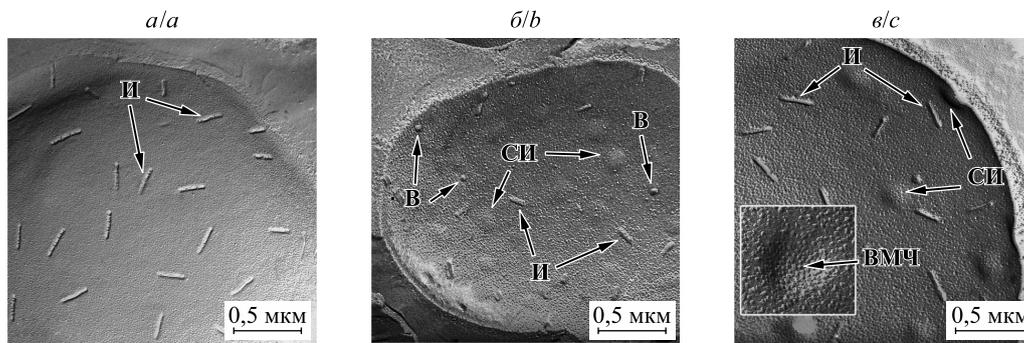


Рис. 3. Углеродно-платиновые реплики криосколов *C. maltosa*:  
а – при выращивании на среде с глюкозой в качестве источника углерода;  
б – через 2 ч культивирования на гексадекане; в – углеродно-платиновая реплика скола ЦПМ, на которой видны обычные и сферические инвагинации, на увеличенном фрагменте заметны ВМЧ.  
Используемые обозначения: И – обычные (палочковидные) инвагинации;  
СИ – сферические инвагинации; В – везикулы; ВМЧ – внутримембранные частицы

Fig. 3. Carbon-platinum replica of *C. maltosa* freeze fracture:  
а – growth in the medium supplied with glucose as the carbon source;  
б – the first 2 h of cultivation on hexadecane; в – carbon-platinum replica of the cytoplasmic membrane freeze fracture, which shows the usual and spherical invaginations, the enlarged fragment shows the intramembrane particles.  
Designations: И – usual (rod-shaped) invaginations;  
СИ – spherical invaginations; В – vesicles; ВМЧ – intramembrane particles

Таблица 1

Плотность ВМЧ на EF- и PF-поверхностях скола плазмалеммы *C. maltosa*  
в зависимости от источника углерода, частиц на 1 мкм<sup>2</sup>

Table 1

Density of IMP intramembrane particles on the EF (outer) and PF (inner) surfaces of the freeze fracture of *C. maltosa* plasmalemma depending on the carbon source, particles per 1 μm<sup>2</sup>

Источник углерода	EF-поверхность		PF-поверхность	
	Гладкая поверхность	Сферическая инвагинация	Гладкая поверхность	Сферическая инвагинация
Углеводороды	1410 ± 176	691 ± 102 (с учетом кривизны поверхности)	3210 ± 155	3550 ± 117 (с учетом кривизны поверхности)
Глюкоза	680 ± 136	–	4700 ± 312	–

Принимая во внимание тот факт, что сферические инвагинации и каналы образуют единую структуру, участвующую в первичной модификации углеводородного субстрата, можно предположить, что в этих зонах оболочки дрожжей активация секреторных процессов происходит уже в первые часы культивирования. Установлено, что везикулы в ЦПМ *C. maltosa* (согласно своему размеру отнесенные к секреторным везикулам) появлялись спустя 2 ч культивирования на гексадекане (см. рис. 3, б).

Как видно из рис. 4, при дальнейшем культивировании по мере увеличения числа сферических инвагинаций в ЦПМ количество везикул уменьшалось, т. е. наблюдалась обратная корреляция. Это может свидетельствовать о том, что формирование таких сложных структур (сферические инвагинации плюс каналы) завершается примерно в течение 10–12 ч. Мы предполагаем, что в ЦПМ дрожжей сферические инвагинации образуются за счет встраивания в нее мембран секреторных везикул (рис. 5).

Интересным открытием был тот факт, что модифицированные участки клеточной оболочки, ранее описанные нами как каналы, наблюдались и у условно-патогенных видов дрожжей *C. albicans* и *C. tropicalis* при росте на углеводородах (рис. 6, а–в). Сравнительный электронно-микроскопический анализ позволил обнаружить очевидное сходство структурных признаков у дрожжей, выращиваемых на углеводородах, и у патогенных дрожжей, описанных в работе [18] (см. рис. 6, г). Каналоподобные структуры, именуемые авторами статьи [18] *cell wall pimples* (CWP), были обнаружены у клеток *C. albicans* WO-1, выделенных из крови и легких пациента с иммуносупрессией.

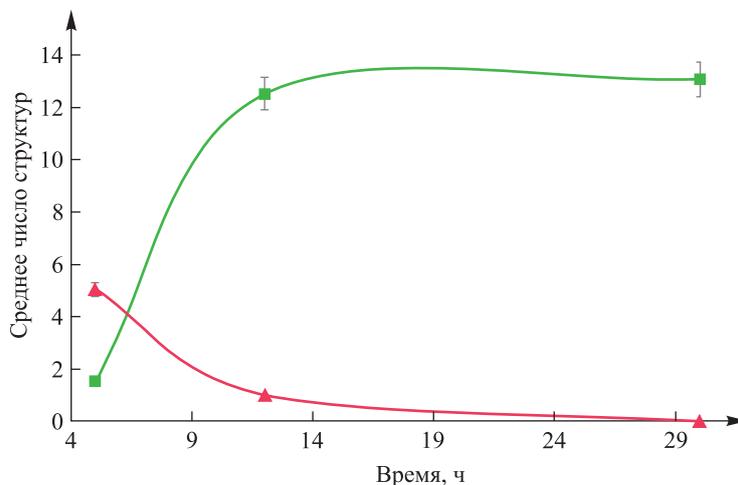


Рис. 4. Динамика образования везикул (красная линия) и сферических инвагинаций (зеленая линия) у *C. maltosa* при культивировании на гексадекане

Fig. 4. Dynamics of the formation of vesicles (red line) and spherical invaginations (green line) in *C. maltosa* when cultured on hexadecane

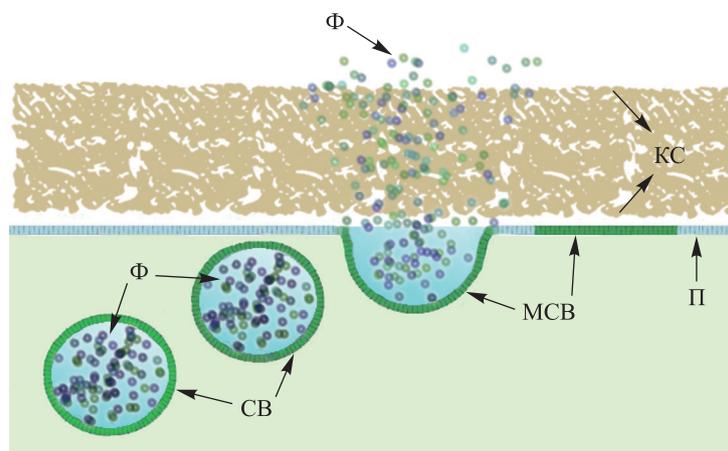


Рис. 5. Схема увеличения площади дрожжевой ЦПМ за счет встраивания секреторных везикул: Ф – ферменты; СВ – секреторные везикулы; МСВ – мембраны секреторных везикул; П – плазматическая мембрана; КС – клеточная стенка

Fig. 5. Scheme of increasing the area of the yeast cytoplasmic membrane by embedding of secretory vesicles: Ф – enzymes; СВ – secretory vesicles; МСВ – membranes of secretory vesicles; П – plasma membrane; КС – cell wall

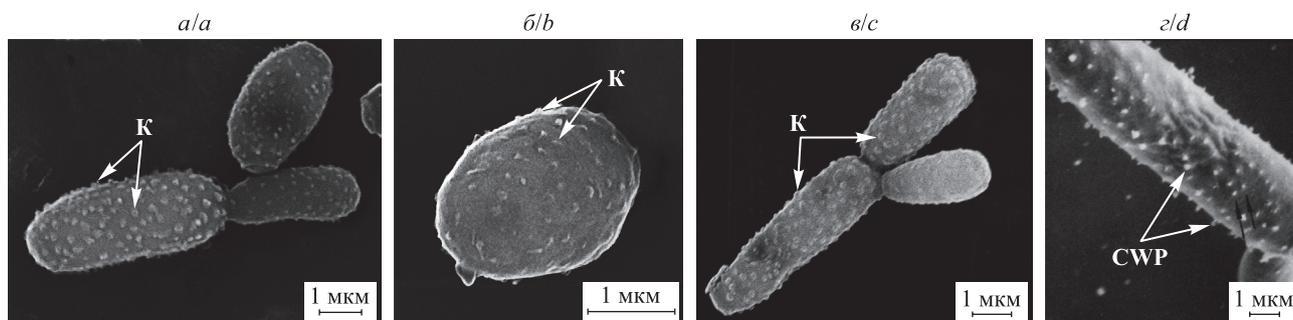


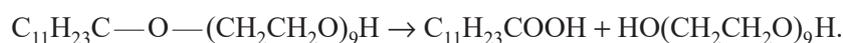
Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия: а – *C. maltosa* при росте на гексадекане; б – *C. albicans* при росте на гексадекане; в – *C. tropicalis* при росте на гексадекане; г – *C. albicans* в условиях патогенеза (фотография взята из статьи [18]).  
 Используемые обозначения: К – каналы; CWP – каналоподобные структуры клеточной стенки

Fig. 6. Scanning electron microscopy: а – *C. maltosa* grown on hexadecane; б – *C. albicans* grown on hexadecane; в – *C. tropicalis* grown on hexadecane; г – *C. albicans* in pathogenesis (the photo from the article [18]).  
 Designations: К – canals; CWP – canal-like structures of the cell wall

Обнаружение структур, подобных каналам, у дрожжей в условиях патогенеза позволило сделать предположение об универсальности каналов, функционирующих как матрица для иммобилизации и секреции ферментов и других белков, необходимых дрожжевым клеткам в определенных физиологических ситуациях. В случае утилизации углеводов в каналах выявлены окислительные ферменты, что предполагает участие этих структур в первичных этапах метаболизма углеводов. Вероятно, каналы у условно-патогенных дрожжей могут участвовать в процессах адгезии и инвазии при патогенезе. Дальнейшее изучение участия каналов в переходе дрожжей в патогенное состояние может помочь в понимании механизмов этого явления.

**Дрожжи-базидиомицеты *Cr. humicola* при росте на лауроксе-9 (ситуация 2).** В данном случае исследовался процесс утилизации лаурокса-9 базидиомицетными дрожжами *Cr. humicola* в качестве источника углерода.

Молекула лаурокса-9 состоит из лауриновой кислоты и полиэтиленгликоля, связанных между собой сложноэфирной связью. Ранее установлено, что первой стадией разрушения лаурокса-9 является внеклеточный ферментативный гидролиз связи С—О в фрагменте С(О)—О с образованием лауриновой кислоты и полиэтиленгликоля [19]:



Динамика использования лаурокса-9 в качестве источника углерода в процессе роста культуры представлена на рис. 7.

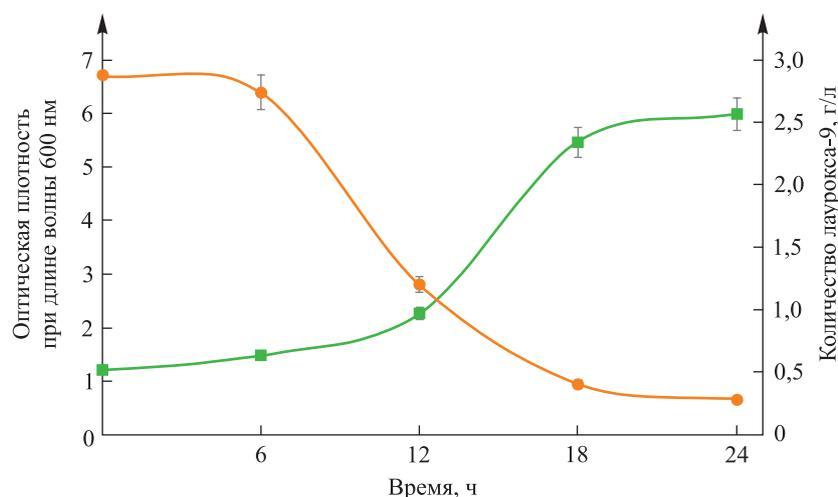


Рис. 7. Динамика утилизации лаурокса-9 (оранжевая линия) клетками *Cr. humicola* в процессе роста (зеленая линия)

Fig. 7. The dynamics of the utilisation of laurox-9 (orange line) by *Cr. humicola* in the process of growth (green line)

Электронно-микроскопическая криофрактография выявила образование карманоподобных инвагинаций в ЦПМ *Cr. humicola* в первые часы инкубации клеток в среде с лауроксом-9 (рис. 8, а), которые исчезали при дальнейшем культивировании. При этом обычные (палочковидные) инвагинации, характерные для многих дрожжей, у *Cr. humicola* не обнаруживались ни при каких условиях. Следует отметить, что в лог-фазе роста клеток *Cr. humicola* в среде с лауроксом-9 (рис. 8, б) значительно увеличивалась сеть их экзоцеллюлярных компонентов. Электронно-микроскопическая цитохимическая реакция на гидролазы выявила локализацию продукта реакции на этих компонентах (рис. 8, в).

Мы предполагаем, что образование карманоподобных инвагинаций связано с увеличением (возможно, избыточным) общей площади ЦПМ при активации секреторно-везикулярных процессов в ходе адаптивной модификации клеточной стенки, а также с транспортом гидролаз на экзоцеллюлярные компоненты клеток.

Сравнительная характеристика количества ВМЧ в клетках *Cr. humicola*, растущих на глюкозе и лауроксе-9, показывает, что при адаптации к росту на лауроксе-9 их ЦПМ претерпевает глубокие адаптивные структурные перестройки: количество ВМЧ значительно возрастает на обеих поверхностях (ЕF и РF) криоскола (табл. 2).

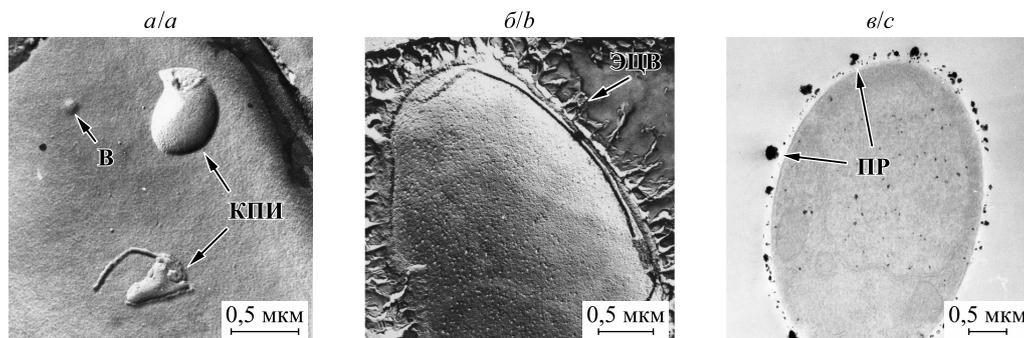


Рис. 8. *Cr. humicola*, выращенная на среде с лауроком-9:  
 а – криоскол ЦПМ через 2 ч культивирования; б – криоскол ЦПМ клеток *Cr. humicola* в лог-фазе роста;  
 в – электронно-микроскопическая цитохимическая реакция на гидролазы в клетках *Cr. humicola* в лог-фазе роста.  
 Используемые обозначения: КПИ – карманоподобные инвагинации; В – везикулы;  
 ЭЦВ – экзоцеллюлярное вещество; ПР – продукт реакции на гидролазу

Fig. 8. *Cr. humicola* growing in the medium with laurox-9:  
 a – freeze fracture of cytoplasmic membrane after 2 h of cultivation;  
 б – freeze fracture of cytoplasmic membrane of the cells taken from the log-phase of growth;  
 в – electron microscopic cytochemical reaction for hydrolases in the cells taken from the log-phase of growth.  
 Designations: КПИ – pocket-like invaginations; В – vesicles;  
 ЭЦВ – exocellular substance; ПР – reaction product for hydrolase

Таблица 2

**Плотность ВМЧ**  
**на EF- и PF-поверхностях скола плазмалеммы *Cr. humicola***  
**в зависимости от источника углерода, частиц на 1 мкм<sup>2</sup>**

Table 2

**Density of intramembrane particles**  
**on the EF and PF surfaces of the freeze fracture of *Cr. humicola***  
**plasmalemma depending on the carbon source, particles per 1 μm<sup>2</sup>**

Источник углерода	EF-поверхность	PF-поверхность
Глюкоза	898 ± 164	2328 ± 295
Лауроком-9	1142 ± 235	3953 ± 305

**Дрожжи *S. lipolytica* при росте на среде с оливковым маслом в качестве источника углерода (ситуация 3).** В этом варианте опытов изучались ультраструктурные изменения ЦПМ *S. lipolytica* в связи с секрецией липазы. *S. lipolytica* была выбрана за ее способность проявлять высокую экзолипазную активность при выращивании в присутствии оливкового масла как источника углерода. Активность экзолипазы была максимальной к концу лог-фазы роста. В этих условиях для нейтрализации образовавшихся жирных кислот в культуральную жидкость необходимо было добавить 9 мл 0,05 н. NaOH, тогда как в случае клеток, лишенных экзоцеллюлярного вещества, для нейтрализации этих кислот требовалось всего 2,6 мл 0,05 н. NaOH.

Электронно-микроскопическая криофрактография *S. lipolytica* в первые 2–3 ч после переноса в среду с оливковым маслом (лаг-фаза) выявила активные перестройки в ЦПМ, а именно образование большого количества везикул различного диаметра и переходных форм инвагинаций (рис. 9, а). В процессе дальнейшего культивирования (лог-фаза) структура инвагинаций становилась более четкой и на поверхности клеток появлялось значительное количество экзоцеллюлярного вещества (рис. 9, б). Электронно-микроскопическое определение активности липазы показало, что продукт реакции с липазой был локализован в экзоцеллюлярном веществе, а также инвагинациях ЦПМ (рис. 9, в).

Мы предположили, что инвагинации ЦПМ могут быть связаны с секрецией липазы. Был проведен сравнительный анализ ультраструктуры ЦПМ *S. lipolytica* при высокой экзолипазной активности клеток и при ее снижении до нуля после переноса липолитически активных клеток *S. lipolytica* в 0,05 моль/л фосфатный буфер (рН 8,0), т. е. в так называемые условия голодания (табл. 3). Многочисленные (до 80 % от общего числа инвагинаций) короткие (длиной около 200 нм) инвагинации, появляющиеся при высокой экзолипазной активности *S. lipolytica* (см. рис. 9, б), значительно удлинились в условиях голодания (рис. 9, з).

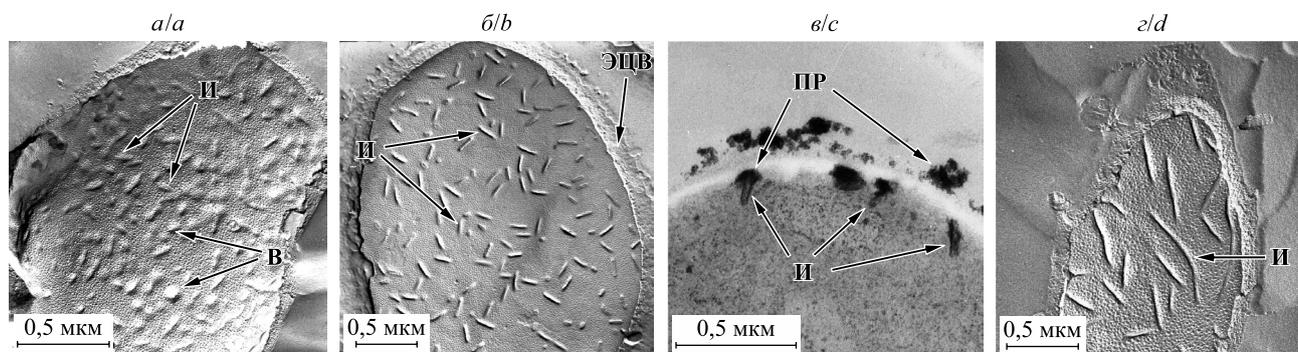


Рис. 9. Криофрактография скола ЦПМ *S. lipolytica* и цитохимическое выявление липазы:  
а, б – лаг- и лог-фазы роста *S. lipolytica* соответственно;  
в – электронно-микроскопическое цитохимическое определение активности липазы;  
г – скол *S. lipolytica* при отсутствии питательных веществ (условия голодания).  
Используемые обозначения: И – обычные (палочковидные) инвагинации;  
В – везикулы; ПР – продукт реакции на липазу; ЭЦВ – экзоцеллюлярное вещество

Fig. 9. Cryofractography of the fracture of *S. lipolytica* cytoplasmic membrane and cytochemical detection of lipase:  
а, б – lag and log growth phases of *S. lipolytica* respectively;  
в – electron microscopic cytochemical determination of lipase activity;  
г – *S. lipolytica* fracture in the absence of nutrients (starvation conditions).  
Designations: И – ordinary (rod-shaped) invaginations; В – vesicles;  
ПР – reaction product for lipase; ЭЦВ – exocellular substance

Таблица 3

**Характеристика инвагинаций плазмалеммы *S. lipolytica* в зависимости от состояния клеток**

Table 3

**Characteristics of *S. lipolytica* plasmalemma invaginations depending on the state of the cells**

Состояние клеток	Размер инвагинаций, нм	
	Длина	Ширина
Липолитическая активность	106 ± 23	19 ± 3
Голод	307 ± 137	17 ± 2

Было обнаружено, что при высокой липолитической активности *S. lipolytica* количество ВМЧ значительно выше на РФ-поверхности скола (табл. 4).

Таблица 4

**Плотность ВМЧ в плазмалемме *S. lipolytica* в зависимости от состояния клеток**

Table 4

**Density of intramembrane particles in the plasmalemma of *S. lipolytica* depending on the state**

Состояние клеток	Плотность ВМЧ, частиц на 1 мкм <sup>2</sup>	
	ЕФ-поверхность	РФ-поверхность
Липолитическая активность	698 ± 83	2750 ± 254
Голод	399 ± 67	2411 ± 150

Вероятно, более высокая плотность ВМЧ и преобладание коротких инвагинаций связаны с высокой экзолитической активностью. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что при отсутствии экзолитической активности в условиях голодания увеличивается сворачивание ЦПМ и снижается плотность ВМЧ. Эти факты, а также наличие удлиненных инвагинаций можно считать структурным эквивалентом снижения метаболической активности мембраны.

## Заключение

Показаны три типа ультраструктурных изменений ЦПМ в зависимости от физиологического состояния дрожжевых клеток, что свидетельствует о лабильности и полифункциональности этого клеточного аппарата. Во всех трех рассмотренных физиологических ситуациях культивирования ростовые субстраты утилизируются внеклеточно с помощью ферментов, секретируемых и транспортируемых на внеклеточные компоненты дрожжей по известному везикулярному механизму [20]. При этом мембраны секреторных везикул встраиваются в ЦПМ, увеличивая тем самым ее площадь (см. рис. 5). Мы полагаем, что дрожжи формируют специфические инвагинации в результате переизбытка ЦПМ в замкнутом пространстве, ограниченном клеточной стенкой.

В ситуации 1 указанный тип структурных изменений ЦПМ в случае утилизации углеводов связан с формированием в дрожжевой оболочке модифицированного участка, состоящего из сферической инвагинации, канала клеточной стенки с экзоцеллюлярными компонентами, выступающими за пределы клетки. В данном случае сферические инвагинации, функционально связанные с клеточной стенкой, входят в структуры, названные нами трофосомами [15]. Трофосомы – это субстратзависимые структуры, существующие во время всего процесса утилизации углеводов. К такому типу структурных изменений оболочки можно отнести образование каналов у условно-патогенных дрожжей при росте на углеводородах и формирование каналоподобных структур у дрожжей при патогенезе. Однако последнее утверждение требует дополнительных исследований.

В ситуации 2 крупные карманоподобные инвагинации ЦПМ появлялись только в первые часы культивирования (лаг-фаза) и исчезали в дальнейшем. Это указывает на то, что данные инвагинации не участвуют в гидролизе лаурокса-9. Мы предполагаем, что образование этих инвагинаций связано со структурно-приспособительными перестройками клеточной оболочки при адаптации дрожжей к утилизации лаурокса-9. Эти перестройки обусловлены модификацией клеточной стенки и образованием внеклеточных компонентов, на которых иммобилизованы ферменты гидролиза лаурокса-9. Активация секреторных процессов приводит к временному увеличению площади ЦПМ.

В ситуации 3 везикулярный аппарат клеток активизировался в первые часы культивирования дрожжей в среде с оливковым маслом. Это вполне естественно, так как для утилизации данного субстрата необходим комплекс экзоферментов. Электронно-микроскопическая цитохимическая реакция на липазу выявила локализацию продукта реакции на экзоцеллюлярных компонентах и в инвагинациях ЦПМ. Об участии инвагинаций в утилизации оливкового масла свидетельствуют значительные структурные перестройки ЦПМ, такие как удлинение инвагинаций и снижение плотности ВМЧ, происходящие в ответ на изменение физиологических условий – переход клеток в состояние покоя или голодания, когда ферменты не секретируются.

Таким образом, на основании цитобиохимических и морфометрических данных впервые показана значительная вариабельность морфологии ЦПМ у дрожжей в различных физиологических ситуациях. Были обнаружены три типа адаптивных структурно-функциональных перестроек ЦПМ. Мы предполагаем, что эти изменения обусловлены активизацией секреторных процессов, приводящих к увеличению площади ЦПМ. Полученные данные не только расширяют представление об адаптивных перестройках дрожжевых клеток, но и могут иметь практическое значение, например в терапии микозов, вызванных дрожжевыми организмами [21].

## Библиографические ссылки

1. Moor H, Mühlethaler K. Fine structure in frozen-etched yeast cells. *Journal of Cell Biology*. 1963;17(3):609–628. DOI: 10.1083/jcb.17.3.609.
2. Walther TC, Brickner JH, Aguilar PS, Bernales S, Pantoja C, Walter P. Eisosomes mark static sites of endocytosis. *Nature*. 2006; 439(7079):998–1003. DOI: 10.1038/nature04472.
3. Grossmann G, Malinsky J, Stahlschmidt W, Loibl M, Weig-Meckl I, Frommer WB, et al. Plasma membrane microdomains regulate turnover of transport proteins in yeast. *Journal of Cell Biology*. 2008;183(6):1075–1088. DOI: 10.1083/jcb.200806035.
4. Brach T, Specht T, Kaksonen M. Reassessment of the role of plasma membrane domains in the regulation of vesicular traffic in yeast. *Journal of Cell Science*. 2011;124(3):328–337. DOI: 10.1242/jcs.078519.
5. Murphy ER, Boxberger J, Colvin R, Lee SJ, Zahn G, Loor F, et al. Pil1, an eisosome organizer, plays an important role in the recruitment of synaptojanins and amphiphysins to facilitate receptor-mediated endocytosis in yeast. *European Journal of Cell Biology*. 2011;90(10):825–833. DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.06.006.
6. Olivera-Couto A, Salzman V, Mailhos M, Digman MA, Gratton E, Aguilar PS. Eisosomes are dynamic plasma membrane domains showing Pil1-Lsp1 heterologomer binding equilibrium. *Biophysical Journal*. 2015;108(7):1633–1644. DOI: 10.1016/j.bpj.2015.02.011.
7. Lee J-H, Heuser JE, Roth R, Goodenough U. Eisosome ultrastructure and evolution in fungi, microalgae, and lichens. *Eukaryotic Cell*. 2015;14(10):1017–1042. DOI: 10.1128/EC.00106-15.
8. Douglas L, Konopka JB. Fungal membrane organization: the eisosome concept. *Annual Review of Microbiology*. 2014;68: 377–393. DOI: 10.1146/annurev-micro-091313-103507.
9. Kabeche R, Howard L, Moseley JB. Eisosomes provide membrane reservoirs for rapid expansion of the yeast plasma membrane. *Journal of Cell Science*. 2015;128(22):4057–4062. DOI: 10.1242/jcs.176867.
10. Moseley JB. Eisosomes. *Current Biology*. 2018;28(8):R376–R378. DOI: 10.1016/j.cub.2017.11.073.
11. Фихте БА, Заичкин ЭИ, Ратнер ЕН. *Новые методы физического препарирования биологических объектов для электронно-микроскопических исследований (криофрактография и ионное травление)*. Москва: Наука; 1973. 148 с.

12. Hirai K-I. Comparison between 3,3'-diaminobenzidine and auto-oxidized 3,3'-diaminobenzidine in the cytochemical demonstration of oxidative enzymes. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1971;19(7):434–442. DOI: 10.1177/19.7.434.
13. Nagata T. Lipase. In: Nayat MA, editor. *Electron microscopy of enzymes. Volume 2. Principles and methods*. New York: Van Nostrand Reinhold; 1974. p. 132–148.
14. Ota Y, Yamada K. Lipase from *Candida paraliipolytica*. Part I. Anionic surfactants as the essential activator in the systems emulsified by polyvinyl alcohol. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1966;30(4):351–358. DOI: 10.1080/00021369.1966.10858605.
15. Dmitriev VV, Crowley DE, Rogachevsky VV, Negri CM, Rusakova TG, Kolesnikova SA, et al. Microorganisms form exocellular structures, trophosomes, to facilitate biodegradation of oil in aqueous media. *FEMS Microbiology Letters*. 2011;315(2):134–140. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.02184.x.
16. Dmitriev VV, Crowley DE, Zvonarev AN, Rusakova TG, Negri MC, Kolesnikova SA. Modifications of the cell wall of yeasts grown on hexadecane and under starvation conditions. *Yeast*. 2016;33(2):55–62. DOI: 10.1002/yea.3140.
17. Zvonarev AN, Crowley DE, Ryazanova LP, Lichko LP, Rusakova TG, Kulakovskaya TV, et al. Cell wall canals formed upon growth of *Candida maltosa* in the presence of hexadecane are associated with polyphosphates. *FEMS Yeast Research*. 2017;17(3): fox026. DOI: 10.1093/femsyr/fox026.
18. Anderson J, Mihalik R, Soll DR. Ultrastructure and antigenicity of the unique cell wall pimple of the *Candida* opaque phenotype. *Journal of Bacteriology*. 1990;172(1):224–235. DOI: 10.1128/jb.172.1.224-235.1990.
19. Дмитриев ВВ, Бибикина ИИ, Офицеров ЕН, Наумова РП. О дрожжах, утилизирующих поверхностно-активное вещество лаурокс-9. *Микробиология*. 1988;57(2):223–230.
20. Bonifacino JS. Vesicular transport earns a Nobel. *Trends in Cell Biology*. 2014;24(1):3–5. DOI: 10.1016/j.tcb.2013.11.001.
21. Дмитриев ВВ, Звонарев АН, Русакова ТГ. Роль поверхностных и экзоцеллюлярных структур в адаптации микроорганизмов к экстремальным факторам внешней среды. *История науки и техники*. 2020;12:30–43. DOI: 10.25791/intstg.12.2020.1245.

## References

1. Moor H, Mühlethaler K. Fine structure in frozen-etched yeast cells. *Journal of Cell Biology*. 1963;17(3):609–628. DOI: 10.1083/jcb.17.3.609.
2. Walther TC, Brickner JH, Aguilar PS, Bernales S, Pantoja C, Walter P. Eisosomes mark static sites of endocytosis. *Nature*. 2006; 439(7079):998–1003. DOI: 10.1038/nature04472.
3. Grossmann G, Malinsky J, Stahlschmidt W, Loibl M, Weig-Meckl I, Frommer WB, et al. Plasma membrane microdomains regulate turnover of transport proteins in yeast. *Journal of Cell Biology*. 2008;183(6):1075–1088. DOI: 10.1083/jcb.200806035.
4. Brach T, Specht T, Kaksonen M. Reassessment of the role of plasma membrane domains in the regulation of vesicular traffic in yeast. *Journal of Cell Science*. 2011;124(3):328–337. DOI: 10.1242/jcs.078519.
5. Murphy ER, Boxberger J, Colvin R, Lee SJ, Zahn G, Loor F, et al. Pil1, an eisosome organizer, plays an important role in the recruitment of synaptojanins and amphiphysins to facilitate receptor-mediated endocytosis in yeast. *European Journal of Cell Biology*. 2011;90(10):825–833. DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.06.006.
6. Olivera-Couto A, Salzman V, Mailhos M, Digman MA, Gratton E, Aguilar PS. Eisosomes are dynamic plasma membrane domains showing Pil1-Lsp1 heteroligomer binding equilibrium. *Biophysical Journal*. 2015;108(7):1633–1644. DOI: 10.1016/j.bpj.2015.02.011.
7. Lee J-H, Heuser JE, Roth R, Goodenough U. Eisosome ultrastructure and evolution in fungi, microalgae, and lichens. *Eukaryotic Cell*. 2015;14(10):1017–1042. DOI: 10.1128/EC.00106-15.
8. Douglas L, Konopka JB. Fungal membrane organization: the eisosome concept. *Annual Review of Microbiology*. 2014;68: 377–393. DOI: 10.1146/annurev-micro-091313-103507.
9. Kabeche R, Howard L, Moseley JB. Eisosomes provide membrane reservoirs for rapid expansion of the yeast plasma membrane. *Journal of Cell Science*. 2015;128(22):4057–4062. DOI: 10.1242/jcs.176867.
10. Moseley JB. Eisosomes. *Current Biology*. 2018;28(8):R376–R378. DOI: 10.1016/j.cub.2017.11.073.
11. Fikhte BA, Zaichkin EI, Ratner EN. *Novye metody fizicheskogo preparirovaniya biologicheskikh ob'ektov dlya elektronno-mikroskopicheskikh issledovaniy (kriofraktografiya i ionnoe travlenie)* [New methods of the physical preparation of biological objects for electron microscopic investigations (cryofractography and ion etching)]. Moscow: Nauka; 1973. 148 p. Russian.
12. Hirai K-I. Comparison between 3,3'-diaminobenzidine and auto-oxidized 3,3'-diaminobenzidine in the cytochemical demonstration of oxidative enzymes. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1971;19(7):434–442. DOI: 10.1177/19.7.434.
13. Nagata T. Lipase. In: Nayat MA, editor. *Electron microscopy of enzymes. Volume 2. Principles and methods*. New York: Van Nostrand Reinhold; 1974. p. 132–148.
14. Ota Y, Yamada K. Lipase from *Candida paraliipolytica*. Part I. Anionic surfactants as the essential activator in the systems emulsified by polyvinyl alcohol. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1966;30(4):351–358. DOI: 10.1080/00021369.1966.10858605.
15. Dmitriev VV, Crowley DE, Rogachevsky VV, Negri CM, Rusakova TG, Kolesnikova SA, et al. Microorganisms form exocellular structures, trophosomes, to facilitate biodegradation of oil in aqueous media. *FEMS Microbiology Letters*. 2011;315(2):134–140. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.02184.x.
16. Dmitriev VV, Crowley DE, Zvonarev AN, Rusakova TG, Negri MC, Kolesnikova SA. Modifications of the cell wall of yeasts grown on hexadecane and under starvation conditions. *Yeast*. 2016;33(2):55–62. DOI: 10.1002/yea.3140.
17. Zvonarev AN, Crowley DE, Ryazanova LP, Lichko LP, Rusakova TG, Kulakovskaya TV, et al. Cell wall canals formed upon growth of *Candida maltosa* in the presence of hexadecane are associated with polyphosphates. *FEMS Yeast Research*. 2017;17(3): fox026. DOI: 10.1093/femsyr/fox026.
18. Anderson J, Mihalik R, Soll DR. Ultrastructure and antigenicity of the unique cell wall pimple of the *Candida* opaque phenotype. *Journal of Bacteriology*. 1990;172(1):224–235. DOI: 10.1128/jb.172.1.224-235.1990.
19. Dmitriev VV, Bibikova II, Ofitserov EN, Naumova RP. [Yeast that utilizes the surfactant laurox-9]. *Mikrobiologiya*. 1988; 57(2):223–230. Russian.
20. Bonifacino JS. Vesicular transport earns a Nobel. *Trends in Cell Biology*. 2014;24(1):3–5. DOI: 10.1016/j.tcb.2013.11.001.
21. Dmitriev VV, Zvonarev AN, Rusakova TG. The role of surface and exocellular structures of microorganisms in their adaptation to extreme environments. *History of Science and Engineering*. 2020;12:30–43. Russian. DOI: 10.25791/intstg.12.2020.1245.

УДК 577.352.4

### ВЛИЯНИЕ ПРОПИОНОВОЙ И МАСЛЯНОЙ КИСЛОТ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ГОМОГЕНАТАХ МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС

Е. В. ЯЦКЕВИЧ<sup>1)</sup>, М. ДЖАВАД<sup>2)</sup>, С. В. ФЕДОРОВИЧ<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Белорусский государственный медицинский университет,  
пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Микробиота кишечника может вносить вклад в патогенез различных заболеваний центральной нервной системы. Считается, что штаммы, продуцирующие пропионовую кислоту, обладают нейротоксичным действием, а штаммы, продуцирующие масляную кислоту, – нейропротекторным действием. В статье проведена сравнительная оценка влияния пропионовой и масляной кислот в концентрации 1–10 ммоль/л на базальный уровень перекисного окисления липидов и уровень перекисного окисления липидов в условиях окислительного стресса, вызванного пероксидом водорода, в гомогенатах мозга и печени. Пропионовая кислота достоверно не изменяла базальный уровень перекисного окисления липидов в гомогенате мозга, но ингибировала этот процесс в гомогенате печени. Масляная кислота индуцировала перекисное окисление липидов в гомогенатах печени и мозга. Более выраженным эффект был в гомогенате печени: добавление уже 1 ммоль/л масляной кислоты приводило к увеличению перекисного окисления липидов в этом органе в 2,35 раза. Пропионовая кислота способствовала усилению перекисного окисления липидов в условиях окислительного стресса, вызванного пероксидом водорода, в гомогенате мозга в концентрации 10 ммоль/л и в гомогенате печени в концентрациях 1 и 10 ммоль/л. Масляная кислота обуславливала небольшое увеличение уровня перекисного окисления липидов в гомогенате мозга в концентрации 5 ммоль/л и его снижение

---

#### Образец цитирования:

Яцкевич ЕВ, Джавад М, Федорович СВ. Влияние пропионовой и масляной кислот на перекисное окисление липидов в гомогенатах мозга и печени крыс. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:26–32.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-26-32>

#### For citation:

Yatskevich EV, Jawad M, Fedorovich SV. Influence of propionic and butyric acids on lipid peroxidation in rat brain and liver homogenates. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023; 1:26–32. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-26-32>

---

#### Авторы:

**Елизавета Витальевна Яцкевич** – преподаватель-стажер кафедры нормальной физиологии.  
**Марианн Джавад** – магистрант кафедры биохимии биологического факультета. Научный руководитель – С. В. Федорович.  
**Сергей Викторович Федорович** – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры биохимии биологического факультета.

#### Authors:

**Elizaveta V. Yatskevich**, trainee lecturer at the department of normal physiology.  
[liza.yatskevich.99@gmail.com](mailto:liza.yatskevich.99@gmail.com)  
**Marianne Jawad**, master's degree student at the department of biochemistry, faculty of biology.  
[mariannejawad112@gmail.com](mailto:mariannejawad112@gmail.com)  
**Sergei V. Fedorovich**, PhD (biology), docent; associate professor at the department of biochemistry, faculty of biology.  
[fedorovich@bsu.by](mailto:fedorovich@bsu.by)  
<https://orcid.org/0000-0003-4474-1954>

в гомогенате печени в концентрации 10 ммоль/л. Таким образом, пропионовая и масляная кислоты способны влиять на процессы перекисного окисления липидов в гомогенатах мозга и печени. Пропионовая кислота, как правило, обладает антиоксидантными свойствами, а масляная кислота – прооксидантными свойствами. Все эффекты были более выражены в гомогенате печени.

**Ключевые слова:** микробиота; пропионовая кислота; масляная кислота; головной мозг; перекисное окисление липидов; активные формы кислорода.

**Благодарность.** Работа поддержана грантом ректора БГУ.

## INFLUENCE OF PROPIONIC AND BUTYRIC ACIDS ON LIPID PEROXIDATION IN RAT BRAIN AND LIVER HOMOGENATES

*E. V. YATSKEVICH<sup>a</sup>, M. JAWAD<sup>b</sup>, S. V. FEDOROVICH<sup>b</sup>*

<sup>a</sup>Belarusian State Medical University, 83 Dziržynskaha Avenue, Minsk 220116, Belarus

<sup>b</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: S. V. Fedorovich (fedorovich@bsu.by)

Gut microbiota can contribute to pathogenesis of different brain diseases. It is believed that strains which produced propionic acid have neurotoxic influence. Also strains which produced butyric acid have neuroprotective influence. In present paper we compare effects of propionic and butyric acids in concentration 1–10 mmol/L on basal level of lipid peroxidation and lipid peroxidation in case of oxidative stress induced by hydrogen peroxide in brain and liver homogenates. Propionic acid does not influence basal level of lipid peroxidation in brain homogenate and inhibits it in liver homogenate. Butyric acid induced this process in liver and brain homogenates. Effect was more pronounced in liver homogenate. Already 1 mmol/L of butyrate increase lipid peroxidation in 2.35 folds in this tissue. Propionic acid in concentration 10 mmol/L leads to increase lipid peroxidation induced by hydrogen peroxide in brain homogenate. The same compounds in concentration 1 and 10 mmol/L to increase lipid peroxidation in case of oxidative stress induced by hydrogen peroxide in liver homogenate. Butyric acid in concentration 5 mmol/L leads to small increase of the same characteristic in brain homogenate, 10 mmol/L of butyrate decreases lipid peroxidation induced by hydrogen peroxide in liver homogenate. Therefore, propionic and butyric acids able to influenced lipid peroxidation in brain and liver homogenates. Propionic acid mainly has antioxidant properties. Butyric acid has prooxidant properties. All effects were more pronounced in liver homogenate.

**Keywords:** microbiota; propionic acid; butyric acid; brain; lipid peroxidation; reactive oxygen species.

**Acknowledgements.** This work was supported by a grant from the rector of the Belarusian State University.

### Введение

Микробиота кишечника может влиять на работу головного мозга [1] и в зависимости от доминирующих штаммов оказывать защитное действие или же, наоборот, являться патогенетическим фактором для различных заболеваний центральной нервной системы [1–4]. Микробиом потенциально может влиять на работу головного мозга посредством различных механизмов, поэтому существует несколько гипотез действия микробиома, но основной из них считается химическая. Согласно этой гипотезе микробиом выделяет различные вещества, которые обладают нейропротекторными или же нейротоксичными свойствами [1–4]. К таким веществам относятся катехоламины, аминокислоты и их производные, а также короткоцепочечные жирные кислоты, в частности пропионовая и масляная кислоты. Получены доказательства, что пропионовая кислота в целом обладает нейротоксичными свойствами [3], а масляная кислота – нейропротекторными свойствами [4]. Оба этих соединения достаточно хорошо проникают через гематоэнцефалический барьер. В то же время остается непонятным, чем объясняется физиологически противоположное действие химически достаточно близких веществ.

Короткоцепочечные жирные кислоты воздействуют на клетки различными способами: они могут закислять цитозоль [5], активировать G-протеинсвязанные рецепторы [2; 6; 7], ингибировать гистондеацетилазу [4; 8]. Ингибирование гистондеацетилазы приводит к регуляции по эпигенетическому механизму [4]. Короткоцепочечные жирные кислоты также могут влиять на образование свободных радикалов и регулировать окислительный стресс [9; 10]. Остается неизвестным, насколько вышеперечисленные механизмы специфичны для клеток мозга.

В данной работе сравнивалось действие пропионовой и масляной кислот на основной маркер окислительного стресса, перекисное окисление липидов (ПОЛ), в гомогенатах мозга и печени. Изучались базальный уровень ПОЛ и уровень ПОЛ при дополнительном внесении 1 ммоль/л пероксида водорода.

### Материалы и методы исследования

В работе использовались пропионовая и масляная кислоты (*Sigma*, США), все остальные реактивы квалификации не ниже «о. с. ч.».

Гомогенат получали из печени и мозга самцов беспородных белых крыс массой 150–180 г, содержащихся на стандартном рационе вивария БГУ. Печень и мозг подопытных животных извлекали и дважды промывали в ледяном 0,1 моль/л натрий-фосфатном буфере (рН 7,4). Ткани измельчали ножницами в чашке Петри, стоящей на льду, и делали навеску 1 г. Гомогенизацию проводили в гомогенизаторе Поттера с притертым тефлоновым пестиком, предварительно добавив 4 мл 0,1 моль/л натрий-фосфатного буфера (рН 7,4) и еще 5 мл через 30 с. Таким образом, получали 10 % гомогенат, который сразу же фильтровали через 3–4 слоя марли.

Уровень ПОЛ определяли по накоплению продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [11]. Готовый 10 % гомогенат печени или мозга разводили в натрий-фосфатном буфере до конечной концентрации белка 0,8–1,0 мг/мл. Гомогенат вместе с буфером и другими добавками инкубировали при температуре 37 °С в течение 30 мин. К 1 мл разведенного гомогената добавляли 1 мл 0,1 моль/л натрий-фосфатного буфера (рН 7,4), 0,5 мл 30 % раствора трихлоруксусной кислоты, 2 мл 0,8 % раствора ТБК. Пробы помещали в кипящую водяную баню на 15 мин, выпавший в осадок белок отделяли центрифугированием при 1500–3000 об/мин в течение 10 мин. Полученный супернатант спектрофотометрировали при длине волны 532 нм.

Окислительный стресс стимулировался добавлением пероксида водорода в концентрации 1 ммоль/л. Это вещество вносили вместе с пропионовой или масляной кислотой в гомогенат тканей. Накопление ТБК-активных продуктов без пероксида водорода принималось за базальный уровень ПОЛ.

Содержание ТБК-активных продуктов (моль на 1 мг белка) рассчитали по формуле

$$C = \frac{A}{\epsilon l n},$$

где  $A$  – оптическая плотность при длине волны 532 нм;  $\epsilon$  – коэффициент молярной экстинкции ТБК ( $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5$  моль<sup>-1</sup> · см<sup>-1</sup>);  $l$  – длина оптического пути ( $l = 1$  см);  $n$  – концентрация белка (мг) в 1 мл разведенного гомогената, определенная по методу Лоури [12] с использованием бычьего сывороточного альбумина как стандарта.

Результаты представляли в виде среднего арифметического индивидуальных измерений и стандартной ошибки среднего арифметического. Статистической обработке подвергались нормализованные значения. Для анализа данных применялся  $t$ -критерий Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при  $p \leq 0,05$ . Нормальность распределения выборок подтверждалась тестом Шапиро – Уилка.

На рисунках приведены результаты не менее чем 8 экспериментов. Всего в экспериментальной серии было использовано 15 животных.

### Результаты и их обсуждение

Из рис. 1, *а*, видно, что пропионовая кислота не влияет на процессы ПОЛ в гомогенате мозга. В то же время она проявляет антиоксидантные свойства в гомогенате печени (рис. 1, *б*). Более сложная зависимость наблюдается в случае обработки гомогенатов 1 ммоль/л пероксидом водорода. В гомогенате мозга накопление ТБК-активных продуктов увеличивалось при концентрации пропионовой кислоты 10 ммоль/л и уменьшалось при ее концентрации 5 ммоль/л (рис. 2, *а*). В гомогенате печени ПОЛ активировалось при добавлении 1 и 10 ммоль/л пропионовой кислоты, но снижалось при внесении 5 ммоль/л пропионовой кислоты (рис. 2, *б*). В присутствии 1 ммоль/л кислоты накопление ТБК-активных продуктов возрастало в 1,83 раза, что свидетельствует о значительном усилении окислительного стресса.

Как видно из рис. 3, *а*, масляная кислота способствует увеличению накопления ТБК-активных продуктов в гомогенате мозга при концентрациях 1 и 5 ммоль/л, но не влияет на их уровень при концентрации 10 ммоль/л. В то же время в гомогенате печени масляная кислота обладает прооксидантными свойствами во всем изученном диапазоне концентраций (1–10 ммоль/л) (рис. 3, *б*). Максимальный эффект (увеличение в 2,35 раза по сравнению с контролем) наблюдался при концентрации 1 ммоль/л. При дополнительной обработке гомогената мозга пероксидом водорода достаточно небольшое повышение уровня ТБК-активных продуктов отмечалось только в случае внесения 5 ммоль/л масляной кислоты (рис. 4, *а*). В гомогенате печени в присутствии пероксида водорода и масляной кислоты происходило незначительное увеличение накопления ТБК-активных продуктов при концентрации кислоты 1 ммоль/л и двукратное его снижение при концентрации кислоты 10 ммоль/л (рис. 4, *б*).

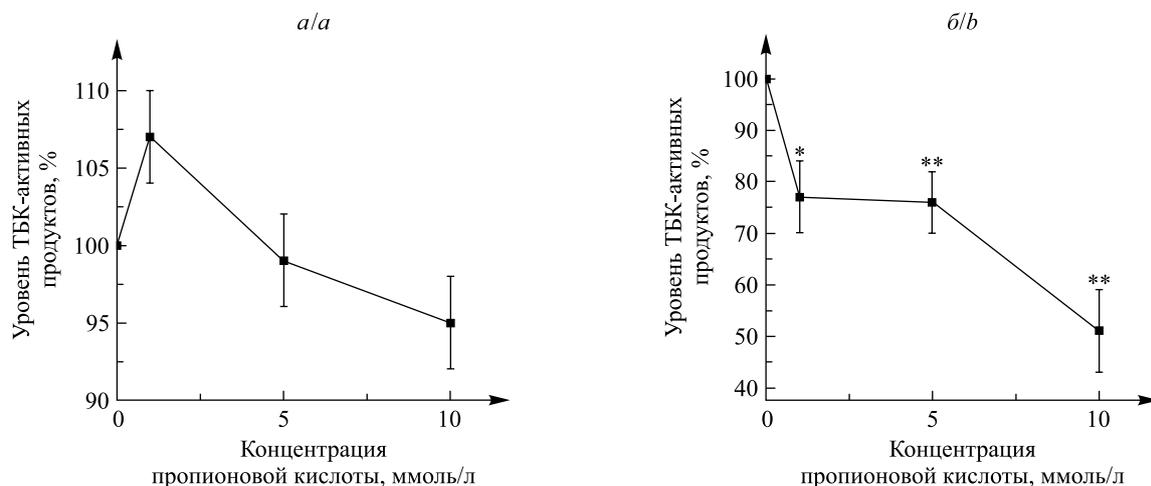


Рис. 1. Влияние пропионовой кислоты на ПОЛ в гомогенатах мозга (а) и печени (б).

За 100 % взято накопление ТБК-активных продуктов без пропионовой и масляной кислот, составившее  $(0,767 \pm 0,097)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате мозга и  $(0,110 \pm 0,017)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате печени.

Знаком \* отмечены статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при  $p \leq 0,05$ , знаком \*\* – статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при  $p \leq 0,01$

Fig. 1. Influence of propionic acid on lipid peroxidation in brain (a) and liver (b) homogenates.

The 100 % level correspond accumulation of TBA-active products without propionic and butyric acids. This characteristic consist  $(0.767 \pm 0.097)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for brain homogenate and  $(0.110 \pm 0.017)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for liver homogenate.

Sign \* marked statistically significant differences in relation to level 100 % at  $p \leq 0,05$ , sign \*\* – statistically significant differences in relation to level 100 % at  $p \leq 0,01$

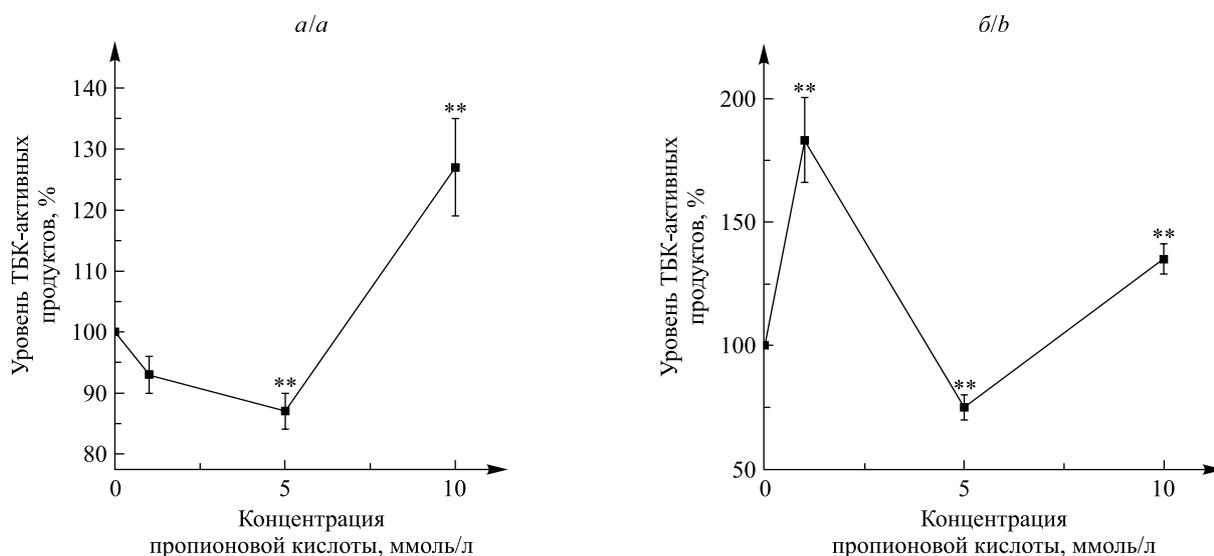


Рис. 2. Влияние пропионовой кислоты на ПОЛ в гомогенатах мозга (а) и печени (б)

в условиях окислительного стресса, вызванного добавлением 1 ммоль/л пероксида водорода.

За 100 % взято накопление ТБК-активных продуктов без пропионовой и масляной кислот, составившее  $(0,388 \pm 0,070)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате мозга и  $(0,188 \pm 0,040)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате печени.

Знаком \*\* отмечены статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при  $p \leq 0,01$

Fig. 2. Influence of propionic acid on lipid peroxidation in case oxidative stress induced by 1 mmol/L hydrogen peroxide in brain (a) and liver (b) homogenates.

The 100 % level correspond accumulation of TBA-active products without propionic and butyric acids. This characteristic consist  $(0.388 \pm 0.070)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for brain homogenate and  $(0.188 \pm 0.040)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for liver homogenate.

Sign \*\* marked statistically significant differences in relation to level 100 % at  $p \leq 0,01$

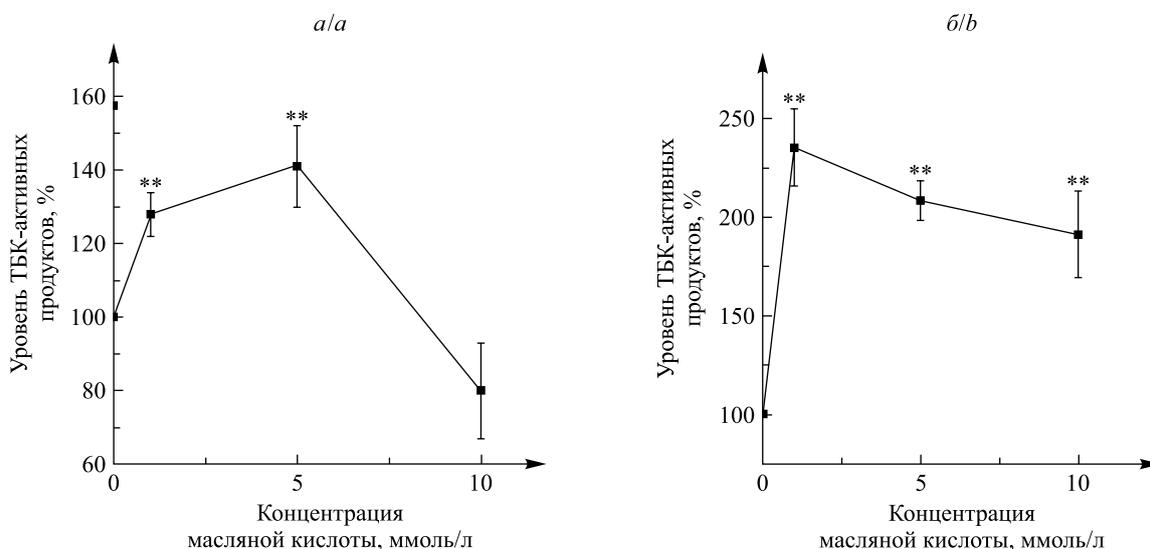


Рис. 3. Влияние масляной кислоты на ПОЛ в гомогенатах мозга (а) и печени (б).

За 100 % взято накопление ТБК-активных продуктов без пропионовой и масляной кислот, составившее  $(0,767 \pm 0,097)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате мозга и  $(0,110 \pm 0,017)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате печени. Знаком \*\* отмечены статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при  $p \leq 0,01$

Fig. 3. Influence of butyric acid on lipid peroxidation in brain (a) and liver (b) homogenates.

The 100 % level correspond accumulation of TBA-active products without propionic and butyric acids. This characteristic consist  $(0.767 \pm 0.097)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for brain homogenate and  $(0.110 \pm 0.017)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for liver homogenate. Sign \*\* marked statistically significant differences in relation to level 100 % at  $p \leq 0.01$

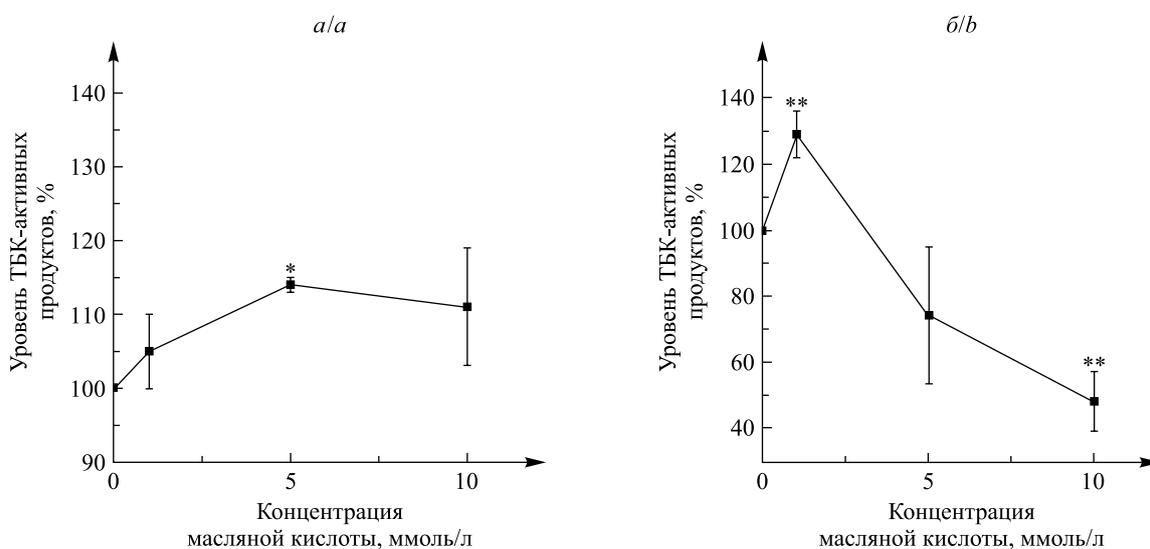


Рис. 4. Влияние масляной кислоты на ПОЛ в гомогенатах мозга (а) и печени (б)

в условиях окислительного стресса, вызванного добавлением 1 ммоль/л пероксида водорода.

За 100 % взято накопление ТБК-активных продуктов без пропионовой и масляной кислот, составившее  $(0,388 \pm 0,070)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате мозга и  $(0,188 \pm 0,040)$  мкмоль/л малонового альдегида на 1 мг белка в гомогенате печени. Знаком \* отмечены статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при  $p \leq 0,05$ , знаком \*\* – статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при  $p \leq 0,01$

Fig. 4. Influence of butyric acid on lipid peroxidation in case of oxidative stress induced by 1 mmol/L hydrogen peroxide in brain (a) and liver (b) homogenates.

The 100 % level corresponds accumulation of TBA-active products without propionic and butyric acids. This characteristic consists  $(0.388 \pm 0.070)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for brain homogenate and  $(0.188 \pm 0.040)$   $\mu\text{mol/L}$  malondialdehyde per 1 mg protein for liver homogenate.

Sign \* marked statistically significant differences in relation to level 100 % at  $p \leq 0.05$ , sign \*\* – statistically significant differences in relation to level 100 % at  $p \leq 0.01$

Ранее было показано, что закисление повышает накопление продуктов ПОЛ в срезах мозга [13], поэтому с помощью рН-метра проверено, что выбранные концентрации пропионовой и масляной кислот не способны сдвигать рН натрий-фосфатного буфера (данные не указаны).

Полученные результаты свидетельствуют, что при определенных условиях обе кислоты могут быть как прооксидантами, так и антиоксидантами. В то же время без дополнительной обработки пероксидом водорода пропионовая кислота оказывает только антиоксидантное действие, а масляная кислота – только прооксидантное действие. Это не соответствует сложившейся в литературе концепции о преимущественно нейротоксичной роли пропионовой кислоты [2; 3] и нейропротекторной роли масляной кислоты [2; 4]. Следует отметить, что защитное действие масляной кислоты связано с увеличением экспрессии антиоксидантных ферментов по эпигенетическому механизму. Маловероятно, что в гомогенате будет происходить экспрессия белков. Установлено, что в клетках кишечника масляная кислота может использоваться митохондриями для окислительного фосфорилирования [14]. Неизвестно, способны ли короткоцепочечные жирные кислоты выступать источником энергии для клеток мозга и печени, но если способны, то это может приводить к образованию свободных радикалов в электрон-транспортной цепи митохондрий [15], что объясняет прооксидантное действие масляной кислоты в проведенных экспериментах. Кроме того, показано, что бутират вызывает открытие пор в митохондриях [16], что также может быть причиной окислительного стресса.

### Заключение

Таким образом, влияние короткоцепочечных жирных кислот на ПОЛ в гомогенатах не объясняет физиологического действия этих веществ. Хотя, конечно, проведенные эксперименты дают дополнительную информацию о механизмах действия метаболитов, синтезируемых кишечной микрофлорой.

В случае индукции окислительного стресса пероксидом водорода масляная кислота вызывает достаточно небольшие изменения в накоплении ТБК-активных продуктов, тогда как пропионовая кислота, как правило, способствует значительному усилению ПОЛ. Вероятно, это обусловлено потенциальным ингибированием антиоксидантных ферментов. Данный механизм мог бы объяснить нейротоксичное действие пропионовой кислоты, хотя, конечно, этот вопрос требует дальнейшего изучения.

В рамках исследования какой-либо специфичности действия короткоцепочечных жирных кислот по отношению к гомогенату мозга не обнаружено. Более того, эффекты в гомогенате печени, как правило, были более выражены (см. рис. 1–4). Это можно объяснить тем, что печень является первым органом, куда попадает кровь после кишечника, и, соответственно, многие процессы в данном органе могут регулироваться продуктами кишечной микробиоты [2].

Следовательно, такие продукты кишечной микробиоты, как масляная и пропионовая кислоты, способны влиять на процессы перекисного окисления в гомогенатах печени и мозга.

### Библиографические ссылки/References

1. Cryan JF, O’Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The microbiota – gut – brain axis. *Physiological Reviews*. 2019;99(4):1877–2013. DOI: 10.1152/physrev.00018.2018.
2. Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K. The role of short-chain fatty acids in microbiota – gut – brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2019;16(8):461–478. DOI: 10.1038/s41575-019-0157-3.
3. Killingsworth J, Sawmiller D, Shytle RD. Propionate and Alzheimer’s disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020;12:580001. DOI: 10.3389/fnagi.2020.580001.
4. Bourassa MW, Alim I, Bultman SJ, Ratan RR. Butyrate, neuroepigenetics and the gut microbiome: can a high fiber diet improve brain health? *Neuroscience Letters*. 2016;625:56–63. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.02.009.
5. Zefirov AL, Mukhametzyanov RD, Zakharov AV, Mukhutdinova KA, Odnoshivkina UG, Petrov AM. Intracellular acidification suppresses synaptic vesicle mobilization in the motor nerve terminals. *Acta Naturae*. 2020;12(4):105–113. DOI: 10.32607/actanaturae.11054.
6. Blad CC, Tang C, Offermanns S. G protein-coupled receptors for energy metabolites as new therapeutic targets. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2012;11(8):603–619. DOI: 10.1038/nrd3777.
7. Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, Eilert MM, Tcheang L, Daniels D, et al. The orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(13):11312–11319. DOI: 10.1074/jbc.M211609200.
8. Schroeder FA, Lin CL, Crusio WE, Akbarian S. Antidepressant-like effects of the histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, in the mouse. *Biological Psychiatry*. 2007;62(1):55–64. DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.06.036.
9. Colín-González AL, Paz-Loyola AL, Serratos I, Seminotti B, Ribeiro CAJ, Leipnitz G, et al. Toxic synergism between quinolinic acid and organic acids accumulating in glutaric acidemia type I and in disorders of propionate metabolism in rat brain synaptosomes: relevance for metabolic acidemias. *Neuroscience*. 2015;308:64–74. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.09.002.
10. González-Bosch C, Boorman E, Zunsain PA, Mann GE. Short-chain fatty acids as modulators of redox signaling in health and disease. *Redox Biology*. 2021;47:102165. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102165.

11. Kohn HI, Liversedge M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1944;82(3):292–300.
12. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951;193(1):265–275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
13. Bralet J, Bouvier C, Schreiber L, Boquillon M. Effect of acidosis on lipid peroxidation in brain slices. *Brain Research*. 1991;539(1):175–177. DOI: 10.1016/0006-8993(91)90703-x.
14. Roediger WE. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*. 1980;21(9):793–798. DOI: 10.1136/gut.21.9.793.
15. Chenna S, Koopman WJH, Prehn JHM, Connolly NMC. Mechanisms and mathematical modeling of ROS production by the mitochondrial electron transport chain. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2022;323(1):C69–C83. DOI: 10.1152/ajp-cell.00455.2021.
16. Qin Xiaojiao, Xu Yanhong, Peng Shiqiao, Qian Shengnan, Zhang Xiaoying, Shen Shuang, et al. Sodium butyrate opens mitochondrial permeability transition pore (MPTP) to induce a proton leak in induction of cell apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2020;527(3):611–617. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.04.133.

Получена 25.10.2022 / исправлена 23.11.2022 / принята 24.11.2022.  
Received 25.10.2022 / revised 23.11.2022 / accepted 24.11.2022.

---

---

# БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

---

## BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

---

---

УДК 616.155.392-036.11:[612.112.94:615.37]

### ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ФИДЕРНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ МЕМБРАННО-СВЯЗАННЫЕ ФОРМЫ ИЛ-12 И ИЛ-18, ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК

А. С. МУХАМЕТШИНА<sup>1)</sup>, А. А. МИГАС<sup>1)</sup>,  
А. В. КЛЫЧ<sup>1)</sup>, Е. А. ЛАСЮКОВ<sup>1)</sup>, Т. В. ШМАН<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,  
ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский район, Беларусь

---

#### Образец цитирования:

Мухаметшина АС, Мигас АА, Клыч АВ, Ласюков ЕА, Шман ТВ. Получение новых фидерных клеточных линий, экспрессирующих мембранно-связанные формы ИЛ-12 и ИЛ-18, для улучшения противоопухолевых свойств естественных киллерных клеток. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:33–40.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-33-40>

#### For citation:

Mukhametshyna NS, Migas AA, Klych HV, Lasiukov YA, Shman TV. Obtaining new feeder cell lines expressing membrane-bound forms of IL-12 and IL-18 to improve the anti-tumor properties of natural killer cells. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:33–40. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-33-40>

#### Авторы:

**Анастасия Станиславовна Мухаметшина** – младший научный сотрудник лаборатории иммунологических исследований.

**Александр Александрович Мигас** – заведующий лабораторией иммунологических исследований.

**Анна Васильевна Клыч** – младший научный сотрудник лаборатории генетических биотехнологий.

**Евгений Анатольевич Ласюков** – младший научный сотрудник лаборатории иммунологических исследований.

**Татьяна Викторовна Шман** – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологических исследований.

#### Authors:

**Nastassia S. Mukhametshyna**, junior researcher at the laboratory of immunological research.

[mukhametshyna\\_n@yahoo.com](mailto:mukhametshyna_n@yahoo.com)

<https://orcid.org/0000-0002-0029-1499>

**Alexander A. Migas**, head of the laboratory of immunological research.

[alexandr.migas.work@gmail.com](mailto:alexandr.migas.work@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-7013-9847>

**Hanna V. Klych**, junior researcher at the laboratory of genetic biotechnologies.

[hannaklych@gmail.com](mailto:hannaklych@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-2898-2419>

**Yauheni A. Lasiukov**, junior researcher at the laboratory of immunological research.

[zhenya\\_lasyukov@mail.ru](mailto:zhenya_lasyukov@mail.ru)

<https://orcid.org/0000-0003-4183-0134>

**Tatsiana V. Shman**, PhD (biology); leading researcher at the laboratory of immunological research.

[t\\_shman@yahoo.com](mailto:t_shman@yahoo.com)

<https://orcid.org/0000-0001-8669-8005>

В настоящее время проводятся многочисленные клинические исследования по использованию естественных киллерных клеток в терапии онкологических заболеваний и солидных опухолей. Однако такая иммунотерапия может быть ограничена непродолжительной персистенцией естественных киллерных клеток в организме реципиента и способностью опухолевых клеток избегать распознавания естественными киллерными клетками. Решение этих проблем путем модификации исходных свойств естественных киллерных клеток может существенно повысить эффективность противоопухолевой терапии. Одним из способов модификации является использование новых фидерных клеточных линий, экспрессирующих различные комбинации мембранно-связанных цитокинов (ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21), для получения естественных киллерных клеток с особым фенотипом (*memory-like*). В ходе проведенного исследования получены две новые фидерные клеточные линии на основе клеток линии К-562 с эктопической экспрессией комбинаций цитокинов ИЛ-15, ИЛ-12, ИЛ-18 и ИЛ-21, ИЛ-12, ИЛ-18 для экспансии естественных киллерных клеток с усиленной противоопухолевой активностью.

**Ключевые слова:** естественные киллерные клетки; интерлейкины; фидерные клеточные линии; острый лейкоз; иммунотерапия.

**Благодарность.** Работа выполнена при финансовой поддержке государственной программы «Научные технологии и техника» на 2021–2025 гг. (подпрограмма 1 «Инновационные биотехнологии», задача 5).

## OBTAINING NEW FEEDER CELL LINES EXPRESSING MEMBRANE-BOUND FORMS OF IL-12 AND IL-18 TO IMPROVE THE ANTI-TUMOR PROPERTIES OF NATURAL KILLER CELLS

N. S. MUKHAMETSHYNA<sup>a</sup>, A. A. MIGAS<sup>a</sup>,  
H. V. KLYCH<sup>a</sup>, Y. A. LASIUKOV<sup>a</sup>, T. V. SHMAN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,  
43 Frunzienskaja Street, Baraŭliany 223053, Minsk District, Belarus

Corresponding author: N. S. Mukhametshyna ([mukhametshyna\\_n@yahoo.com](mailto:mukhametshyna_n@yahoo.com))

Numerous clinical studies are currently underway on the use of natural killer cells in the treatment of cancer and solid tumors. However, such immunotherapy may be limited by the short persistence of natural killer cells in the host body and the ability of tumor cells to avoid recognition by natural killer cells. Solving these problems by modifying the initial properties of natural killer cells can significantly increase the effectiveness of antitumor therapy. One of the methods of modification is the use of new feeder cell lines expressing various combinations of membrane-bound cytokines (IL-12, IL-15, IL-18, IL-21) to obtain natural killer cells with a specific phenotype (*memory-like*). In the course of the work done, two new feeder cell lines based on K-562 cells with ectopic expression of a combination of interleukins IL-15, IL-12, IL-18 and IL-21, IL-12, IL-18 were obtained for the expansion of natural killer cells with enhanced antitumor activity.

**Keywords:** natural killer cells; interleukins; feeder cell lines; acute leukemia; immunotherapy.

**Acknowledgements.** The work was funded by the state program «Science-intensive technologies and equipment» for 2021–2025 (subprogram 1 «Innovative biotechnologies», task 5).

### Введение

На сегодняшний день клеточная терапия активно внедряется в схемы лечения различных заболеваний, в том числе онкологических. Основной функцией естественных киллерных (ЕК) клеток, которые относятся к группе клеток врожденного иммунитета, является защита организма от вирусов и опухолевой трансформации [1]. В настоящее время проводятся многочисленные клинические исследования по использованию ЕК-клеток в терапии онкологических заболеваний и солидных опухолей [2]. Преимущество применения ЕК-клеток в онкологии заключается в их врожденной высокой противоопухолевой активности, а также безопасности для пациента даже при использовании аллогенных ЕК-клеток. Однако успешное применение ЕК-иммунотерапии ограничивается рядом факторов, в частности непродолжительной персистенцией ЕК-клеток в организме реципиента и способностью опухолевых клеток избегать распознавания ЕК-клетками. Решение указанных проблем путем модификации исходных свойств ЕК-клеток может существенно повысить эффективность противоопухолевой терапии. Ранее авторами были получены два варианта генетически модифицированных фидерных клеточных линий на основе клеток линии К-562 – сублиния FD15, экспрессирующая рекомбинантный белок 4-1BBL и ИЛ-15, и сублиния FD21, экспрессирующая рекомбинантный белок 4-1BBL и ИЛ-21 [3].

Цель исследования – получить новые фидерные клеточные линии с эктопической экспрессией комбинаций мембранно-связанных цитокинов ИЛ-15, ИЛ-12, ИЛ-18 и ИЛ-21, ИЛ-12, ИЛ-18 для приобретения ЕК-клетками особого фенотипа (*memory-like*) [4]. Одной из особенностей таких клеток является более длительная персистенция *in vivo* и усиленная противоопухолевая активность, характеризующаяся повышенной продукцией IFN- $\gamma$  [5].

Таким образом, актуальность работы обусловлена необходимостью исследовать методологические подходы, позволяющие модифицировать ЕК-клетки для усиления их противоопухолевых свойств и дальнейшего применения в иммунотерапии онкологических заболеваний.

## Материалы и методы исследования

**Клеточные линии.** В работе использовались следующие клеточные линии:

- К-562 – иммортализованная клеточная линия хронического миелоидного лейкоза человека;
- НЕК-293Т – иммортализованная клеточная линия эмбриональной почки человека;
- 4-1BBL-mbIL-15 – производная клеточной линии К-562, полученная путем генетической модификации и экспрессирующая полноразмерный белок 4-1BBL человека и рекомбинантную мембранно-связанную форму ИЛ-15 человека [3];
- 4-1BBL-mbIL-21 – производная клеточной линии К-562, полученная путем генетической модификации и экспрессирующая полноразмерный белок 4-1BBL человека и рекомбинантную мембранно-связанную форму ИЛ-21 человека [3].

**Культивирование клеточных линий.** Все этапы культивирования проводили в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в увлажненной атмосфере (95 %) при 5 % CO<sub>2</sub>, температуре 37 °С. Линию клеток К-562 и ее производные культивировали в ростовой среде RPMI-1640 (*Sigma-Aldrich*, США), а линию НЕК-293Т – в полной ростовой среде DMEM (*Sigma-Aldrich*) с добавлением 10 % ЭТС, 2 ммоль/л L-глутамина, смеси антибиотиков и антимикотика (*Life Technologies*, США) в обоих случаях.

**Получение рекомбинантных псевдотипированных лентивирусных частиц.** Данный этап включал несколько стадий и осуществлялся по следующей схеме.

**Котрансфекция клеток линии НЕК-293Т.** За 24 ч до котрансфекции по 2 мл суспензии клеток линии НЕК-293Т в полной ростовой среде DMEM (плотность суспензии составляла  $5 \cdot 10^5$  клеток на 1 мл) вносили в лунки 6-луночного планшета для адгезивного культивирования клеток (*Sarstedt Group*, Германия), аккуратно перемешивали и проводили инкубирование планшета. Спустя 24 ч размораживали плазмидные векторы, 2 моль/л раствор CaCl<sub>2</sub> и HBS-буфер. В стерильной пробирке типа «эппендорф» объемом 1,5 мл смешивали 0,6 мкг плазмидного вектора оболочки pMD2.G, 1 мкг пакующего плазмидного вектора pCMV\_dR8.91, 1,8 мкг трансфер-плазмиды pWPXL, 9,25 мкл 2 моль/л CaCl<sub>2</sub>, доводили объем раствора до 75 мкл на 1 лунку с помощью воды и перемешивали пипетированием. В отдельную пробирку объемом 1,5 мл наливали 75 мкл HBS-буфера. Содержимое пробирки с ДНК перемешивали и медленно по каплям, вортексируя с небольшой интенсивностью, добавляли в пробирку с HBS-буфером. Полученную смесь интенсивно перемешивали в течение 1 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 мин. Образовавшийся преципитат аккуратно перемешивали пипетированием и вносили к клеткам НЕК-293Т в количестве 150 мкл на 1 лунку, стараясь распределить его максимально равномерно по всей поверхности. Качество нанесенного на клетки преципитата оценивали с помощью инвертированного микроскопа, убеждаясь, что частицы преципитата распределены равномерно и не образуют агрегатов. После этого проводили инкубирование планшета. Через 12 ч жидкость из лунок удаляли с помощью аспиратора и вместо нее в каждую лунку по каплям вносили 1 мл среды Opti-MEM (*Thermo Fisher Scientific*, США), после чего инкубировали планшет на протяжении 48 ч.

**Сбор рекомбинантных псевдотипированных лентивирусных частиц.** Супернатант собирали в пластиковую стерильную пробирку типа «фалькон» объемом 15 мл и пропускали через фильтр с размером пор 0,45 мкм (*Carl Roth*, Германия). Эффективность котрансфекции оценивали путем анализа снятых с лунок планшета клеток на проточном цитометре Cytomics FC 500 (*Beckman Coulter*, США).

**Концентрирование рекомбинантных псевдотипированных лентивирусных частиц методом ультрацентрифугирования.** Концентрирование рекомбинантных лентивирусов проводили в толсто-стенных открытых конических полиалломерных пробирках размером 11 × 34 мм (*Beckman Coulter*), оснащенных адаптерами (*Beckman Coulter*). Стерильную пробирку доверху (13 мл) заполняли осветленным супернатантом, содержащим рекомбинантные лентивирусы, ставили в держатель ротора MLA-55 (*Beckman Coulter*) и центрифугировали в препаративной ультрацентрифуге Optima MAX-XP (*Beckman Coulter*) при температуре 4 °С и ускорении 50 000 g на протяжении 90 мин. После завершения центрифугирования отбирали 150 мкл супернатанта, а все остальное аккуратно, но как можно более полно удаляли, затем ресуспендировали осадок рекомбинантных лентивирусов (не всегда заметен) отобраным супернатантом, который разаликовали по 50 мкл в пробирку типа «эппендорф» объемом 0,2 мл.

**Определение титра рекомбинантных псевдотипированных лентивирусных частиц.** За 24 ч до трансдукции по 0,5 мл суспензии клеток линии НЕК-293Т в полной ростовой среде DMEM (плотность суспензии составляла  $1,2 \cdot 10^5$  клеток на 1 мл) вносили в лунки 24-луночного планшета для адгезивного культивирования клеток (*Sarstedt Group*), при этом две лунки являлись контрольными, а четыре лунки использовались для разведения в соотношениях 1 : 50, 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000. Далее проводили инкубирование планшета. Через 24 ч определяли количество клеток в лунках. Для этого в одной из контрольных лунок клетки переводили в суспензию, которую использовали для подсчета клеток в камере Горяева. В остальные лунки вносили анализируемый супернатант, разведенный в указанных выше соотношениях, аккуратно перемешивали и инкубировали планшет в течение 72 ч для инфицирования клеток и экспрессии вводимых при трансдукции маркерных генов. Спустя 72 ч из всех лунок удаляли среду аспиратором, после чего в каждую лунку вносили по 2 мл фосфатно-солевого буфера, ресуспендировали клетки и с помощью цитометра Cytomics FC 500 определяли эффективность трансдукции, на основании чего рассчитывали титр рекомбинантных лентивирусных частиц.

**Лентивирусная трансдукция клеток линий 4-1BBL-mbIL-21 и 4-1BBL-mbIL-15.** Клетки линий 4-1BBL-mbIL-21 и 4-1BBL-mbIL-15 вносили в лунки 24-луночного культурального планшета для суспензионных культур (*Sarstedt Group*) в 0,5 мл полной ростовой среды RPMI-1640 (плотность суспензии составляла  $1,2 \cdot 10^5$  клеток на 1 мл). Вирусные частицы, разведенные в полной ростовой среде RPMI-1640, добавляли к клеткам в количестве, необходимом для достижения желаемой множественности инфекции. Далее проводили центрифугирование при температуре 37 °C и ускорении 800 g в течение 90 мин. По окончании спинокуляции клетки культивировали 48 ч.

**Сортировка флуоресцентно-активированных клеток.** Оценку эффективности генетической модификации проводили методом проточной цитометрии на приборе Cytomics FC 500. Количество трансдуцированных клеток определяли по наличию экспрессии ИЛ-12 на поверхности клеток.

Для получения чистой популяции клеток, экспрессирующих ИЛ-12 и ИЛ-18, клетки полученных генетически модифицированных клеточных линий двукратно отмывали в фосфатно-солевом буфере, затем инкубировали с моноклональными антителами к ИЛ-12 (*Becton, Dickinson and Company*, США) в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Клетки, экспрессирующие ИЛ-12, сортировали на приборе FACSVantage SE (*Becton, Dickinson and Company*).

**Иммунофенотипическая характеристика полученных линий.** Клетки полученных генетически модифицированных клеточных линий двукратно отмывали в фосфатно-солевом буфере, затем инкубировали с соответствующими специфическими моноклональными антителами в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Использовали моноклональные антитела к ИЛ-12, меченные PE (клон REA121) (*Miltenyi Biotec*, Германия), моноклональные антитела к ИЛ-21, меченные APC (клон 3A3-N2.1) (*Becton, Dickinson and Company*), моноклональные антитела к белку 4-1BBL, меченные PE (клон C65-485) (*Becton, Dickinson and Company*). Экспрессия мембранно-связанной формы ИЛ-18 на поверхности фидерных клеток оценивалась только по уровню экспрессии мРНК. Запись проводили на приборе Cytomics FC 500. Обработку полученных результатов выполняли с использованием программы *CXP Analysis* (*Beckman Coulter*).

**Определение экспрессии трансгенов методом количественной ПЦР.** Транскрипцию генов рекомбинантных мембранно-связанных форм цитокинов ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21 и гена 4-1BBL человека оценивали методом количественной ПЦР в реальном времени. Нормализацию проводили по уровню экспрессии гена домашнего хозяйства *GUS*. При выполнении ПЦР использовали пару праймеров для каждого гена (см. таблицу) и готовую реакционную смесь SYBR Green PCR Master Mix (*Thermo Fisher Scientific*). Праймеры подбирались с помощью онлайн-сервиса *Primer-BLAST*, синтез осуществлялся на заказ (*Праймтех*, Беларусь). Метод расчета результатов – ΔCt. Материалом для анализа являлась кДНК, выделенная из материала исходной клеточной линии К-562 и ее производных 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18, 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18, полученных в результате лентивирусной трансдукции и обогащения методом сортировки флуоресцентно-активированных клеток. В качестве контроля контаминации образца кДНК геномной ДНК, содержащей экспрессионную кассету в составе провируса, использовали реакционную смесь для синтеза кДНК без обратной транскриптазы.

Праймеры для проведения ПЦР в реальном времени  
Primers for real-time PCR

Ген	Последовательность (5' → 3')
<i>CD8A</i>	F: CCTTACCAGTGACCGCCTTG R: CTCAGCAGCAGAACTCCG
<i>mIL21</i>	F: CCTTACCAGTGACCGCCTTG R: CTACATCTTCTGGAGCTGGCA

Окончание таблицы  
Ending table

Ген	Последовательность (5' → 3')
<i>mIL15</i>	F: CCTTACCAGTGACCGCCTTG R: TGCAACTGGGGTGAACATCA
<i>mIL18</i>	F: CCTTACCAGTGACCGCCTTG R: AGAGGCCGATTCCTTGGTC
<i>mIL12</i>	F: CAAGCTGTGCATCCTGCT R: CTCAGCAGCAGAACTCCG
<i>4-1BBL</i>	F: CGCGGATCCGGTCTGAAC R: CCGCTCGAGTTATTATTC
<i>GUS</i>	F: GAAAATATGTGGTTGGAGAGCTCATT R: CCGAGTGAAGATCCCCTTTTAA

Выделение РНК осуществляли с помощью набора RNeasy Mini Kit (*Qiagen*, США) в соответствии с протоколом производителя. Синтез кДНК проводили с использованием набора SuperScript III Reverse Transcriptase (*Invitrogen*, США) согласно рекомендации фирмы-изготовителя.

### Результаты и их обсуждение

**Получение генетически модифицированных фидерных клеточных линий.** Для получения новых фидерных клеточных линий была сконструирована бицистронная экспрессионная кассета на базе лентивирусного трансфер-вектора второго поколения pUltra. Карта кассеты представлена на рис. 1.

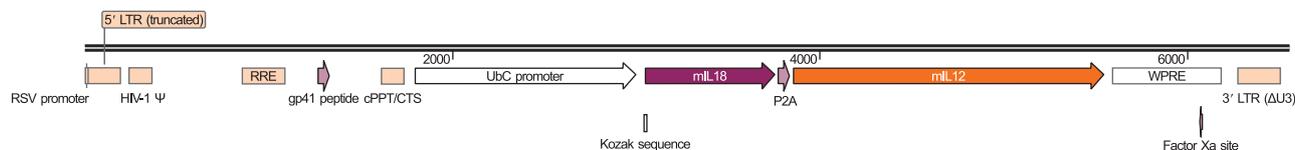


Рис. 1. Карта сконструированной бицистронной экспрессионной кассеты, кодирующей мембранно-связанные формы ИЛ-12 и ИЛ-18

Fig. 1. Map of the constructed bicistronic expression cassette encoding membrane-bound forms of IL-12 and IL-18

Нуклеотидные последовательности, кодирующие мембранно-связанные формы цитокинов человека, были сконструированы путем замены в гене *CD8A* участка, кодирующего внеклеточные домены белка *CD8A*, на последовательность нуклеотидов, которая несет информацию об аминокислотном составе зрелой формы соответствующего цитокина. Благодаря наличию в таком модифицированном гене участков, кодирующих сигнальный пептид и трансмембранный домен белка *CD8A*, белки цитокинов закрепляются на поверхности клетки, что позволяет с помощью соответствующих флуоресцентно-меченых антител обнаружить и отсортировать клетки с выраженной экспрессией вводимого гена на приборе FACS Vantage SE.

Получение генетически модифицированных фидерных клеточных линий с эктопической экспрессией рекомбинантных мембранно-связанных форм ИЛ-12 и ИЛ-18 человека осуществляли методом лентивирусной трансдукции исходных линий 4-1BBL-mbIL-21 и 4-1BBL-mbIL-15.

Экспрессия введенных трансгенов подтверждалась как на уровне мРНК методом количественной ПЦР, так и на уровне белковых продуктов методом проточной цитометрии. На рис. 2 представлена экспрессия вводимых трансгенов на уровне мРНК.

Данные количественной ПЦР подтверждают экспрессию генов рекомбинантных мембранно-связанных форм цитокинов ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-21 и гена *4-1BBL* человека для полученной линии 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18 и экспрессию генов рекомбинантных мембранно-связанных форм цитокинов ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18 и гена *4-1BBL* человека для полученной линии 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18.

На рис. 3 и 4 представлена иммунофенотипическая характеристика полученных фидерных клеточных линий 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18 и 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18 на уровне белковых продуктов мембранно-связанных форм цитокинов ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21 и гена *4-1BBL* человека.

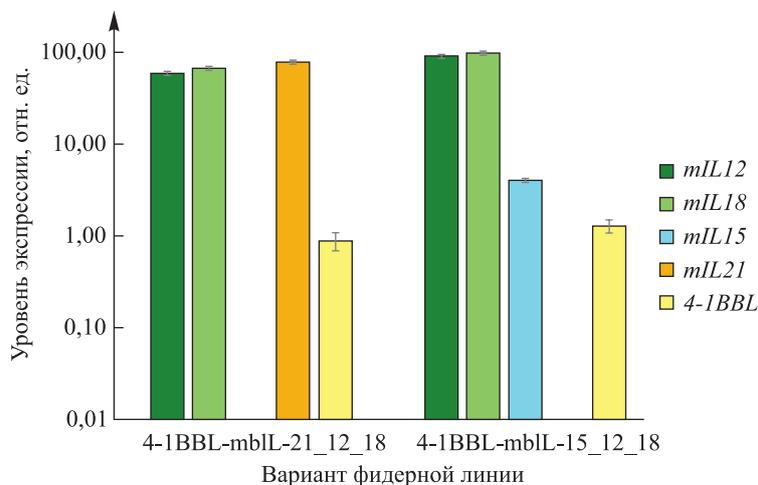


Рис. 2. Экспрессия вводимых трансгенов на уровне мРНК для полученных фидерных линий  
 Fig. 2. Expression of the introduced transgenes at the mRNA level for the obtained feeder lines

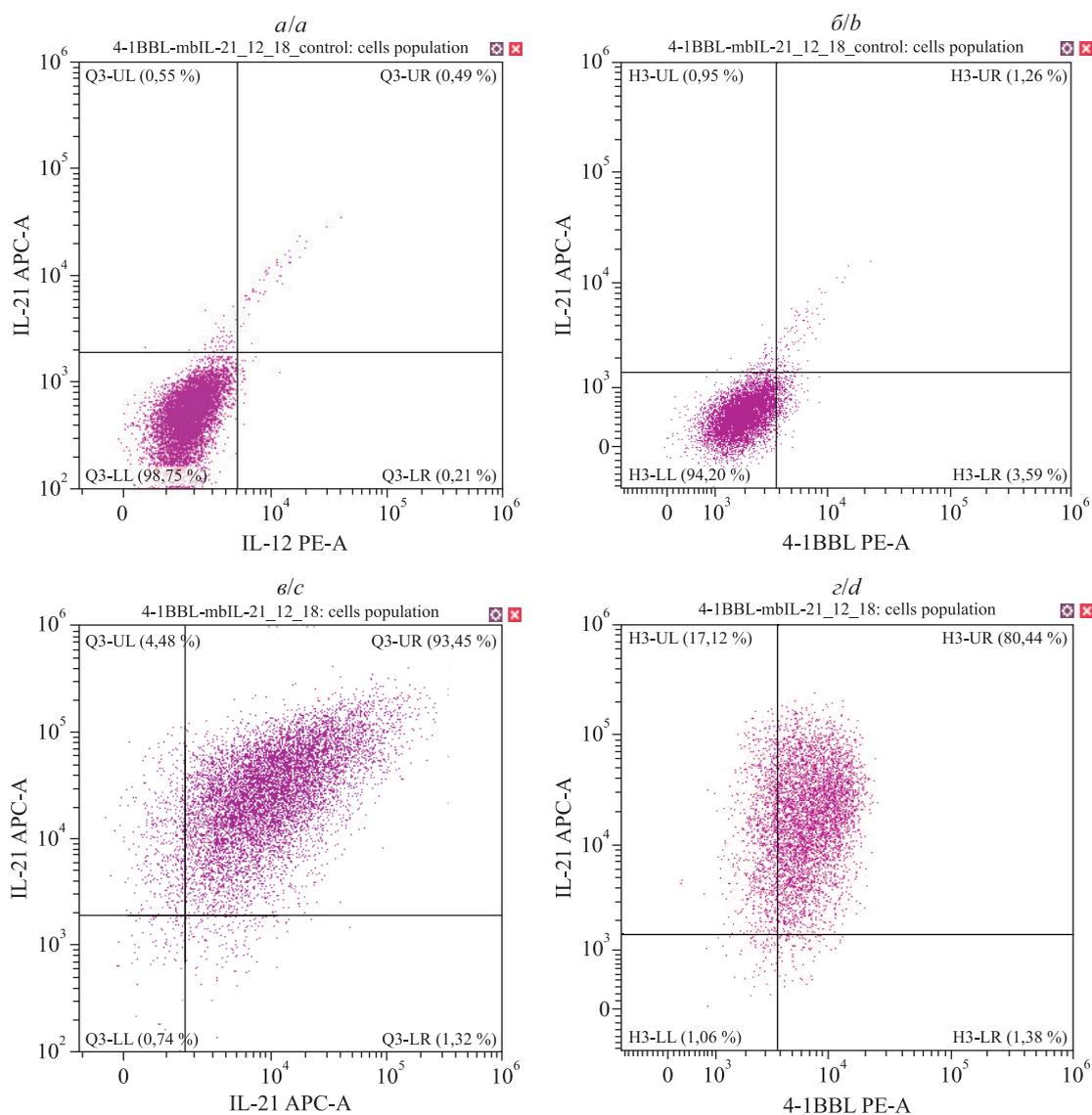


Рис. 3. Экспрессия вводимых трансгенов на уровне белковых продуктов в полученной линии 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18: a, b – без добавления моноклональных антител; в, г – с добавлением моноклональных антител

Fig. 3. Expression of the introduced transgenes at the level of protein products in the resulting line 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18: a, b – without addition of monoclonal antibodies; c, d – with addition of monoclonal antibodies

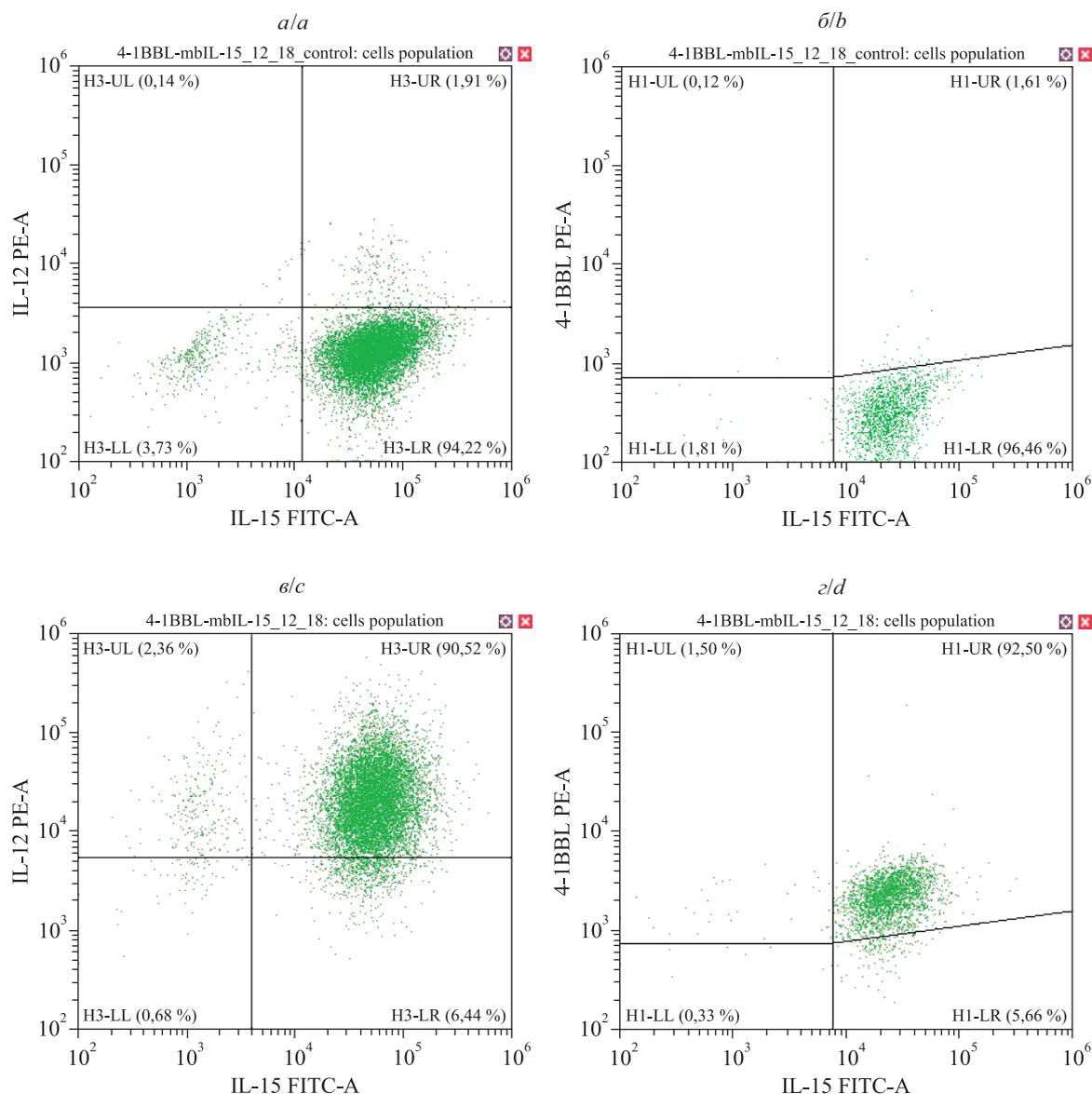


Рис. 4. Экспрессия вводимых трансгенов на уровне белковых продуктов в полученной линии 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18: а, б – без добавления моноклональных антител; в, г – с добавлением моноклональных антител

Fig. 4. Expression of the introduced transgenes at the level of protein products in the resulting line 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18: а, b – without addition of monoclonal antibodies; c, d – with addition of monoclonal antibodies

Анализ данных проточной цитофлуориметрии показал, что клетки линий 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18 и 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18 экспрессируют ген *4-1BBL* человека, а также рекомбинантные мембранно-связанные формы цитокинов ИЛ-12, ИЛ-18 и ИЛ-21 (первая линия) и ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18 (вторая линия). Эффективность экспрессии гена ИЛ-18 определяли только по уровню экспрессии мРНК. Однако гены ИЛ-12 и ИЛ-18 располагаются в одной экспрессионной кассете, поэтому исходя из наличия экспрессии ИЛ-12 можно сделать вывод и об экспрессии ИЛ-18 в полученных линиях. Таким образом, экспрессия введенных трансгенов подтверждена не только на уровне продуктов мРНК, но и на уровне белковых продуктов на поверхности клеток линий 4-1BBL-mbIL-21\_12\_18 и 4-1BBL-mbIL-15\_12\_18.

### Заключение

В ходе исследования получены две новые фидерные клеточные линии на основе клеток линии К-562 с эктопической экспрессией комбинаций цитокинов ИЛ-15, ИЛ-12, ИЛ-18 и ИЛ-21, ИЛ-12, ИЛ-18, обеспечивающие экспансию ЕК-клеток с усиленной противоопухолевой активностью для целей противоопухолевой терапии [6–9].

## Библиографические ссылки

1. Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1869. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01869.
2. Becker PSA, Suck G, Nowakowska P, Ullrich E, Seifried E, Bader P, et al. Selection and expansion of natural killer cells for NK cell-based immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2016;65(4):477–484. DOI: 10.1007/s00262-016-1792-y.
3. Вашкевич ЕП, Мигас АА, Мелешко АН, Матвеенко МА, Струшкевич НВ, Шман ТВ. Экспансия и активация естественных киллерных клеток человека *ex vivo* в присутствии трансгенных фидерных клеточных линий. *Цитология*. 2020;62(4):258–265. DOI: 10.31857/S0041377120040070.
4. Pahl JHW, Cerwenka A, Ni J. Memory-like NK cells: remembering a previous activation by cytokines and NK cell receptors. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:2796. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02796.
5. Somanchi SS, Senyukov VV, Denman CJ, Lee DA. Expansion, purification, and functional assessment of human peripheral blood NK cells. *Journal of Visualized Experiments*. 2011;48:2540. DOI: 10.3791/2540.
6. Shevtsova A. Evaluation of the effect of cytokines: IL-12, IL-18 and their combinations on the expansion, activation and functional activity of NK-cells. In: *14<sup>th</sup> Bialystok International Medical Congress for Young Scientists; 2019 May 17–18; Bialystok, Poland*. Bialystok: [s. n.]; 2019. p. 79.
7. Шевцова АС. Изменение свойств естественных киллерных клеток с помощью генно-модифицированных фидерных клеточных линий для целей противоопухолевой иммунотерапии. В: *Актуальные проблемы и перспективы развития детской гематологии-онкологии в Российской Федерации. Сборник материалов I Объединенного конгресса НОДГО и РОДО; 23–25 ноября 2020 г.; Москва, Россия*. Москва: Национальное общество детских гематологов и онкологов; 2020. с. 110.
8. Мухаметшина АС, Мигас АА, Матвеенко МА, Шман ТВ. Создание и использование генно-инженерных фидерных клеточных линий для экспансии естественных киллерных клеток с повышенной продукцией ИФН- $\gamma$ . В: Гончаров АЕ, Скоробогатова АС, Полешко АГ, Мартынова МА, Пинчук СВ, Бушмакина ИМ и др., редакторы. *Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии. Тезисы докладов Международной научной конференции; 20–21 мая 2021 г.; Минск, Беларусь*. Минск: [б. и.]; 2021. с. 36.
9. Mukhametshyna N, Lasiukov Ya, Shman T. Harnessing genetically engineered feeder cell line for *ex vivo* expansion of human natural killer cells with increased production of IFN- $\gamma$ . In: Juozaitytė E, editor. *7<sup>th</sup> Kaunas/Lithuania International Hematology/Oncology Colloquium; 2022 May 26; Kaunas, Lithuania*. [S. l.]: [s. n.]; 2022. p. 10–11.

## References

1. Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1869. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01869.
2. Becker PSA, Suck G, Nowakowska P, Ullrich E, Seifried E, Bader P, et al. Selection and expansion of natural killer cells for NK cell-based immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2016;65(4):477–484. DOI: 10.1007/s00262-016-1792-y.
3. Vashkevich EP, Migas AA, Meleshko AN, Matveyenko MA, Strushkevich NV, Shman TV. Human natural killer cells expansion and activation *ex vivo* in the presence of transgenic feeder cell lines. *Tsitologiya*. 2020;62(4):258–265. Russian. DOI: 10.31857/S0041377120040070.
4. Pahl JHW, Cerwenka A, Ni J. Memory-like NK cells: remembering a previous activation by cytokines and NK cell receptors. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:2796. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02796.
5. Somanchi SS, Senyukov VV, Denman CJ, Lee DA. Expansion, purification, and functional assessment of human peripheral blood NK cells. *Journal of Visualized Experiments*. 2011;48:2540. DOI: 10.3791/2540.
6. Shevtsova A. Evaluation of the effect of cytokines: IL-12, IL-18 and their combinations on the expansion, activation and functional activity of NK-cells. In: *14<sup>th</sup> Bialystok International Medical Congress for Young Scientists; 2019 May 17–18; Bialystok, Poland*. Bialystok: [s. n.]; 2019. p. 79.
7. Shevtsova AS. [Changing the properties of natural killer cells using genetically modified feeder cell lines for the purposes of antitumor immunotherapy]. In: *Aktual'nye problemy i perspektivy razvitiya detskoj gematologii-onkologii v Rossijskoj Federatsii. Sbornik materialov I Ob'edinennogo kongressa NODGO i RODO; 23–25 noyabrya 2020 g.; Moskva, Rossiya* [Actual problems and prospects for the development of pediatric hematology and oncology in the Russian Federation. Collection of materials of the 1<sup>st</sup> Joint congress of NODGO and RODO; 2020 November 23–25; Moscow, Russia]. Moscow: National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists; 2020. p. 110. Russian.
8. Mukhametshyna AS, Migas AA, Matveenko MA, Shman TV. [Creation and use of genetically engineered feeder cell lines for the expansion of natural killer cells with increased production of IFN- $\gamma$ ]. In: Goncharov AE, Skorobogatova AS, Poleshko AG, Martynova MA, Pinchuk SV, Bushmakina IM, et al., editors. *Sovremennye problemy kletочноi inzhenerii, immunologii i allergologii. Tezisy докладov Mezhduнародnoi nauchnoi konferentsii; 20–21 maya 2021 g.; Minsk, Belarus'* [Modern problems of cell engineering, immunology and allergology. Abstracts of the International scientific conference; 2021 May 20–21; Minsk, Belarus]. Minsk: [s. n.]; 2021. p. 36. Russian.
9. Mukhametshyna N, Lasiukov Ya, Shman T. Harnessing genetically engineered feeder cell line for *ex vivo* expansion of human natural killer cells with increased production of IFN- $\gamma$ . In: Juozaitytė E, editor. *7<sup>th</sup> Kaunas/Lithuania International Hematology/Oncology Colloquium; 2022 May 26; Kaunas, Lithuania*. [S. l.]: [s. n.]; 2022. p. 10–11.

УДК 582.28:579.26

## ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА ГРИБОВ НА РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ СУБСТРАТАХ СТАНЦИИ «ПРОГРЕСС» (ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА)

**В. В. КАРМАНОВА<sup>1)</sup>, Т. Г. ШАБАШОВА<sup>1)</sup>,  
Ю. Г. ГИГИНЯК<sup>2)</sup>, М. Г. СИНЯВСКАЯ<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup>Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

<sup>3)</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

С помощью микофлористических и молекулярно-генетических методов изучено видовое разнообразие микромицетов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс» (Восточная Антарктида). Выделены 20 видов микромицетов из 10 родов и 2 отделов (количество видов в каждой пробе варьировало от 1 до 4). Проведен таксономический анализ, определены доминирующие виды и температурозависимые особенности роста микромицетов. Установлено, что 13 из 20 выделенных видов – это анаморфы микромицетов отдела Ascomycota. Большинство обнаруженных микромицетов являются психротрофными организмами.

**Ключевые слова:** антарктические микромицеты; психротрофные организмы; станция «Прогресс»; оазис Холмы Ларсеманн; психрофилия; растительные субстраты.

---

### Образец цитирования:

Карманова ВВ, Шабашова ТГ, Гигиняк ЮГ, Синявская МГ. Особенности видового состава грибов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс» (Восточная Антарктида). *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:41–46.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-41-46>

### For citation:

Karmanova VV, Shabashova TG, Giginyak YuG, Sinyavskaya MG. Features of the species composition of fungi on plant and animal substrates of the Progress station (East Antarctica). *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:41–46. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-41-46>

---

### Авторы:

**Вероника Вадимовна Карманова** – младший научный сотрудник лаборатории микологии.

**Татьяна Гарьевна Шабашова** – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией микологии.

**Юрий Григорьевич Гигиняк** – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник сектора мониторинга и кадастра животного мира.

**Марина Георгиевна Синявская** – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией нехромосомной наследственности.

### Authors:

**Veronika V. Karmanova**, junior researcher at the laboratory of mycology.

[veronikarmanova@gmail.com](mailto:veronikarmanova@gmail.com)

**Tatyana G. Shabashova**, PhD (biology); head of the laboratory of mycology.

[tiniti@inbox.ru](mailto:tiniti@inbox.ru)

**Yury G. Giginyak**, PhD (biology); leading researcher at the sector for monitoring and cadastre of wildlife.

[antarctida\\_2010@mail.ru](mailto:antarctida_2010@mail.ru)

**Marina G. Sinyavskaya**, PhD (biology); head of the laboratory of non-chromosomal heredity.

[m.sin@inbox.ru](mailto:m.sin@inbox.ru)

## FEATURES OF THE SPECIES COMPOSITION OF FUNGI ON PLANT AND ANIMAL SUBSTRATES OF THE PROGRESS STATION (EAST ANTARCTICA)

V. V. KARMANOVA<sup>a</sup>, T. G. SHABASHOVA<sup>a</sup>, Yu. G. GIGINYAK<sup>b</sup>, M. G. SINYAVSKAYA<sup>c</sup>

<sup>a</sup>V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,  
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

<sup>b</sup>Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources,  
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

<sup>c</sup>Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus,  
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: V. V. Karmanova (veronikarmanova@gmail.com)

Mycofloristic and molecular genetic methods were used to study the species diversity of micromycetes on plant and animal substrates at the Progress station (East Antarctica). In total, 20 species of micromycetes from 10 genera and 2 phylums have been identified (the number of species in a separate sample varied from 1 to 4). A taxonomic analysis was carried out, the dominant species and temperature-dependent features of the growth of micromycetes were determined. It was revealed that 13 out of 20 identified species are anamorphs of micromycetes of the phylum Ascomycota. Most of the isolated micromycetes are psychrotolerant organisms.

**Keywords:** Antarctic micromycetes; psychrotrophic organisms; Progress station; oasis Larsemann Hills; psychrophilia; plant substrates.

### Введение

Станция «Прогресс» – российская круглогодичная антарктическая станция, расположенная в оазисе Холмы Ларсеманн на Земле Принцессы Елизаветы в Восточной Антарктиде (рис. 1). Холмы Ларсеманн представляют собой свободную от ледникового покрова область площадью 40 км<sup>2</sup>. Это самый южный прибрежный оазис и второй по величине из четырех основных свободных ото льда участков вдоль береговой линии Восточной Антарктиды, прилегающих к шельфовому леднику Эймери [1].

Относительно низкие температуры, наличие постоянных сильных северо-восточных кatabатических ветров, высокий уровень УФ-излучения, малое количество осадков (табл. 1) создают неблагоприятные условия для жизнедеятельности грибов в данном регионе. Все вышеперечисленные факторы отрицательно влияют на численность и видовое разнообразие микромицетов, способствуя отбору наиболее устойчивых популяций. Для выживания в суровых условиях Антарктиды эти устойчивые формы должны иметь крайне высокую экологическую пластичность, а также исключительные механизмы стрессоустойчивости, что позволяет рассматривать антарктические микромицеты как модель адаптации эукариотических организмов к экстремальным факторам среды.



Рис. 1. Район расположения станции «Прогресс».

Источник: [2]

Fig. 1. Location of Progress station.

Source: [2]

Таблица 1

Средние многолетние значения основных  
метеорологических показателей в районе станции «Прогресс»

Table 1

Average long-term values of the main  
meteorological indicators in the area of Progress station

Метеопараметр	Значение
Прямая радиация, ккал/см	44,0
Средняя годовая температура воздуха, °С	–9,4
Среднее годовое атмосферное давление на уровне моря, мбар	985,6
Средняя годовая скорость ветра*, м/с	6,7
Средняя годовая относительная влажность воздуха, %	53,0
Общая облачность, балл	5,7
Нижняя облачность, балл	0,8
Годовое количество осадков, мм	150,0
Число дней с метелью за год	60,0

\*Преобладающим направлением ветра является северо-северо-восточное.

Органическое вещество также выступает одним из факторов, влияющих на биологическое разнообразие микромицетов в почвах Антарктиды. Так, наличие в почвах дополнительных примесей в виде растительных и животных (преимущественно орнитогенных) остатков способствует увеличению численности и разнообразия микромицетов [3].

Наземная растительность в оазисе Холмы Ларсеманн занимает 1 % его территории. Растительный покров достаточно однообразен и представлен мхами, лишайниками и водорослями. Доминирующим компонентом флоры в окрестностях станции «Прогресс» являются лишайники (всего около 35 видов). Наиболее часто здесь встречаются виды родов *Rhizoplaca*, *Physcia*, *Buellia*, *Umbilicaria*, *Lecidea*, *Pleop-sidium*. Бриофлора представлена родами *Bryum*, *Grimmia*, *Ceratodon*, *Sarconeurum*. Также для региона описан 1 вид печеночных мхов – *Cephaloziella exiliflora* (Taylor) Douin.

На территории оазиса гнездятся южнополярные поморники (*Catharacta maccormicki* Saunders), снежные буревестники (*Pagodroma nivea* G. Forster) и качурки Вильсона (*Oceanites oceanicus* Kuhl). В летний период сюда приплывают пингвины Адели (*Pygoscelis adeliae* Hombron & Jacquinet) и императорские пингвины (*Aptenodytes forsteri* Gray) из колоний, расположенных на близлежащих островах и в окрестных заливах. На побережье обитают тюлени Уэдделла (*Leptonychotes weddelli* Lesson), иногда встречаются тюлени-крабоеды (*Lobodon carcinophagus* Hombron & Jacquinet) и морские леопарды (*Hydrurga leptonyx* Blainville). Полностью сухопутные млекопитающие в районе станции отсутствуют. Наземная микрофауна включает представителей тихоходок, коловраток, нематод и простейших.

Почвенный покров слагают энтисоли и (или) лептосоли. Оглеенные почвы практически отсутствуют. Максимальная влажность почв отмечается на глубине 10–20 см. Для почвенного покрова характерны слабокислая или нейтральная реакция среды (рН) и легкий механический состав с преобладанием песчаных фракций. Гумусовых веществ крайне мало [4].

### Материалы и методы исследования

Сбор материала для исследования осуществлялся ведущим научным сотрудником Научно-практического центра НАН Беларуси по биоресурсам Ю. Г. Гигиняком в районе станции «Прогресс» (69° 22' ю. ш., 76° 23' в. д.). Субстраты растительного происхождения представляют собой почвы с примесями мхов и лишайников, субстраты животного происхождения включают перья и кости птиц (рис. 2).

Видовая принадлежность устанавливалась с использованием микофлористических и, если возникала необходимость, молекулярно-генетических методов. При микроскопической идентификации предварительно проводился трехкратный прямой посев фрагментов субстрата на питательную среду (картофельный агар с дрожжевым экстрактом) с последующим культивированием образцов в разных температурных условиях (4; 18 и 28 °С). Использовались определители для разных групп грибов [5–8].

Выделение грибной ДНК выполнялось с помощью 5 % хелатирующей смолы Chelex (Bio-Rad, США) по стандартному протоколу [9].



Рис. 2. Изучаемые субстраты  
 Fig. 2. Studied substrates

Для проведения амплификации использовалась ПЦР-смесь (конечный объем 15 мкл) следующего состава: 2,0 мкл грибной ДНК (50–100 нг); 7,5 мкл готовой смеси ArtMix (*ArtBioTex*, Беларусь); 5,0 пмоль/мкл прямого праймера ITS1 (5'-TCCGTTAGGTGAACCTGCGG-3') (*Праймтех*, Беларусь); 5,0 пмоль/мкл обратного праймера ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (*Праймтех*); 3,5 мкл воды.

Амплификация осуществлялась в термоциклере С1000 (*Bio-Rad*) по следующей схеме: 95 °С в течение 2 мин (1 цикл), 95 °С в течение 10 с и 58 °С в течение 15 с (40 циклов), 67 °С в течение 15 с (1 цикл), 12 °С до остановки.

Разделение продуктов амплификации проводилось в 2 % агарозном геле с использованием однократного ТАЕ-буфера (окрашивание бромистым этидием). Визуализация результатов электрофореза выполнялась в системе гель-документирования Gel Doc XR (*Bio-Rad*).

Переочистка продуктов ПЦР для проведения сиквенсовой реакции осуществлялась с помощью экзонуклеазы I (Exo I) и рекомбинантной щелочной фосфатазы (rSAP) (*Thermo Fisher Scientific*, США) согласно рекомендации производителя.

Определение последовательности ДНК выполнялось по методу Сенгера. Сиквенсовая реакция проводилась с использованием набора BrilliantDye Terminator v3.1 (*NimaGen*, Нидерланды) по протоколу фирмы-производителя.

Подготовленный и высушенный фрагмент ДНК растворялся в формамиде и отдавался в Центр коллективного пользования «Геном» Института генетики и цитологии НАН Беларуси для секвенирования на генетическом анализаторе ABI 3100 (*Applied Biosystems*, США). Полученные нуклеотидные последовательности анализировались с помощью программ *FinchTV*, *Chromas*, *BLASTn*.

## Результаты и их обсуждение

В ходе анализа 24 проб растительных и животных субстратов выделены 42 изолята, относящихся к 20 видам и 10 родам (табл. 2). В каждой пробе было представлено от 1 до 4 видов микромицетов.

Таблица 2

### Видовое разнообразие микромицетов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс»

Table 2

#### Species diversity of micromycetes on plant and animal substrates of the Progress station

Вид	Порядок	Субстрат
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	Нупocreales	Почва с примесью мхов
<i>Acremonium vitis</i> Catt.	Нупocreales	Почва с примесью лишайников
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	Pleosporales	Мох
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	Eurotiales	Скелет птицы
<i>Aspergillus melleus</i> Yukawa	Eurotiales	Перья и кости снежного буревестника
<i>Aspergillus niveus</i> Blochwitz	Eurotiales	Скелет птицы, мох

Окончание табл. 2  
Ending table 2

Вид	Порядок	Субстрат
<i>Aspergillus ustus</i> (Bainier) Thom & Church	Eurotiales	Лапа пингвина Адели
<i>Aspergillus</i> sp.	Eurotiales	Перья и кости качурки Вильсона
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze: Fr.	Sordariales	Почва с примесью мхов
<i>Chaetomium spinosum</i> Chivers	Sordariales	Перья птиц, мох
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom*	Eurotiales	Смесь лишайников
<i>Penicillium expansum</i> Link	Eurotiales	Морская звезда
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	Eurotiales	Останки птиц
<i>Penicillium lanosum</i> Westling	Eurotiales	Остатки мха, перья птиц
<i>Penicillium</i> sp.	Eurotiales	Мох
<i>Phialophora cinerescens</i> (Wollenw.) J. F. H. Beuma*	Chaetothyriales	Древесина
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D. L. Lindner*	Thelebolales	Перья и кости птиц
<i>Rhizopus microsporus</i> Tiegh.	Mucorales	Почва с примесью мхов
<i>Thelebolus microsporus</i> (Berk. & Broome) Kimbr.*	Thelebolales	Перья и кости птиц
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	Hypocreales	Почва с примесью мхов

\*Молекулярная идентификация вида.

Обнаруженные микромицеты являются представителями отдела Ascomycota (за исключением вида *R. microsporus*, относящегося к отделу Mucoromycota), 13 из 19 видов которого – аскомицеты с конидиальным спороношением. Поскольку отсутствие половой стадии в жизненном цикле обуславливает меньшие метаболические затраты, то это упрощение можно рассматривать как один из механизмов адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды. Преобладание несовершенных грибов в экосистемах Антарктиды отмечается другими авторами [10; 11].

Доминирующим порядком грибов является Eurotiales (50 %), представленный родами *Aspergillus* и *Penicillium*, далее следуют порядки Hypocreales (15 %), Sordariales (10 %), Thelebolales (10 %), Chaetothyriales (5 %), Mucorales (5 %), Pleosporales (5 %).

Наибольшим количеством видов (5) в исследуемых образцах отличаются роды *Aspergillus* и *Penicillium*. Виды рода *Aspergillus* относятся к мезофильным организмам и выделяются преимущественно из субстратов животного происхождения. Представители рода *Penicillium* растут в широком диапазоне температур (от +3 до +28 °C) и встречаются как на животных, так и на растительных субстратах. Высокая частота встречаемости характерна для видов *P. pannorum* и *T. microsporus*, которые являются психрофильными организмами с температурным диапазоном роста от +4 до +15 °C.

Большая часть обнаруженных микромицетов относятся к психротрофным организмам, имеющим низкий температурный оптимум, но способным развиваться за пределами максимальных для психрофильных видов температур (+20 °C и выше). Частая встречаемость *P. pannorum* и *T. microsporus* на различных типах субстратов в Антарктиде может указывать на их индигенность. Однако большинство обнаруженных микромицетов являются космополитными видами с высокой экологической пластичностью.

На изученных субстратах преобладают светлоокрашенные микромицеты. Мицелий и споры микромицетов приобретают темный цвет благодаря синтезу и аккумуляции меланиноподобных пигментов, которые защищают клетки грибов от УФ-повреждения. Преобладание светлоокрашенных видов, вероятно, связано с тем, что растительные и животные субстраты являются благоприятной средой для развития микромицетов, выступая в качестве барьера, защищающего от неблагоприятных воздействий внешней среды, в том числе и от УФ-излучения [10].

Отмечается присутствие аллергенных и условно-патогенных микромицетов в изученных образцах. Однако патогенность данных организмов может сильно ограничиваться их психрофильностью и психротрофностью [11].

### Заключение

Таким образом, в результате исследования было выявлено, что на изученных субстратах преобладают светлоокрашенные анаморфные психротрофные микромицеты. Доминирующими по количеству

видов являются роды *Aspergillus* и *Penicillium*. Однако наибольшей частотой встречаемости характеризуются психрофильные виды *P. pannorum* и *T. microsporus*.

Чистые культуры микромицетов и пробы субстратов хранятся в гербарии Института экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси.

### Библиографические ссылки

1. Марфенина ОЕ, Никитин ДА, Иванова АЕ. Структура грибной биомассы и разнообразие культивируемых микромицетов в почвах Антарктиды (станции «Прогресс» и «Русская»). *Почвоведение*. 2016;8:991–999. DOI: 10.7868/S0032180X16080074.
2. Арктический и антарктический научно-исследовательский институт [Интернет]. Санкт-Петербург: Арктический и антарктический научно-исследовательский институт; 2021. Прогресс; [протитировано 27 августа 2022 г.]. Доступно по: [https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-\(rae\)/progress](https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-(rae)/progress).
3. Arenz BE, Held BW, Jurgens JA, Blanchette RA. Fungal colonization of exotic substrates in Antarctica. *Fungal Diversity*. 2011;49:13–22. DOI: 10.1007/s13225-010-0079-4.
4. Карманова ВВ, Шабашова ТГ, Гигиняк ЮГ. Микромицеты на субстратах растительного и животного происхождения станции «Прогресс» (Антарктида). В: Жилинский МГ, Мазарчук ДВ, Дромашко СЕ, Острейко ВД, редакторы. *Подготовка научных кадров: опыт, проблемы, перспективы. Материалы II Республиканской научно-практической конференции; 11 декабря 2020 г.; Минск, Беларусь*. Минск: ИВЦ Минфина; 2021. с 55–59.
5. Билай ВИ, Курбачкая ЗА. *Определитель токсинобразующих микромицетов*. Киев: Наукова думка; 1990. 236 с.
6. Билай ВИ, Коваль ЭЗ. *Аспергиллы*. Киев: Наукова думка; 1988. 204 с.
7. Литвинов МА. *Определитель микроскопических почвенных грибов (порядок Moniliales, за исключением подсемейства Aspergillae)*. Ленинград: Наука; 1967. 304 с.
8. Domsch KH, Gams W, Anderson T-H. *Compendium of soil fungi*. 2<sup>nd</sup> edition. Eching: IHW-Verlag; 2007. 672 p.
9. Hirata T, Takamatsu S. Nucleotide sequence diversity of rDNA internal transcribed spacers extracted from conidia and cleistothecia of several powdery mildew fungi. *Mycoscience*. 1996;37(3):283–288. DOI: 10.1007/BF02461299.
10. Никитин ДА. Экологические особенности грибов Антарктиды. *Микология и фитопатология*. 2021;55(2):79–104. DOI: 10.31857/S0026364821020070.
11. Rosa LH, editor. *Fungi of Antarctica: diversity, ecology and biotechnological applications*. Cham: Springer; 2019. 345 p. DOI: 10.1007/978-3-030-18367-7.

### References

1. Marfenina OE, Nikitin DA, Ivanova AE. [Structure of fungal biomass and diversity of cultivated micromycetes in soils of Antarctica (Progress and Russkaya stations)]. *Pochvovedenie*. 2016;8:991–999. Russian. DOI: 10.7868/S0032180X16080074.
2. Arkticheskii i antarkticheskii nauchno-issledovatel'skii institut [Arctic and Antarctic Research Institute] [Internet]. Saint Petersburg: Arctic and Antarctic Research Institute; 2021. [Progress]; [cited 2022 August 27]. Available from: [https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-\(rae\)/progress](https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-(rae)/progress). Russian.
3. Arenz BE, Held BW, Jurgens JA, Blanchette RA. Fungal colonization of exotic substrates in Antarctica. *Fungal Diversity*. 2011;49:13–22. DOI: 10.1007/s13225-010-0079-4.
4. Karmanova VV, Shabashova TG, Giginyak YuG. [Micromycetes on plant and animal substrates of Progress station (Antarctica)]. In: Zhilinskii MG, Mazarchuk DV, Dromashko SE, Ostreiko VD, editors. *Podgotovka nauchnykh kadrov: opyt, problemy, perspektivy. Materialy II Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii; 11 dekabrya 2020 g.; Minsk, Belarus'* [Training of scientific personnel: experience, problems, prospects. Materials of the 2<sup>nd</sup> Republican scientific-practical conference; 2020 December 11; Minsk, Belarus]. Minsk: Information and Computing Center of the Ministry of Finance of the Republic of Belarus; 2021. p. 55–59. Russian.
5. Bilai VI, Kurbatskaya ZA. *Opredelitel' toksinobrazuyushchikh mikromitsetov* [Key to toxin-forming micromycetes]. Kyiv: Naukova dumka; 1990. 236 p. Russian.
6. Bilai VI, Koval' EZ. *Aspergilly* [Aspergillus]. Kyiv: Naukova dumka; 1988. 204 p. Russian.
7. Litvinov MA. *Opredelitel' mikroskopicheskikh pochvennykh gribov (poryadok Moniliales, za isklyucheniem podsemeistva Aspergillae)* [Key to microscopic soil fungi (order Moniliales, excluding the subfamily Aspergillae)]. Leningrad: Nauka; 1967. 304 p. Russian.
8. Domsch KH, Gams W, Anderson T-H. *Compendium of soil fungi*. 2<sup>nd</sup> edition. Eching: IHW-Verlag; 2007. 672 p.
9. Hirata T, Takamatsu S. Nucleotide sequence diversity of rDNA internal transcribed spacers extracted from conidia and cleistothecia of several powdery mildew fungi. *Mycoscience*. 1996;37(3):283–288. DOI: 10.1007/BF02461299.
10. Nikitin DA. [Ecological features of fungi in Antarctica]. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2021;55(2):79–104. Russian. DOI: 10.31857/S0026364821020070.
11. Rosa LH, editor. *Fungi of Antarctica: diversity, ecology and biotechnological applications*. Cham: Springer; 2019. 345 p. DOI: 10.1007/978-3-030-18367-7.

Получена 26.09.2022 / исправлена 05.10.2022 / принята 07.10.2022.  
Received 26.09.2022 / revised 05.10.2022 / accepted 07.10.2022.

## ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АГАРИКОИДНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «БЕЛОВЕЖСКАЯ ПУЩА» В СБОРАХ ГЕРБАРИЯ MSK-F

А. О. АНТОНОВИЧ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Гербарий является наиболее репрезентативным хранилищем разных видов грибов, собранных в различных фитоценозах. Он дает представление о разнообразии и географическом распространении большинства таксонов микобиоты определенной территории. Списки видов, созданные на основе гербария, позволяют отслеживать динамику микологических сообществ и делать выводы о направлении развития лесного фитоценоза. В гербарии MSK-F было выявлено 283 вида базидиальных макромицетов (включая 12 разновидностей и 1 форму), произрастающих в Национальном парке «Беловежская пушча». Среди них преобладают представители порядка Agaricales: гербарий MSK-F содержит 215 видов агарикоидных базидиомицетов из 23 семейств данного порядка, составляющих основу микобиоты парка. Наиболее многочисленными по количеству видов являются семейства Russulaceae (40 видов), Cortinariaceae (30 видов), Мусепасеае (27 видов), Agaricaceae (24 вида) и Tricholomataceae (20 видов).

**Ключевые слова:** агарикоидные базидиомицеты; микобиота; заповедная территория; Национальный парк «Беловежская пушча»; видовой состав; таксономия.

**Благодарность.** Автор выражает благодарность своему научному руководителю Т. Г. Шабашовой за ценные советы при планировании исследования и рекомендации по оформлению статьи.

## TAXONOMICAL ANALYSIS OF AGARICOID BASIDIOMYCETES FROM THE NATIONAL PARK «BELOVEZHSKAYA PUSHCHA» IN MSK-F HERBARIUM COLLECTIONS

A. O. ANTONOVICH<sup>a</sup>

<sup>a</sup>V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,  
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

The herbarium is the most representative repository of various types of fungi collected in different phytocenoses, thanks to which one gets an idea of the diversity and geographical distribution of most taxa of the mycobiota of certain territory. The lists of species created on the basis of the herbarium make it possible to track the dynamics of mycological communities and draw conclusions about the direction of development of the forest phytocenosis. In the MSK-F herbarium, 283 species

### Образец цитирования:

Антонович АО. Таксономический анализ агарикоидных базидиомицетов Национального парка «Беловежская пушча» в сборах гербария MSK-F. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:47–64.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-47-64>

### For citation:

Antonovich AO. Taxonomical analysis of agaricoid basidiomycetes from the National Park «Belovezhskaya Pushcha» in MSK-F herbarium collections. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:47–64. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-47-64>

### Автор:

Анна Олеговна Антонович – младший научный сотрудник лаборатории микологии.

### Author:

Anna O. Antonovich, junior researcher at the laboratory of mycology.  
[anaria1995@mail.ru](mailto:anaria1995@mail.ru)



of basidial macromycetes (including 12 varieties and 1 form) growing in the National Park «Belovezhskaya Pushcha» were identified. The most represented by the number of species is the order Agaricales. The herbarium MSK-F contains 215 species of agaricoid basidiomycetes from 23 families belonging to this order and forming the basis of the mycobiota of park. The most numerous families in terms of the number of species are represented by the families Russulaceae (40 species), Cortinariaceae (30 species), Mycenaceae (27 species), Agaricaceae (24 species) and Tricholomataceae (20 species).

**Keywords:** agaricoid basidiomycetes; mycobiota; protected area; National Park «Belovezhskaya Pushcha»; species composition; taxonomy.

**Acknowledgements.** The author is grateful to his supervisor T. G. Shabashova for valuable advice in planning the study and recommendations on the design of the article.

## Введение

При анализе видового разнообразия любой территории или отдельно взятого фитоценоза требуется предварительное изучение гербарного материала. Гербарий MSK-F лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси берет свое начало с 1949 г. Его основа – личные сборы ржавчинных грибов сельскохозяйственных растений академика В. Ф. Купревича. В дальнейшем гербарный фонд пополнялся сборами базидиальных грибов Г. И. Сержаниной и Э. П. Комаровой.

На данный момент в гербарии MSK-F представлено более 15 000 образцов базидиальных макромицетов, включающих типовые, редкие и охраняемые виды, в том числе виды, произрастающие на охраняемых территориях.

Гербарный образец – это важнейший документ, который содержит информацию о месте (страна, область, район, локализация фитоценоза и его тип) и времени сбора грибов и позволяет проводить мониторинг как отдельных видов на определенных территориях, так и микобиоты в целом. Образцы, хранящиеся в гербариях, являются основным доказательством нахождения конкретного вида и отражают степень изученности исследуемой местности.

В рамках настоящей работы проанализировано видовое разнообразие грибов гербария MSK-F, собранных в Национальном парке «Беловежская пушча» – одном из крупнейших лесных массивов равнинной Европы, который сохранился практически нетронутым со времен прошлых геологических эпох [1]. Заповедник является территорией с реликтовыми фитоценозами и входит в Список Всемирного наследия ЮНЕСКО [2], вследствие чего лесохозяйственная деятельность здесь строго регулируется, а на некоторых участках запрещена. Это позволило сохранить высокое биологическое разнообразие, что делает парк и его компоненты удобными объектами для изучения [3; 4].

Первые сборы агарикоидных базидиомицетов для гербария MSK-F на территории белорусской части Беловежской пушчи датируются 1954 г. Основная доля имеющегося гербарного материала из парка (около 78 % от общего объема) собрана с 1960 по 1964 г., по результатам исследований опубликована обзорная статья Г. И. Сержаниной [5]. В последующие годы в изучении агарикоидных базидиомицетов Национального парка «Беловежская пушча» наступило длительное затишье, в течение которого гербарий пополнялся лишь редкими единичными экземплярами. Однако даже во время наиболее активного изучения макромицетов заповедника не приводилось полного списка образцов, внесенных в гербарный фонд, что обуславливает актуальность данной статьи.

## Материалы и методы исследования

Объектом исследования выступили гербарные образцы агарикоидных базидиомицетов, собранные на территории Национального парка «Беловежская пушча» с 1954 по 2022 г.

Определение таксономического состава было проведено на основе общепринятых сравнительно-анатомических и морфологических методик [5–14] с помощью микроскопирования [13]. Латинские названия видов приведены в соответствии с международной научной базой Index Fungorum с использованием корректных либо допустимых синонимичных названий.

## Результаты и их обсуждение

В ходе анализа гербарных образцов, сбор которых был произведен в период с 1954 по 2022 г. на территории Национального парка «Беловежская пушча», обнаружены 283 вида агарикоидных базидиомицетов, таксономический состав которых представлен в таблице.

Таксономический состав макромицетов отдела Basidiomycota класса Agaricomycetes, собранных на территории Национального парка «Беловежская пушча»

Taxonomic composition of macromycetes of the phylum Basidiomycota of the class Agaricomycetes collected in the territory of the National Park «Belovezhskaya Pushcha»

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
<b>Порядок Agaricales</b>			
Agaricaceae	<i>Agaricus campestris</i> L.	Шампиньон обыкновенный	Дубрава грабовая, сосняк разнотравный
	<i>Agaricus sylvaticus</i> Schaeff.	Шампиньон лесной	Дубрава грабово-разнотравная, ельник кислично-мшистый, ельник кисличный, сосняк мшистый
	<i>Agaricus sylvicola</i> (Vittad.) Peck	Шампиньон перелесковый	Сосняк дубово-черничный, грабняк кисличный
	<i>Apioperdon pyriforme</i> (Schaeff.) Vizzini	Дождевик грушевидный	Ельник черничный, ельник кисличный, дубрава разнотравная, дубрава кисличная, дубрава грабово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
	<i>Bovista plumbea</i> Pers.	Порховка свинцово-серая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Calvatia utriformis</i> (Bull.) Jaap	Головач мешковатый	Ельник кисличный, дубрава грабовая
	<i>Coprinus comatus</i> (O. F. Müll.) Pers.	Навозник белый	Сосняк чернично-кисличный, дубрава грабово-кисличная
	<i>Cyathus olla</i> (Batsch) Pers.	Бокальчик Олла	Ольшаник разнотравный
	<i>Cyathus striatus</i> (Huds.) Willd.	Бокальчик обыкновенный	Ельник черничный, дубрава грабовая, ольшаник разнотравный
	<i>Cystoderma amianthinum</i> (Scop.) Fayod	Цистодерма амиантовая	Сосняк чернично-мшистый, ельник черничный
	<i>Lepiota aspera</i> (Pers.) Quél.	Лепиота шероховатая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Lepiota clypeolaria</i> (Bull.) P. Kumm.	Лепиота щитковая	Дубрава грабовая
	<i>Lepiota cristata</i> (Bolton) P. Kumm.	Лепиота гребенчатая	Сосняк кислично-мшистый, грабняк сосновый, дубрава елово-кисличная, ольшаник крапивный
	<i>Lepiota erminea</i> (Fr.) P. Kumm.	Лепиота горностаевая	Дубрава грабово-разнотравная
	<i>Lepiota pallida</i> Locq.	Лепиота бледная	Дубрава злаковая
	<i>Leucoagaricus nympharum</i> (Kalchbr.) Bon	Гриб-зонтик девичий	Ельник ольхово-кисличный
	<i>Leucocybe candicans</i> (Pers.) Vizzini, P. Alvarado, G. Moreno & Consiglio	Говорушка белесая	Дубрава грабовая, дубрава грабово-кисличная, ольшаник крапивный
	<i>Leucocybe connata</i> (Schumach.) Vizzini, P. Alvarado, G. Moreno & Consiglio	Рядовка сросшаяся	Ельник кисличный, сосняк черничный

Продолжение таблицы  
 Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Agaricaceae	<i>Lycoperdon echinatum</i> Pers.	Дождевик ежевидно-колочий	Ольшаник разнотравный
	<i>Lycoperdon excipuliforme</i> (Scop.) Pers.	Головач продолговатый	Ольшаник крапивный, дубрава разнотравная
	<i>Lycoperdon molle</i> Pers.	Дождевик мягкий	Сосняк чернично-мшистый, ельник черничный
	<i>Lycoperdon perlatum</i> Pers.	Дождевик жемчужный	Ельник черничный, сосняк чернично-мшистый, сосняк мшистый, дубрава кисличная
	<i>Lycoperdon umbrinum</i> Pers.	Дождевик умбровый	Дубрава разнотравная
	<i>Macrolepiota procera</i> (Scop.) Singer	Гриб-зонтик пестрый	Дубрава разнотравная, дубрава кисличная, сосняк чернично-мшистый
Amanitaceae	<i>Amanita aspera</i> (Fr.) Gray	Мухомор шероховатый	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Amanita crocea</i> (Quél.) Singer	Поплавок шафранный	Сосняк черничный, сосняк чернично-мшистый
	<i>Amanita fulva</i> Fr.	Поплавок желто-коричневый	Дубрава разнотравная, сосняк чернично-мшистый
	<i>Amanita gemmata</i> (Fr.) Bertill.	Мухомор ярко-желтый	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Amanita muscaria</i> (L.) Lam.	Мухомор красный	Сосняк чернично-мшистый, сосняк мшистый, дубрава грабовая, ельник кисличный, дубрава разнотравная
	<i>Amanita pantherina</i> var. <i>abietum</i> (E.-J. Gilbert) Veselý	Мухомор пантерный, разновидность еловая	Сосняк чернично-мшистый, ольшаник разнотравный
	<i>Amanita phalloides</i> (Vaill. ex Fr.) Link	Мухомор зеленый (бледная поганка)	Дубрава грабово-разнотравная, сосняк мшистый
	<i>Amanita porphyria</i> Alb. & Schwein.	Мухомор порфиновый	Дубрава грабово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
	<i>Limacella delicata</i> (Fr.) Earle ex Konrad & Maubl.	Лимацелла нежная	Сосняк мшистый
	<i>Zhuliangomyces illinitus</i> (Fr.) Redhead	Лимацелла масляная	Дубрава елово-кисличная
Bolbitiaceae	<i>Conocybe tenera</i> (Schaeff.) Fayod	Коноцибе нежная	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Panaeolus foeniseii</i> (Pers.) J. Schröt.	Навозник сенный	Дубрава грабовая
	<i>Panaeolus papilionaceus</i> (Bull.) Quél.	Панеолус мотыльковый	Дубрава грабово-кисличная, сосняк кислично-черничный
	<i>Panaeolus papilionaceus</i> var. <i>papilionaceus</i> (Bull.) Quél.	Панеолус мотыльковый, разновидность мотыльковая	Ельник кисличный

Продолжение таблицы  
Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Cortinariaceae	<i>Cortinarius acutus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник острый	Дубрава грабово-черничная
	<i>Cortinarius alboviolaceus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник бело-фиолетовый	Сосняк чернично-кисличный
	<i>Cortinarius anomalus</i> (Fr.) Fr.	Паутинник аномальный	Грабняк кисличный
	<i>Cortinarius anthracinus</i> Fr.	Паутинник рубиновый	Сосняк кислично-мшистый
	<i>Cortinarius argentatus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник серебристый	Сосняк вересковый
	<i>Cortinarius bolaris</i> (Pers.) Fr.	Паутинник ленивый	Дубрава чернично-мшистая
	<i>Cortinarius camphoratus</i> (Fr.) Fr.	Паутинник камфорный	Сосняк дубово-черничный, сосняк чернично-мшистый
	<i>Cortinarius cinnamomeus</i> (L.) Gray	Паутинник коричный	Сосняк чернично-мшистый, дубрава разнотравная
	<i>Cortinarius collinitus</i> (Sowerby) Gray	Паутинник пачкающий	Дубрава чернично-мшистая
	<i>Cortinarius delibutus</i> Fr.	Паутинник намазанный	Ельник кислично-мшистый, ельник черничный
	<i>Cortinarius esculentus</i> Lebedeva	Паутинник съедобный	Сосняк мшистый
	<i>Cortinarius gentilis</i> (Fr.) Fr.	Паутинник благородный	Ельник кислично-мшистый
	<i>Cortinarius incisus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник надрезанный	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Cortinarius infractus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник надломленный	Сосняк черничный
	<i>Cortinarius leucopus</i> (Bull.) Fr.	Паутинник белоножковый	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Cortinarius livor</i> Fr.	Паутинник синеющий	Дубрава грабовая
	<i>Cortinarius mucosus</i> (Bull.) J. Kickx f.	Паутинник слизистый	Дубрава грабово-кисличная, ельник кислично-мшистый, сосняк чернично-мшистый
	<i>Cortinarius ochroleucus</i> (Schaeff.) Fr.	Паутинник охряно-белый	Дубрава елово-кисличная
	<i>Cortinarius porphyropus</i> (Alb. & Schwein.) Fr.	Паутинник порфириножковый	Сосняк мшистый
	<i>Cortinarius sanguineus</i> (Wulfen) Gray	Паутинник кроваво-красный	Дубрава елово-кисличная
	<i>Cortinarius semisanguineus</i> (Fr.) Gillet	Паутинник краснопластинковый	Сосняк мшисто-черничный
	<i>Cortinarius subferrugineus</i> (Batsch) Fr.	Паутинник ржаво-бурый	Сосняк мшистый
	<i>Cortinarius torvus</i> (Fr.) Fr.	Паутинник мрачный	Дубрава елово-кисличная
<i>Cortinarius traganus</i> (Fr.) Fr.	Паутинник козлиный	Сосняк чернично-мшистый	

Продолжение таблицы  
 Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Cortinariaceae	<i>Cortinarius trivialis</i> J. E. Lange	Паутинник обыкновенный	Сосняк чернично-мшистый, ельник чернично-мшистый, дубрава елово-кисличная
	<i>Cortinarius turgidus</i> Fr.	Паутинник вздутый	Сосняк чернично-кисличный
	<i>Cortinarius uraceus</i> Fr.	Паутинник обожженный	Дубрава кисличная
	<i>Cortinarius variegatus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник разноцветный	Дубрава черничная
	<i>Cortinarius violaceo- cinereus</i> (Pers.) Fr.	Паутинник фиолетово-серый	Сосняк чернично-мшистый, ельник чернично-мшистый, дубрава елово-кисличная
	<i>Cortinarius violaceus</i> (L.) Gray	Паутинник фиолетовый	Ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый, сосняк мшистый
Crepidotaceae	<i>Simocybe haustellaris</i> (Fr.) Watling	Симоцибе звездчатая	Ольшаник крапивный
Entolomataceae	<i>Clitopilus prunulus</i> (Scop.) P. Kumm.	Подвишенник	Сосняк дубово-черничный
	<i>Entoloma clandestinum</i> (Fr.) Noordel.	Энтолома скрытая	Дубрава грабовая
	<i>Entoloma clypeatum</i> (L.) P. Kumm.	Энтолома садовая	Дубрава грабовая
	<i>Entoloma placidum</i> (Fr.) Noordel.	Энтолома безмятежная	Ольшаник крапивный
	<i>Entoloma prunuloides</i> (Fr.) Quél.	Энтолома подвишенная	Сосняк кислично-мшистый, дубрава грабовая, сосняк черничный, сосняк мшистый
	<i>Entoloma rhodopolium</i> (Fr.) P. Kumm.	Энтолома продавленная	Сосняк чернично-мшистый, дубрава кисличная
	<i>Entoloma sericeum</i> Quél.	Энтолома шелковистая	Сосняк чернично-мшистый, сосняк чернично-кисличный, дубрава грабовая, дубрава грабово-кисличная
	<i>Entoloma sinuatum</i> (Bull.) P. Kumm.	Энтолома ядовитая	Сосняк чернично-мшистый, дубрава грабовая
	<i>Entoloma sphagnum</i> (Romagn. & J. Favre) Bon & Courtec.	Энтолома мохолюбивая	Ельник чернично-мшистый
Hydnangiaceae	<i>Laccaria amethystina</i> Cooke	Лаковица аметистовая	Дубрава грабово-разнотравная
	<i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Cooke	Лаковица лаковая	Дубрава кисличная
Hygrophoraceae	<i>Ampulloclitocybe clavipes</i> (Pers.) Redhead, Lutzoni, Moncalvo & Vilgalys	Говорушка булавоногая	Сосняк лишайниково-мшистый
	<i>Arrhenia epichysium</i> (Pers.) Redhead, Lutzoni, Moncalvo & Vilgalys	Аррения кубковидная	Ольшаник крапивный

Продолжение таблицы  
Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Hygrophoraceae	<i>Cuphophyllus virgineus</i> (Wulfen) Kovalenko	Гигрофор девичий	Сосняк чернично-мшистый, дубрава чернично-мшистая
	<i>Hygrocybe coccinea</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Гигроцибе алая	Сосняк мшистый
	<i>Hygrocybe conica</i> var. <i>conica</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Гигроцибе коническая, разновидность коническая	Сосняк чернично-мшистый, дубрава кисличная
	<i>Hygrophorus agathosmus</i> (Fr.) Fr.	Гигрофор душистый	Ольшаник мшистый
	<i>Hygrophorus eburneus</i> (Bull.) Fr.	Гигрофор желтовато-белый	Сосняк кислично-черничный, грабняк кисличный
	<i>Hygrophorus nemoreus</i> (Pers.) Fr.	Гигрофор дубравный	Дубрава грабово-черничная, дубрава елово-кисличная
	<i>Hygrophorus persoonii</i> Arnolds	Гигрофор Персона	Дубрава грабовая
	<i>Hygrophorus pustulatus</i> (Pers.) Fr.	Гигрофор пятнистый	Ельник кислично-мшистый
	<i>Lichenomphalia umbellifera</i> (L.) Redhead, Lutzoni, Moncalvo & Vilgalys	Омфалина зонтичная	Ольшаник орляковый
Hygrophoropsidaceae	<i>Hygrophoropsis aurantiaca</i> (Wulfen) Maire	Ложная лисичка	Сосняк орляково-чернично-мшистый
Hymenogastraceae	<i>Galerina hypnorum</i> (Schrank) Kühner	Галерина моховая	Ольшаник разнотравный
	<i>Galerina marginata</i> (Batsch) Kühner	Галерина окаймленная	Сосняк чернично-кисличный
	<i>Galerina triscopa</i> (Fr.) Kühner	Галерина трехликая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Gymnopilus sapineus</i> (Fr.) Murrill	Гимнопил сосновый	Дубрава кисличная
	<i>Hebeloma crustuliniforme</i> (Bull.) Quél.	Гебелома клейкая	Сосняк чернично-мшистый, ельник чернично-мшистый, дубрава чернично-мшистая
	<i>Hebeloma helodes</i> J. Favre	Гебелома болотная	Грабняк кисличный
	<i>Hebeloma pusillum</i> J. E. Lange	Гебелома малюсенькая	Дубрава грабовая
	<i>Naucoria escharioides</i> (Fr.) P. Kumm.	Наукория струповидная	Ольшаник крапивный
	<i>Naucoria scolecina</i> (Fr.) Quél.	Наукория червивая	Ольшаник крапивный
<i>Naucoria spadicea</i> D. A. Reid	Наукория красновато-коричневая	Ольшаник крапивный	
Inocybaceae	<i>Inocybe asterospora</i> Quél.	Волоконница звездчатоспоровая	Дубрава грабовая
	<i>Inocybe cincinnata</i> (Fr.) Quél.	Волоконница кудрявая	Дубрава грабово-черничная
	<i>Inocybe corydalina</i> Quél.	Волоконница зеленая	Сосняк мшистый

Продолжение таблицы  
 Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Inocybaceae	<i>Inocybe decipiens</i> Bres.	Волоконница изменчивая	Ольшаник орляковый
	<i>Inocybe flocculosa</i> Sacc.	Волоконница клочковатая	Дубрава грабовая
	<i>Inocybe geophylla</i> (Bull.) P. Kumm.	Волоконница земляная	Ольшаник крапивный, сосняк черничный, дубрава чернично-мшистая
	<i>Inocybe godeyi</i> Gillet	Волоконница Годейя	Дубрава грабовая
	<i>Inocybe rimosa</i> (Bull.) P. Kumm.	Волоконница трещиноватая	Ольшаник крапивный, сосняк черничный, ельник кислично-мшистый
	<i>Inocybe sindonia</i> (Fr.) P. Karst.	Волоконница кисейная	Дубрава грабовая, дубрава елово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
	<i>Inocybe subcarpta</i> Kühner & Boursier	Волоконница приподнятая	Дубрава елово-кисличная
Lyophyllaceae	<i>Hypsizygos ulmarius</i> (Bull.) Redhead	Лиофиллум ильмовый	Грабняк кисличный
	<i>Lyophyllum fumatofoetens</i> Secr. ex Jul. Schäff.	Лиофиллум коричневато-серый	Ельник кисличный, дубрава кисличная
Macrocytidiaceae	<i>Macrocytidia cucumis</i> (Pers.) Joss.	Макроцистидия огуречная	Дубрава грабово-кисличная
Marasmiaceae	<i>Crinipellis scabella</i> (Alb. & Schwein.) Murrill	Кринипеллис шероховатый	Дубрава грабовая
	<i>Gerronema albidum</i> (Fr.) Singer	Герронема белоножковая	Сосняк можжевельново-мшистый
	<i>Marasmius chordalis</i> Fr.	Негниючник волнистый	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Marasmius epiphyllodes</i> (Rea) Sacc. & Trotter	Негниючник листволюбивый	Дубрава грабово-черничная
	<i>Marasmius epiphyllus</i> (Pers.) Fr.	Негниючник листовой	Дубрава грабовая, дубрава грабово-кисличная, сосняк мшистый
	<i>Marasmius oreades</i> (Bolton) Fr.	Опенек луговой	Ельник мшистый, дубрава грабовая
Mycenaceae	<i>Hydropus paradoxus</i> M. M. Moser	Гидропус парадоксальный	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena aetites</i> (Fr.) Quél.	Мицена зрелая	Ельник кислично-мшистый
	<i>Mycena alcalina</i> (Fr.) P. Kumm.	Мицена щелочная	Дубрава грабовая
	<i>Mycena citrinella</i> (Pers.) P. Kumm.	Мицена лимонно-желтая	Ольшаник разнотравный
	<i>Mycena clavicularis</i> (Fr.) Gillet	Мицена булавчатая	Ельник черничный
	<i>Mycena epipterygia</i> var. <i>epipterygia</i> (Scop.) Gray	Мицена слизистая, разновидность слизистая	Дубрава грабовая, ольшаник крапивный

Продолжение таблицы  
Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Mycenaceae	<i>Mycena epipterygioides</i> A. Pearson	Мицена слизистоватая	Ельник чернично-кисличный, сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena excisa</i> (Lasch) P. Kumm.	Мицена выемчатая	Дубрава грабовая
	<i>Mycena filopes</i> (Bull.) P. Kumm.	Мицена нитеножковая	Дубрава грабовая
	<i>Mycena galericulata</i> (Scop.) Gray	Мицена колпаковидная	Ольшаник мертвопокровный, сосняк орляково-чернично- мшистый
	<i>Mycena galopus</i> (Pers.) P. Kumm.	Мицена молочная	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena galopus</i> var. <i>galopus</i> (Pers.) P. Kumm.	Мицена молочная, разновидность молочная	Сосняк чернично-кисличный
	<i>Mycena galopus</i> var. <i>nigra</i> Rea	Мицена молочная, разновидность черная	Дубрава грабовая
	<i>Mycena inclinata</i> (Fr.) Quél.	Мицена наклоненная	Дубрава грабовая
	<i>Mycena maculata</i> P. Karst.	Мицена пятнистая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena pelianthina</i> (Fr.) Quél.	Мицена багровоцветная	Ольшаник разнотравный
	<i>Mycena pura</i> (Pers.) P. Kumm.	Мицена чистая	Ольшаник крапивный
	<i>Mycena rosea</i> Gramberg	Мицена розовая	Сосняк мшистый, сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena rosella</i> (Fr.) P. Kumm.	Мицена розоватая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena sanguinolenta</i> (Alb. & Schwein.) P. Kumm.	Мицена кровоточащая	Дубрава грабовая, сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena strobilicola</i> J. Favre & Kühner	Мицена шишколюбивая	Сосняк мшистый
	<i>Mycena urania</i> (Fr.) Quél.	Мицена урановая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena vitilis</i> (Fr.) Quél.	Мицена плетеная	Дубрава грабовая, ельник чернично-мшистый
	<i>Mycena vitrea</i> (Fr.) Quél.	Мицена хрупкая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Mycena zephrus</i> (Fr.) P. Kumm.	Мицена зефировая	Дубрава грабовая
	<i>Panellus stipticus</i> (Bull.) P. Karst.	Панеллус вяжущий	Ольшаник хвощево-мшистый
<i>Xeromphalina campanella</i> (Batsch) Kühner & Maire	Ксеромфалина колокольчатая	Дубрава грабовая, ельник кисличный, грабняк разнотравный, ольшаник разнотравный	
Omphalotaceae	<i>Collybia distorta</i> (Fr.) Quél.	Коллибия изогнутая	Ельник кисличный
	<i>Collybia dryophila</i> (Bull.) P. Kumm.	Коллибия лесолюбивая	Ольшаник разнотравный

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Omphalotaceae	<i>Collybia dryophila</i> var. <i>aquosa</i> (Bull.) Quél.	Коллибия лесолюбивая, разновидность водянистая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Collybia fusipes</i> (Bull.) Quél.	Коллибия веретеноногая	Сосняк орляково-чернично-мшистый
	<i>Collybia peronata</i> (Bolton) P. Kumm.	Коллибия обернутая	Ольшаник разнотравный
	<i>Gymnopus hariolorum</i> (Bull.) Antonín, Halling & Noordel.	Гимнопус опушенноножковый	Ольшаник крапивный, дубрава грабово-разнотравная
	<i>Marasmiellus confluens</i> (Pers.) J. S. Oliveira	Негниючник срастающийся	Дубрава грабовая, дубрава грабово-кисличная, грабняк кисличный
	<i>Marasmius androsaceus</i> (L.) Fr.	Негниючник тычинковый	Сосняк мшистый
	<i>Marasmius scorodonius</i> (Fr.) Fr.	Чесночник обыкновенный	Ельник чернично-мшистый
	<i>Rhodocollybia butyracea</i> (Bull.) Lennox	Коллибия масляная	Дубрава грабовая
	<i>Rhodocollybia maculata</i> (Alb. & Schwein.) Singer	Коллибия пятнистая	Ельник мшистый
Physalacriaceae	<i>Armillaria borealis</i> Marxm. & Korhonen	Опенок северный	Сосняк мшистый
	<i>Strobilurus esculentus</i> (Wulfen) Singer	Стробилурус съедобный	Сосняк мшистый, сосняк чернично-кисличный
Pleurotaceae	<i>Hohenbuehelia serotina</i> (Pers.) Singer	Вешенка осенняя	Ольшаник крапивный, дубрава разнотравная
	<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paulet) Rolland	Вешенка рожковидная	Ельник черничный, ольшаник разнотравный, сосняк чернично-мшистый
	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	Вешенка устричная	Грабняк кисличный, дубрава разнотравная, ольшаник крапивный
	<i>Pleurotus ostreatus</i> f. <i>pulmonarius</i> (Fr.) Pilát	Вешенка устричная, форма легочная	Дубрава грабово-кисличная
Pluteaceae	<i>Pluteus cervinus</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Плютей олений	Грабняк разнотравный
	<i>Pluteus chrysophaeus</i> (Schaeff.) Quél.	Плютей золотисто-окрашенный	Ольшаник крапивный, грабняк разнотравный
	<i>Pluteus hispidulus</i> (Fr.) Gillet	Плютей шероховатенький	Дубрава грабовая
	<i>Pluteus leoninus</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Плютей львино-желтый	Сосняк чернично-мшистый, дубрава черничная, ольшаник разнотравный
	<i>Volvariella taylorii</i> (Berk. & Broome) Singer	Вольвариелла Тейлора	Дубрава елово-кисличная

Продолжение таблицы  
Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Psathyrellaceae	<i>Coprinellus domesticus</i> (Bolton) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	Навозник домашний	Ольшаник крапивный
	<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	Навозник мерцающий	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Coprinellus xanthothrix</i> (Romagn.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	Навозник золотистый	Ольшаник крапивный
	<i>Coprinopsis atramentaria</i> (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo	Навозник серый	Ольшаник разнотравный, дубрава грабово-кисличная
	<i>Psathyrella candolleana</i> (Fr.) Maire	Псатирелла Кандолля	Дубрава грабовая
	<i>Psathyrella corrugis</i> (Pers.) Konrad & Maubl.	Псатирелла морщинистая	Дубрава грабовая
	<i>Psathyrella microrhiza</i> (Lasch) Konrad & Maubl.	Псатирелла полупокрытая	Ольшаник крапивный
	<i>Psathyrella piluliformis</i> (Bull.) P. D. Orton	Псатирелла водолубивая	Дубрава грабовая
	<i>Psathyrella spadicea</i> (P. Kumm.) Singer	Псатирелла каштановая	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Lacrymaria lacrymabunda</i> (Bull.) Pat.	Лакримария бархатистая	Дубрава грабово-черничная
Strophariaceae	<i>Agrocybe praecox</i> (Pers.) Fayod	Агроцибе ранняя	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Hypholoma capnoides</i> (Fr.) P. Kumm.	Ложноопенок серопластинчатый	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Hypholoma fasciculare</i> (Huds.) P. Kumm.	Ложноопенок серно-желтый	Дубрава грабовая, сосняк чернично-мшистый, ельник кисличный
	<i>Hypholoma lateritium</i> (Schaeff.) P. Kumm.	Ложноопенок кирпично-красный	Сосняк чернично-мшистый, дубрава грабово-кисличная, сосняк мшистый
	<i>Hypholoma polytrichi</i> (Fr.) Ricken	Ложноопенок моховой	Сосняк чернично-мшистый, дубрава грабовая
	<i>Kuehneromyces mutabilis</i> (Schaeff.) Singer & A. H. Sm.	Опенок летний	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Pholiota aurivella</i> (Batsch) P. Kumm.	Чешуйчатка золотистая	Ольшаник крапивный, сосняк разнотравный
	<i>Pholiota carbonaria</i> (Fr.) Singer	Чешуйчатка углелубивая	Ельник кислично-черничный
	<i>Pholiota decussata</i> (Fr.) M. M. Moser	Чешуйчатка разрушающая	Ольшаник орляковый, ельник кислично-черничный
	<i>Pholiota flammans</i> (Batsch) P. Kumm.	Чешуйчатка огненная	Ельник кисличный
<i>Pholiota lenta</i> (Pers.) Singer	Чешуйчатка клейкая	Дубрава грабово-кисличная	

Продолжение таблицы  
 Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Strophariaceae	<i>Pholiota squarrosa</i> (Vahl) P. Kumm.	Чешуйчатка обыкновенная	Дубрава разнотравная, сосняк черничный
	<i>Protostropharia semiglobata</i> (Batsch) Redhead, Moncalvo & Vilgalys	Строфария полушаровидная	Ельник чернично-мшистый
	<i>Stropharia hornemannii</i> (Fr.) S. Lundell & Nannf.	Строфария Хорнеманна	Сосняк мшистый
Tricholomataceae	<i>Clitocybe diatreta</i> (Fr.) P. Kumm.	Говорушка просвечивающая	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Clitocybe nebularis</i> (Batsch) P. Kumm.	Говорушка дымчатая	Ельник чернично-мшистый, сосняк чернично-мшистый, грабняк кисличный
	<i>Clitocybe obsoleta</i> (Batsch) Quél.	Говорушка испачканная	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Clitocybe odora</i> (Bull.) P. Kumm.	Говорушка пахучая	Дубрава грабовая
	<i>Clitocybe phyllophila</i> (Pers.) P. Kumm.	Говорушка листволюбивая	Сосняк дубово-черничный
	<i>Clitocybe squamulosa</i> (Pers.) P. Kumm.	Говорушка мелкочешуйчатая	Сосняк можжевельново-мшистый
	<i>Collybia cirrhata</i> (Schumach.) Quél.	Коллибия усиковая	Дубрава грабовая, ольшаник орляковый
	<i>Infundibulicybe geotropa</i> (Bull.) Harmaja	Говорушка подогнутая	Ольшаник крапивный
	<i>Infundibulicybe gibba</i> (Pers.) Harmaja	Говорушка ворончатая	Дубрава грабовая, ольшаник разнотравный
	<i>Lepista nuda</i> (Bull.) Cooke	Рядовка фиолетовая	Грабняк кисличный, сосняк чернично-мшистый
	<i>Melanoleuca melaleuca</i> (Pers.) Murrill	Меланолеука черно-белая	Ольшаник разнотравный
	<i>Мухомphalia maura</i> (Fr.) H. E. Bigelow	Миксомфалия гаревая	Дубрава грабовая
	<i>Paralepista flaccida</i> (Sowerby) Vizzini	Говорушка перевернутая	Ольшаник крапивный
	<i>Tricholoma focale</i> (Fr.) Ricken	Рядовка опенковидная	Сосняк лишайниково-мшистый
	<i>Tricholoma pessundatum</i> (Fr.) Quél.	Рядовка пятнистая	Сосняк мшистый
	<i>Tricholoma portentosum</i> (Fr.) Quél.	Рядовка серая	Сосняк мшистый, дубрава грабово-кисличная
	<i>Tricholoma saponaceum</i> var. <i>saponaceum</i> (Fr.) P. Kumm.	Рядовка мыльная, разновидность мыльная	Сосняк мшистый
	<i>Tricholoma sudum</i> (Fr.) Quél.	Рядовка сухая	Сосняк лишайниково-мшистый
	<i>Tricholoma sulphureum</i> (Bull.) P. Kumm.	Рядовка серная	Сосняк мшистый
	<i>Tricholoma sulphureum</i> var. <i>sulphureum</i> (Bull.) P. Kumm.	Рядовка серная, разновидность серная	Дубрава грабовая

Продолжение таблицы  
Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Tubariaceae	<i>Tubaria conspersa</i> (Pers.) Fayod	Тубария обсыпанная	Ольшаник крапивный
<b>Порядок Boletales</b>			
Boletaceae	<i>Boletus betulicola</i> (Vassilkov) Pilát & Dermek	Боровик березовый	Сосняк мшистый
	<i>Boletus edulis</i> Bull.	Белый гриб	Дубрава грабово-кисличная, сосняк мшистый
	<i>Chalciporus piperatus</i> (Bull.) Bataille	Масленок перечный	Дубрава грабово-кисличная
	<i>Imleria badia</i> (Fr.) Vizzini	Польский гриб	Дубрава грабовая, дубрава грабово-черничная, сосняк мшистый, сосняк чернично-мшистый, сосняк орляково-чернично-мшистый
	<i>Leccinellum griseum</i> (Quél.) Bresinsky & Manfr. Binder	Грабовик	Дубрава чернично-мшистая, дубрава черничная
	<i>Leccinum aurantiacum</i> (Bull.) Gray	Подосиновик красный	Дубрава грабовая
	<i>Leccinum scabrum</i> (Bull.) Gray	Подберезовик обыкновенный	Сосняк черничный
	<i>Tylopilus felleus</i> (Bull.) P. Karst.	Желчный гриб	Сосняк мшистый
	<i>Xerocomus chrysenteron</i> (Bull.) Quél.	Моховик трещиноватый	Дубрава грабово-кисличная, сосняк чернично-мшистый
	<i>Xerocomus subtomentosus</i> (L.) Quél.	Моховик зеленый	Дубрава грабово-черничная
Gomphidiaceae	<i>Gomphidius glutinosus</i> (Schaeff.) Fr.	Мокруха еловая	Сосняк мшистый, ельник кислично-мшистый
	<i>Gomphidius roseus</i> (Fr.) Fr.	Мокруха розовая	Дубрава грабовая
Paxillaceae	<i>Paxillus involutus</i> (Batsch) Fr.	Свинушка тонкая	Сосняк можжевельново-мшистый, дубрава грабовая, ольшаник разнотравный, сосняк чернично-мшистый
	<i>Paxillus rubicundulus</i> P. D. Orton	Свинушка ольховая	Ольшаник мшистый
Sclerodermataceae	<i>Scleroderma citrinum</i> Pers.	Ложнодождевик обыкновенный	Дубрава кисличная, дубрава разнотравная, сосняк мшистый
	<i>Scleroderma verrucosum</i> (Bull.) Pers.	Ложнодождевик бородавчатый	Ельник кисличный
Suillaceae	<i>Suillus granulatus</i> (L.) Roussel	Масленок зернистый	Дубрава грабовая
	<i>Suillus luteus</i> (L.) Roussel	Масленок обыкновенный	Сосняк чернично-мшистый, дубрава грабовая
Tapinellaceae	<i>Tapinella atrotomentosa</i> (Batsch) Šutara	Свинушка толстая	Ельник кисличный

Продолжение таблицы  
 Continuation of the table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
<b>Порядок Cantharellales</b>			
Hydnaceae	<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	Лисичка обыкновенная	Ельник кисличный, дубрава кисличная
	<i>Cantharellus friesii</i> Quéł.	Лисичка бархатистая	Сосняк черничный
	<i>Craterellus cornucopioides</i> (L.) Pers.	Ворончик рожковидный	Дубрава грабово-разнотравная, ельник мшистый, сосняк чернично-мшистый
	<i>Hydnum repandum</i> L.	Ежовик желтый	Сосняк мшистый
<b>Порядок Geastrales</b>			
Geastraceae	<i>Geastrum quadrifidum</i> DC.	Земляная звезда четырехлопастная	Ольшаник разнотравный
	<i>Geastrum triplex</i> Jungh.	Земляная звезда тройная	Дубрава грабово-кисличная
<b>Порядок Hymenochaetales</b>			
Rickenellaceae	<i>Rickenella fibula</i> (Bull.) Raithelh.	Рикенелла оранжевая	Дубрава грабовая
<b>Порядок Russulales</b>			
Auriscalpiaceae	<i>Lentinellus cochleatus</i> (Pers.) P. Karst.	Лентинеллус уховидный	Сосняк мшистый
	<i>Lentinellus ursinus</i> (Fr.) Kühner	Пилолистничек медвежий	Грабняк кисличный
Russulaceae	<i>Lactarius acris</i> (Bolton) Gray	Млечник острый	Ельник чернично-мшистый
	<i>Lactarius aurantiacus</i> (Pers.) Gray	Млечник неедкий	Дубрава грабовая
	<i>Lactarius camphoratus</i> (Bull.) Fr.	Млечник камфорный	Дубрава злаковая
	<i>Lactarius deliciosus</i> var. <i>piceae</i> Vassilkov	Рыжик настоящий, разновидность сосновая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Lactarius flexuosus</i> Gray	Млечник извилистый	Дубрава грабовая
	<i>Lactarius lignyotus</i> Fr.	Млечник бурый	Ельник чернично-мшистый
	<i>Lactarius musteus</i> Fr.	Млечник белый	Ельник кисличный, дубрава грабовая
	<i>Lactarius necator</i> (Bull.) Pers.	Груздь черный	Сосняк чернично-мшистый, ельник мшистый, дубрава кисличная
	<i>Lactarius pallidus</i> Pers.	Млечник бледный	Дубрава грабовая, дубрава чернично-мшистая, сосняк мшистый
	<i>Lactarius pyrogalus</i> (Bull.) Fr.	Млечник жгуче-млечный	Дубрава елово-кисличная
	<i>Lactarius quietus</i> (Fr.) Fr.	Млечник нейтральный	Дубрава грабовая, сосняк орляково-чернично-мшистый
	<i>Lactarius resimus</i> (Fr.) Fr.	Груздь настоящий	Дубрава елово-кисличная, сосняк чернично-кисличный

Окончание таблицы  
Ending table

Семейство	Вид		Тип фитоценоза
	Латинское название	Русское название	
Russulaceae	<i>Lactarius rufus</i> (Scop.) Fr.	Груздь горький	Сосняк можжевельново-мшистый, дубрава грабово-кисличная
	<i>Lactarius scrobiculatus</i> (Scop.) Fr.	Груздь желтый	Дубрава грабовая, дубрава чернично-мшистая, сосняк мшисто-черничный
	<i>Lactarius trivialis</i> (Fr.) Fr.	Млечник обыкновенный	Сосняк мшистый, дубрава грабовая
	<i>Lactarius uvidus</i> (Fr.) Fr.	Млечник мокрый	Дубрава елово-кисличная
	<i>Lactarius vellereus</i> (Fr.) Fr.	Скрипица	Дубрава грабовая
	<i>Lactarius volemus</i> (Fr.) Fr.	Груздь красно-коричневый	Дубрава грабовая, дубрава чернично-мшистая
	<i>Russula adusta</i> (Pers.) Fr.	Подгруздок черный	Дубрава грабовая
	<i>Russula aeruginea</i> Lindblad ex Fr.	Сыроежка зеленая	Сосняк березово-мшистый, дубрава чернично-мшистая
	<i>Russula atropurpurea</i> Peck	Сыроежка черно-пурпуровая	Сосняк черничный
	<i>Russula aurantiaca</i> (Jul. Schöff.) Romagn.	Сыроежка оранжевая	Дубрава грабовая
	<i>Russula claroflava</i> Grove	Сыроежка светло-желтая	Дубрава грабовая, ольшаник разнотравный
	<i>Russula consobrina</i> (Fr.) Fr.	Сыроежка родственная	Ольшаник мертвопокровный, дубрава грабово-черничная, сосняк чернично-мшистый
	<i>Russula cyanoxantha</i> (Schaeff.) Fr.	Сыроежка сине-желтая	Дубрава грабовая, ольшаник разнотравный
	<i>Russula emetica</i> (Schaeff.) Pers.	Сыроежка жгучеядкая	Дубрава грабово-черничная
	<i>Russula fragilis</i> var. <i>fragilis</i> Fr.	Сыроежка ломкая, разновидность ломкая	Дубрава грабовая, дубрава грабово-черничная
	<i>Russula integra</i> (L.) Fr.	Сыроежка цельная	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Russula lilacea</i> Quél.	Сыроежка лиловая	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Russula nobilis</i> Velen.	Сыроежка Мэйра	Дубрава грабовая
	<i>Russula ochroleuca</i> Fr.	Сыроежка охристая	Ольшаник разнотравный, сосняк мшистый
	<i>Russula pseudo-olivascens</i> Kärcher	Сыроежка буро-оливковая	Сосняк чернично-мшистый, сосняк мшистый
	<i>Russula queletii</i> Fr.	Сыроежка Келе	Сосняк можжевельново-черничный
	<i>Russula sanguinaria</i> (Schumach.) Rauschert	Сыроежка кроваво-красная	Дубрава кисличная
	<i>Russula squalida</i> Peck	Сыроежка волнистая	Сосняк мшисто-черничный
	<i>Russula turci</i> Bres.	Сыроежка турецкая	Сосняк мшистый
	<i>Russula velenovskyi</i> Melzer & Zvára	Сыроежка Веленовского	Сосняк чернично-мшистый
	<i>Russula vesca</i> Fr.	Сыроежка пищевая	Дубрава грабово-кисличная
<i>Russula violacea</i> Quél.	Сыроежка фиолетовая	Дубрава грабово-мшистая	
<i>Russula xerampelina</i> var. <i>rubra</i> (Britzelm.) Singer	Сыроежка буреющая, разновидность бордовая	Сосняк чернично-мшистый	

Проведенный таксономический анализ видового разнообразия агарикоидных базидиомицетов Национального парка «Беловежская пуща» показал, что на первом месте по количеству видов находится порядок Agaricales, включающий 215 видов из 23 семейств, которые составляют основную часть микобиоты любого лесного фитоценоза. На втором месте располагается порядок Russulales (42 вида из 2 семейств), а на третьем месте – порядок Boletales (19 видов из 6 семейств) (рис. 1).

В порядке Agaricales наиболее многочисленными оказались семейства Cortinariaceae (30 видов, или 13,95 % от числа видов порядка), Мусенасеае (27 видов, или 12,56 %), Agaricaceae (24 вида, или 11,16 %) и Tricholomataseae (20 видов, или 9,30 %) (рис. 2).

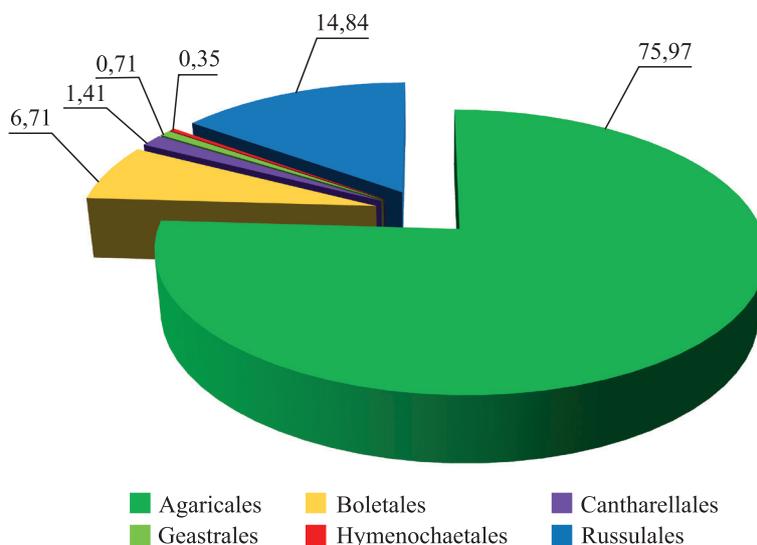


Рис. 1. Видовая представленность порядков агарикоидных грибов, %  
 Fig. 1. Species representation of orders of agaricoid fungi, %

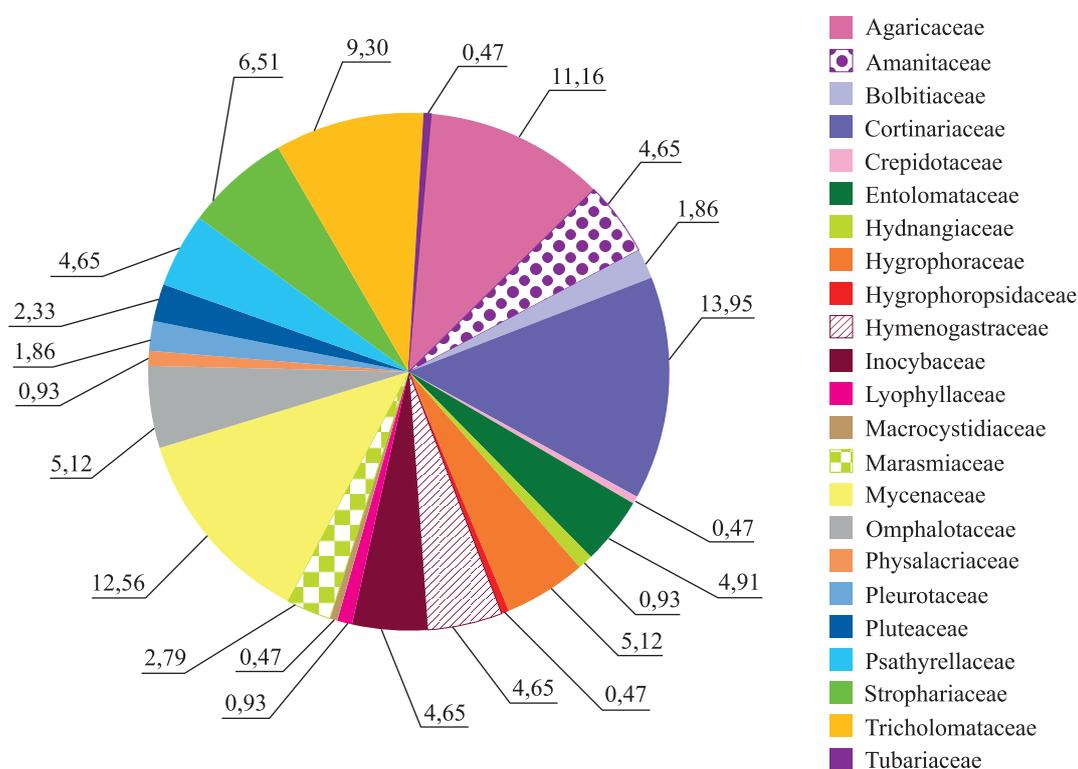


Рис. 2. Видовая представленность порядка Agaricales по семействам, %  
 Fig. 2. Species representation of the order Agaricales by families, %

Среди семейств порядка Russulales по количеству видов преобладает семейство Russulaceae (40 видов, или 14,13 % от общего числа видов).

Именно указанные порядки доминируют и составляют основу микобиоты Национального парка «Беловежская пуца».

### Заключение

В результате проведенного таксономического анализа гербарного материала, собранного на территории Национального парка «Беловежская пуца» с 1954 по 2022 г., было обнаружено 283 вида базидиальных макромицетов, включающих 12 разновидностей и 1 форму. Доминирующим по количеству видов является порядок Agaricales (75,97 %), представители которого составляют основную часть микобиоты лесных фитоценозов.

Среди семейств наиболее многочисленными по количеству видов оказались семейства Russulaceae (40 видов, или 14,13 % от общего числа видов), Cortinariaceae (30 видов, или 10,60 %), Мусенaceae (27 видов, или 9,54 %), Agaricaceae (24 вида, или 8,48 %) и Tricholomataceae (20 видов, или 7,07 %).

### Библиографические ссылки

1. Белявец ВГ, Варанкова ЮО, Вялікі АФ, Голубеў ВФ, Даніловіч ВВ, Доўнар АБ і інш. *Белавежская пушча: вытокі заапаведнасці, гісторыя і сучаснасць*. Каваленя АА, рэдактар. Мінск: Беларуская навука; 2009. 455 с.
2. UNESCO World Heritage Convention [Internet]. Paris: UNESCO World Heritage Centre; 1992–2023. Białowieża Forest; [cited 2022 July 28]. Available from: <http://whc.unesco.org/en/list/33>.
3. Толкач ВН, Лучков АИ, Парфенов ПВ, Савицкий БП. Национальный парк «Беловежская пуца» как объект охраны: биоразнообразие растительного и животного мира. В: Лучков АИ, Толкач ВН, Парфенов ВИ, Савицкий БП, Янушко АД, редакторы. *Сохранение биологического разнообразия лесов Беловежской пуцы*. Каменюки: [б. и.]; 1996. с. 10–19.
4. Поликсенова ВД, Гирилович ИС, Храмов АС. К вопросу о микологических и фитопатологических исследованиях в Беловежской пуце. В: Лучков АИ, Савицкий БП, Козулько ГА, Парфенов ВИ, Пикублик ММ, редакторы. *Беловежская пуца на рубеже третьего тысячелетия. Материалы научно-практической конференции, посвященной 60-летию со дня образования государственного заповедника «Беловежская пуца»; 22–24 декабря 1999 г.; Каменюки, Беларусь*. Минск: [б. и.]; 1999. с. 70–72.
5. Сержанина ГИ. Агариковые грибы Беловежской пуцы. В: Гельтман ВС, Кочановский СБ, Падутов ЕЕ, Рамлав ЕА, Романовский ВП, Утенкова АП, редакторы. *Беловежская пуца: исследования. Выпуск 2*. Минск: Урожай; 1968. с. 74–84.
6. Сержанина ГИ. *Шляпочные грибы Белоруссии: определитель и конспект флоры*. Минск: Наука и техника; 1984. 407 с.
7. Дылис НВ, редактор. *Программа и методика биогеоэкологических исследований*. Москва: Наука; 1974. Глава 7. Изучение грибов как компонента биогеоценоза; с. 122–131.
8. Васильева ЛН. Методика изучения макромицетов в лесных фитоценозах. В: Пармасто Э, редактор. *Проблемы изучения грибов и лишайников: IV симпозиум прибалтийских микологов и лишайников. Собрание по методике изучения грибов и лишайников в лесных биоценозах*. Тарту: Издательство Академии наук Эстонской ССР; 1965. с. 5–13.
9. Шубин ВИ. *Макромицеты лесных фитоценозов таежной зоны и их использование*. Томилин БА, редактор. Ленинград: Наука; 1990. 197 с.
10. Дудка ИА, Вассер СП, Элланская ИА, Коваль ЭЗ, Горбик ЛТ, Никольская ЕА и др. *Методы экспериментальной микологии*. Билай ВИ, редактор. Киев: Наукова думка; 1982. 550 с.
11. Билай ВИ. *Основы общей микологии*. Киев: Вища школа; 1974. 395 с.
12. Бридсон Д, Форман Л, редакторы. *Гербарное дело = The herbarium handbook*. Гельтман ДВ, Еремеева ЕЮ, Соколова ИВ, переводчики. Кью: Королевский ботанический сад; 1995. 341 с.
13. Роскин ГИ, Левинсон ЛБ. *Микроскопическая техника*. 3-е издание. Москва: Советская наука; 1957. 467 с.
14. Miller OK, Miller NH. *Gasteromycetes: morphological and developmental features with keys to the orders, families, and genera*. Eureka: Mad River Press; 1988. 157 p.

### References

1. Beljavec VG, Varankova IU, Vjaliki AF, Golubew VF, Danilovich VV, Downar AB, et al. *Belavezhskaja pushcha: vytoki zapavednasci, gistoryja i suchasnasc'* [Belovezhskaya Pushcha: the origins of the nature reserve, history and present]. Kavalenja AA, editor. Minsk: Belaruskaja navuka; 2009. 455 p. Belarusian.
2. UNESCO World Heritage Convention [Internet]. Paris: UNESCO World Heritage Centre; 1992–2023. Białowieża Forest; [cited 2022 July 28]. Available from: <http://whc.unesco.org/en/list/33>.
3. Tolkach VN, Luchkov AI, Parfenov PV, Savitskii BP. [National Park «Belovezhskaya Pushcha» as an object of protection: biodiversity of flora and fauna]. In: Luchkov AI, Tolkach VN, Parfenov VI, Savitskii BP, Yanushko AD, editors. *Sokhranenie biologicheskogo raznoobraziya lesov Belovezhskoi pushchi* [Conservation of the biological diversity of the forests of Belovezhskaya Pushcha]. Kamenyuki: [s. n.]; 1996. p. 10–19. Russian.
4. Poliksenova VD, Girilovich IS, Khramtsov AK. [On the issue of mycological and phytopathological studies in Belovezhskaya Pushcha]. In: Luchkov AI, Savitskii BP, Kozul'ko GA, Parfenov VI, Pikulik MM, editors. *Belovezhskaya pushcha na rubezhe tret'ego tysyacheletiya. Materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 60-letiyu so dnya obrazovaniya gosudarstvennogo zapovednika «Belovezhskaya pushcha»; 22–24 dekabrya 1999 g.; Kamenyuki, Belarus'* [Belovezhskaya Pushcha at the turn of the third

millennium. Materials of the scientific-practical conference dedicated to the 60<sup>th</sup> anniversary of the establishment of the state reserve «Belovezhskaya Pushcha»; 1999 December 22–24; Kamenyuki, Belarus]. Minsk: [s. n.]; 1999. p. 70–72. Russian.

5. Serzhanina GI. [Agaric mushrooms of Belovezhskaya Pushcha]. In: Gel'tman VS, Kochanovskii SB, Padutov EE, Ramlav EA, Romanovskii VP, Utenkova AP, editors. *Belovezhskaya pushcha: issledovaniya. Vypusk 2* [Belovezhskaya pushcha: research. Issue 2]. Minsk: Urozhai; 1968. p. 74–84. Russian.

6. Serzhanina GI. *Shlyapochnye griby Belorussii: opredelitel' i konspekt flory* [Pileate fungus of Belarus: key and summary of flora]. Minsk: Nauka i tekhnika; 1984. 407 p. Russian.

7. Dylis NV, editor. *Programma i metodika biogeotsenologicheskikh issledovaniy* [Programme and methods of biogeocenological investigations]. Moscow: Nauka; 1974. Glava 7. *Izuchenie gribov kak komponenta biogeotsenoza* [Chapter 7. The study of fungi as a component of biogeocenosis]; p. 122–131. Russian.

8. Vasil'eva LN. [Methodology for studying macromycetes in forest phytocenoses]. In: Parmasto E, editor. *Problemy izucheniya gribov i lishainikov: IV simpozium pribaltiiskikh mikologov i likhenologov. Soveshchanie po metodike izucheniya gribov i lishainikov v lesnykh biotsenozakh* [Problems of studying fungi and lichens: 4<sup>th</sup> symposium of Baltic mycologists and lichenologists. Meeting on the methodology for studying fungi and lichens in forest biocenoses]. Tartu: Publishing House of the Academy of Sciences of the Estonian SSR; 1965. p. 5–13. Russian.

9. Shubin VI. *Makromitsety lesnykh fitotsenozov taezhnoi zony i ikh ispol'zovanie* [Macromycetes of forest phytocenoses of the taiga zone and their use]. Tomilin BA, editor. Leningrad: Nauka; 1990. 197 p. Russian.

10. Dudka IA, Vasser SP, Ellanskaya IA, Koval' EZ, Gorbik LT, Nikol'skaya EA, et al. *Metody eksperimental'noi mikologii* [Methods of experimental mycology]. Bilai VI, editor. Kyiv: Naukova dumka; 1982. 550 p. Russian.

11. Bilai VI. *Osnovy obshchei mikologii* [Basics of general mycology]. Kyiv: Vishcha shkola; 1974. 395 p. Russian.

12. Bridson D, Forman L, editors. *The herbarium handbook*. Gel'tman DV, Eremeeva EYu, Sokolova IV, translators. Kew: Royal Botanic Gardens; 1995. 341 p. Russian.

13. Roskin GI, Levinson LB. *Mikroskopicheskaya tekhnika* [Microscopic technique]. 3<sup>rd</sup> edition. Moscow: Sovetskaya nauka; 1957. 467 p. Russian.

14. Miller OK, Miller HH. *Gasteromycetes: morphological and developmental features with keys to the orders, families, and genera*. Eureka: Mad River Press; 1988. 157 p.

Получена 07.09.2022 / исправлена 10.10.2022 / принята 11.10.2022.  
Received 07.09.2022 / revised 10.10.2022 / accepted 11.10.2022.

---

---

# ЭКОЛОГИЯ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ

---

## ECOLOGY AND CONSERVANCY

---

---

УДК 634.737:631.529:581.543

### ПЛОДОНОШЕНИЕ НОВЫХ СОРТОВ ГОЛУБИКИ, ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В БЕЛАРУСИ

О. В. ДРОЗД<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси,  
ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Беларусь

На основании многолетних исследований 15 сортов голубики высокорослой и 1 сорта голубики низкорослой, интродуцированных в Беларуси, показаны особенности их вступления в стадии генеративного развития и промышленного плодоношения, урожайности, периодичности плодоношения. Установлено, что в генеративную фазу развития растения голубики вступают в 4-летнем возрасте, в стадию промышленного плодоношения – в 6-летнем возрасте. Средняя урожайность 2,0 кг на растение и более в условиях Белорусского Полесья отмечена у сортов голубики высокорослой Goldtraube, Sunrise, Collins, Bluecrop, Bluejay, Denise Blue и Spartan. Более регулярным плодоношением характеризуются сорта Bluecrop, Spartan, Putte, Bluejay, Brigitta Blue, Sunrise, Toro, Bonus, Puru, Collins, Denise Blue.

**Ключевые слова:** голубика высокорослая; *Vaccinium corymbosum* L.; голубика низкорослая; интродукция; плодоношение; урожайность; масса плода; Беларусь.

---

#### Образец цитирования:

Дрозд ОВ. Плодоношение новых сортов голубики, интродуцированных в Беларуси. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:65–76.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-65-76>

#### For citation:

Droz O V. Fruiting of new blueberry cultivars introduced in Belarus. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:65–76. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-65-76>

---

#### Автор:

**Ольга Владимировна Дрозд** – научный сотрудник отраслевой лаборатории интродукции и технологии нетрадиционных ягодных растений.

#### Author:

**Olga V. Drozd**, researcher at the branch laboratory of introduction and technology of non-traditional berry varieties.  
[drozd\\_olgaw@rambler.ru](mailto:drozd_olgaw@rambler.ru)



## FRUITING OF NEW BLUEBERRY CULTIVARS INTRODUCED IN BELARUS

O. V. DROZD<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Central Botanical Garden, National Academy of Sciences of Belarus,  
2v Surhanava Street, Minsk 220012, Belarus

Based on long-term studies of 15 cultivars of highbush blueberry and 1 cultivar of lowbush blueberry, introduced in Belarus, the peculiarities of entering the stages of generative development and industrial fruiting, yield, fruiting frequency are shown. It has been established that blueberry plants enter the generative phase of development at the age of 4 years, and the stage of industrial fruiting at the age of 6 years. Average yield 2.0 kg per plant and more in the conditions of Belarusian Polesie was noted in highbush blueberry cultivars Goldtraube, Sunrise, Collins, Bluecrop, Bluejay, Denise Blue and Spartan. The cultivars Bluecrop, Spartan, Putte, Bluejay, Brigitta Blue, Sunrise, Toro, Bonus, Puru, Collins and Denise Blue are characterised by more regular fruiting.

**Keywords:** highbush blueberry; *Vaccinium corymbosum* L.; lowbush blueberry; introduction; fruiting; yield; mass of berries; Belarus.

### Введение

Голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.) демонстрирует устойчивую тенденцию роста на мировом рынке. Производство ягодной продукции данной культуры в мире с 2019 по 2021 г. увеличилось на 37 %, при этом спрос на нее остается высоким [1], следствием чего является стабильный рост площадей промышленных насаждений голубики во всех странах, в том числе в Беларуси [2; 3]. При закладке новых насаждений актуальным становится вопрос подбора сортов, пригодных для возделывания в почвенно-климатических условиях республики. Основным критерием оценки успешности интродукции сортов голубики, а также перспективности их для промышленного использования является возможность реализации потенциальной продуктивности и получения стабильных урожаев в новых условиях обитания. Кроме того, анализ реализации потенциальной урожайности важен для определения оптимальных регламентов возделывания данной культуры с эффективной результативностью критериев биологизации, экологизации, интенсификации [4].

Ранее автором были выявлены особенности завязываемости плодов голубики высокорослой в зависимости от сортовой специфики и метеорологических условий пункта интродукции [5].

Цель настоящего исследования – выявление особенностей плодоношения и оценка урожайности новых интродуцированных сортов голубики на территории Белорусского Полесья.

### Материалы и методы исследования

Исследования проводились в течение 2010–2021 гг. в коллекционных насаждениях голубики отраслевой лаборатории интродукции и технологии нетрадиционных ягодных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси, находящейся в Ганцевичском районе Брестской области. Объектами исследований являлась голубика высокорослая 15 сортов разных сроков созревания урожая (Collins, Spartan, Bluejay, Chanticleer (раннеспелые), Bluecrop, Nui, Puru, Sunrise, Toro, Denise Blue (среднеспелые), Brigitta Blue, Bonifacy, Chandler, Goldtraube, Bonus (позднеспелые)) и голубика низкорослая среднеспелого сорта (Putte). В качестве стандарта принят районированный в Беларуси сорт голубики высокорослой Bluecrop как наиболее распространенный в районах промышленного возделывания данной культуры. Насаждения голубики были созданы 2-летними саженцами в августе 2008 г. Схема посадки растений – 2,0 × 1,5 м. Почва на участке торфяно-глеевая, мелиорированная, верхового типа на пушицево-сфагновом торфе, подстилаемая рыхлым, разнородным песком с рН<sub>H<sub>2</sub>O</sub> 4,6. Приствольная полоса насаждений замульчирована древесными опилками (слоем толщиной 10 см и шириной 1 м). Междурядья содержались в естественном задернении. Ежегодно проводились санитарная и формирующая обрезки, при которых удалялись поврежденные, отмершие и неудачно расположенные побеги, а также омолаживающая обрезка начиная с 5-летнего возраста растений.

Учет урожая плодов исследуемых сортов голубики проводили в 2–3 приема по мере их созревания путем взвешивания и суммирования массы собранных ягод с каждого из пяти модельных растений в двукратной повторности с последующим вычислением средних для него показателей [6]. Индекс периодичности плодоношения (*I*) вычисляли по формуле [7]

$$I = \frac{Y_2 - Y_1}{Y_1 + Y_2} \cdot 100,$$

где  $Y_1, Y_2$  – средняя урожайность сорта в смежные годы.

По величине индекса периодичности плодоношения сорта подразделяются на следующие группы:

- сорта с регулярным плодоношением (до 20 %);
- сорта с относительно регулярным плодоношением (21–40 %);
- сорта со средней периодичностью плодоношения (41–60 %);
- сорта с сильной периодичностью плодоношения (61–80 %);
- сорта с очень сильной периодичностью плодоношения (81–100 %) [7].

Расчет средней многолетней урожайности исследуемых сортов и индексов периодичности плодоношения проводили с момента вступления растений в стадию товарного (промышленного) плодоношения. Среднюю массу ягоды определяли взвешиванием 100 произвольно отобранных плодов в трехкратной повторности при каждом сборе урожая. Оценку степени изменчивости признаков осуществляли исходя из величины коэффициента вариации ( $V$ ) по шкале Смирнова [8].

Статистическую обработку экспериментальных результатов выполняли с применением пакета анализа данных программы *Microsoft Excel* при уровне значимости 95 %. В целях получения информации о параметрах плодоношения сортов голубики определяли следующие статистические показатели величин урожайности и массы плодов: среднее арифметическое значение ( $\bar{x}$ ), статистическую ошибку среднего значения ( $m_x$ ), коэффициент вариации. Также вычисляли среднее арифметическое значение и статистическую ошибку среднего значения многолетнего индекса периодичности плодоношения [9]. Оценку достоверности различий (статистической значимости) между средними значениями выполняли на основании расчетного уровня значимости ( $p$ ), полученного методом однофакторного дисперсионного анализа с использованием  $F$ -критерия Фишера [9].

### Результаты и их обсуждение

В 2010 г. лишь отдельные 3-летние растения исследуемых сортов голубики, за исключением сорта *Spartan*, сформировали единичные плоды. В 2011 г. небольшой урожай отмечен у всех модельных растений голубики, вследствие чего можно считать, что в генеративную фазу развития исследуемые сорта вступили в 4-летнем возрасте. В 5-летнем возрасте урожайность интродуцированных сортов голубики все еще была достаточно низкой и варьировалась от 0,1 кг на растение (*Bonifacy, Bonus, Chanticleer, Putte, Spartan*) до 0,6 кг на растение (*Bluejay, Goldtraube, Sunrise*) и 0,7 кг на растение (*Bluecrop*) и лишь у сорта *Collins* достигала 1,0 кг на растение (табл. 1). В 6-летнем возрасте среднегодовая урожайность исследуемых сортов (1,3 кг на растение) увеличилась более чем в 3 раза в сравнении с предыдущим годом (0,4 кг на растение) и составила у сортов *Bluecrop, Bluejay, Goldtraube, Nui, Toro, Brigitta Blue, Denise Blue* от 1,5 до 1,9 кг на растение, у сорта *Sunrise* – 3,2 кг на растение. Повышение продуктивности голубики в этот период главным образом является следствием реализации возросшего биопродукционного потенциала, в основе которого лежит динамичное развитие скелетной структуры растений (увеличение числа побегов и их линейных параметров) [10]. Таким образом, началом вступления в стадию промышленного плодоношения исследуемых сортов голубики можно считать 6-летний возраст, что согласуется со сведениями, полученными на родине данной культуры [11], а также в Беларуси при изучении ранее интродуцированных сортов [12–16]. В Германии начало вступления в стадию промышленного плодоношения растений голубики отмечено в 6–8-летнем возрасте [17], в Великобритании период достижения растениями данной культуры стадии товарного плодоношения более длительный (8 лет и более) [18].

Исследуемые сорта голубики в условиях пункта интродукции значительно разнятся по продуктивности. Наибольшая средняя урожайность после вступления в стадию промышленного плодоношения отмечена у сорта *Goldtraube* (2,9 кг на растение), несколько ниже данный показатель у сорта *Sunrise* (2,6 кг на растение) (табл. 2). Средняя урожайность 2,0–2,4 кг на растение характерна для сортов *Bluejay, Denise Blue, Spartan, Bluecrop, Collins*. Наиболее низкие показатели урожайности отмечены у сортов *Chandler* (0,9 кг на растение) и *Puru* (0,6 кг на растение).

Сравнительный анализ показателей средней урожайности, установленных нами для 16 сортов голубики, и имеющихся в литературных источниках сведений выявил некоторые несоответствия.

Исходя из результатов исследований, проведенных на территории Польши [19; 20], урожайность 4-летних растений голубики сортов *Bluecrop, Brigitta Blue, Bonifacy, Denise Blue, Putte, Toro* составляет 0,9–1,4 кг на растение, что выше значений, полученных автором до вступления изучаемых таксонов в стадию промышленного плодоношения, и лишь у сорта *Collins* этот показатель (0,8 кг на растение) сопоставим с данными настоящей работы.

Динамика урожайности интродуцированных сортов голубики  
в условиях Белорусского Полесья в 2012–2021 гг., килограммов на растение

Table 1

Yield dynamics of introduced blueberry cultivars  
in the conditions of Belarusian Polesie in 2012–2021, kilograms per plant

Сорт	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Bluestop (st)	0,7 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,5	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,3	2,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	3,1 ± 0,5	3,1 ± 0,6	3,7 ± 0,4
Bluejay	0,6 ± 0,1	1,6 ± 0,4	1,4 ± 0,3	1,9 ± 0,4	1,1 ± 0,3*	1,3 ± 0,4	0,9 ± 0,1	3,6 ± 0,6	2,9 ± 0,5	3,6 ± 0,3
Bonifacy	0,1 ± 0,0*	0,7 ± 0,3*	1,2 ± 0,4	2,0 ± 0,4	0,7 ± 0,2*	0,3 ± 0,0*	0,9 ± 0,3	3,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2*	1,9 ± 0,3*
Bonus	0,1 ± 0,0*	0,6 ± 0,1*	0,7 ± 0,2*	1,7 ± 0,5	1,3 ± 0,6	1,2 ± 0,5*	0,2 ± 0,1*	2,8 ± 0,8	1,9 ± 0,5	1,2 ± 0,1*
Brigitta Blue	0,3 ± 0,1*	1,9 ± 0,4	0,8 ± 0,4*	1,6 ± 0,5	0,7 ± 0,3*	0,8 ± 0,4*	0,7 ± 0,1*	3,0 ± 1,2	2,8 ± 1,0	3,0 ± 0,6
Collins	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,6	1,0 ± 0,4	1,9 ± 0,7	0,6 ± 0,2*	3,7 ± 0,2*	1,8 ± 0,4	4,0 ± 0,4	3,1 ± 0,9	4,6 ± 0,7
Chandler	0,3 ± 0,4*	0,8 ± 0,3*	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,5*	0,6 ± 0,3*	0,5 ± 0,3*	0,2 ± 0,0*	2,8 ± 0,5	0,8 ± 0,1*	0,2 ± 0,0*
Chanticleer	0,1 ± 0,0*	0,2 ± 0,1*	0,4 ± 0,1*	1,4 ± 0,5	1,6 ± 0,7	0,5 ± 0,1*	1,0 ± 0,2	2,2 ± 0,7	0,5 ± 0,1*	2,0 ± 0,2*
Denise Blue	0,4 ± 0,0	1,9 ± 0,3	0,8 ± 0,3*	2,7 ± 0,6	1,6 ± 0,6	1,4 ± 0,5	0,4 ± 0,1*	3,7 ± 0,7	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,9
Goldtraube	0,6 ± 0,4	1,7 ± 0,4	2,0 ± 0,3	3,8 ± 0,5*	1,8 ± 0,6	3,8 ± 0,8*	1,5 ± 0,3	6,2 ± 0,8*	2,0 ± 0,9	3,6 ± 1,0
Nui	0,4 ± 0,2	1,7 ± 0,6	0,5 ± 0,3*	1,9 ± 0,5	0,6 ± 0,2*	1,9 ± 0,4	0,7 ± 0,4*	2,2 ± 0,9	1,2 ± 0,5*	1,5 ± 0,4*
Puru	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,1*	0,5 ± 0,1*	0,7 ± 0,2*	0,2 ± 0,1*	0,5 ± 0,2*	0,5 ± 0,1*	1,2 ± 0,2*	0,3 ± 0,0*	0,6 ± 0,1*
Putte	0,1 ± 0,0*	0,4 ± 0,2*	1,3 ± 0,4	1,4 ± 0,2*	0,9 ± 0,2*	0,7 ± 0,5*	0,8 ± 0,5*	1,7 ± 0,2	0,9 ± 0,1*	1,0 ± 0,1*
Spartan	0,1 ± 0,0*	0,8 ± 0,3*	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,3*	1,8 ± 0,5	1,2 ± 0,3*	1,5 ± 0,5	3,6 ± 0,9	3,2 ± 0,8	3,5 ± 1,0
Sunrise	0,6 ± 0,1	3,2 ± 0,4*	1,5 ± 0,2	2,5 ± 0,9	2,0 ± 0,2	2,9 ± 0,7	1,0 ± 0,1	3,7 ± 0,9	3,2 ± 0,8	3,0 ± 0,4
Toro	0,4 ± 0,1	1,7 ± 0,4	0,2 ± 0,0*	1,6 ± 0,5	0,9 ± 0,5*	0,8 ± 0,4*	0,8 ± 0,3*	1,3 ± 0,3*	2,1 ± 0,5	2,7 ± 0,8
Средняя урожайность	0,4 ± 0,2	1,3 ± 0,5	1,0 ± 0,3	1,9 ± 0,5	1,2 ± 0,4	1,5 ± 0,8	0,9 ± 0,3	3,0 ± 0,8	2,0 ± 0,7	2,4 ± 0,9
НСР <sub>0,05</sub>	0,40	0,70	0,64	0,99	0,81	0,85	0,56	1,39	1,17	1,13

Примечания: 1. Данные представлены как среднее значение и ошибка среднего значения. 2. Звездочкой отмечены достоверные различия по сравнению со значениями стандартного сорта ( $p < 0,05$ ). 3. Используемые обозначения: st – стандарт; НСР<sub>0,05</sub> – наименьшая существенная разность для уровня значимости  $p < 0,05$ .

Таблица 2

Средние показатели урожайности и массы одного плода разных сортов голубики в стадии промышленного плодоношения за 2013–2021 гг.

Table 2

Average yield and weight of one berry of different cultivars of blueberries at the stage of industrial fruiting for 2013–2021

Сорт	Средняя урожайность		Средняя масса одного плода	
	$x \pm m_x$ , килограммов на растение	$V$ , %	$x \pm m_x$ , г	$V$ , %
Bluecrop (st)	$2,3 \pm 0,5$	35	$2,1 \pm 0,2$	13
Bluejay	$2,0 \pm 0,7$	52	$1,6 \pm 0,1^*$	11
Bonifacy	$1,3 \pm 0,6^*$	67	$2,2 \pm 0,2$	12
Bonus	$1,3 \pm 0,5^*$	59	$2,4 \pm 0,3$	20
Brigitta Blue	$1,7 \pm 0,7$	59	$2,3 \pm 0,3$	20
Collins	$2,4 \pm 1,0$	61	$1,9 \pm 0,2$	16
Chandler	$0,9 \pm 0,5^*$	87	$2,6 \pm 0,3^*$	19
Chanticleer	$1,1 \pm 0,5^*$	70	$1,6 \pm 0,2^*$	19
Denise Blue	$2,0 \pm 0,7$	53	$2,5 \pm 0,2^*$	13
Goldtraube	$2,9 \pm 1,0$	53	$1,4 \pm 0,1^*$	12
Nui	$1,3 \pm 0,4^*$	47	$2,5 \pm 0,3^*$	17
Puru	$0,6 \pm 0,2^*$	51	$1,7 \pm 0,2^*$	17
Putte	$1,0 \pm 0,3^*$	38	$0,7 \pm 0,1^*$	29
Spartan	$2,0 \pm 0,7$	55	$2,6 \pm 0,2^*$	13
Sunrise	$2,6 \pm 0,6$	35	$2,2 \pm 0,1$	8
Toro	$1,3 \pm 0,5^*$	57	$2,6 \pm 0,3^*$	20
$HCP_{0,05}$	0,42		0,32	

\* Достоверные различия по сравнению со значениями стандартного сорта ( $p < 0,05$ ).

Согласно результатам, представленным Научно-исследовательским институтом садоводства и цветоводства в Скерневицах (Польша) [19; 21; 22], средняя урожайность растений голубики в стадии промышленного плодоношения у сортов Collins (1,7 кг на растение) и Sunrise (1,5–2,3 кг на растение) ниже приведенных в данной статье показателей, а у сортов Bluecrop (2,7–3,2 кг на растение), Bluejay (4,1–4,4 кг на растение) и Puru (2,6–2,8 кг на растение) выше полученных автором значений. Максимальная урожайность растений голубики высокорослой, отмеченная в условиях Польши [23; 24], у сорта Bluecrop (4,0 кг на растение) сопоставима с результатами настоящего исследования, у сорта Sunrise (2,0 кг на растение) в 1,9 раза ниже, а у сортов Bluejay (6,6 кг на растение) и Puru (3,4 кг на растение) в 1,8 и 2,8 раза выше соответственно.

Средняя урожайность 8-летних растений голубики высокорослой на территории Польши [25] у сортов Bonus (1,6 кг на растение), Brigitta Blue (1,4 кг на растение), Chandler (1,4 кг на растение) соизмерима с данными, полученными в пункте интродукции, у сортов Toro (0,5 кг на растение), Bonifacy (0,6 кг на растение), Spartan (0,3 кг на растение) и Bluecrop (0,4 кг на растение) в 3,2–6,0 раза ниже.

Показатели максимальной урожайности в течение первых 5 лет после вступления в стадию промышленного плодоношения у сортов Goldtraube (7,5 кг на растение), Chanticleer (3,6 кг на растение) и Spartan (8,1 кг на растение), представленные польскими учеными [26], в 1,2–2,3 раза выше значений, приведенных автором статьи.

Средняя урожайность 7-летних растений голубики высокорослой в условиях Латвии [27] у сорта Bluejay (2,0 кг на растение) соответствует результатам настоящего исследования, у сорта Spartan (4,3 кг на растение) в 2,2 раза превышает их.

В Ленинградской области России [28] урожайность 6-летних растений сортов Bluecrop и Denise Blue составила 0,1 кг на растение, что значительно ниже полученных автором показателей. Во Владикавказе [29] средняя урожайность голубики высокорослой в стадии товарного плодоношения у сортов

Chanticleer (1,4 кг на растение), Bluejay (3,0 кг на растение) в 1,3–1,5 раза выше, у сорта Sunrise (1,8 кг на растение), наоборот, в 1,4 раза ниже результатов данного исследования для этого таксона.

Согласно работе [30] в Чехии средняя урожайность растений голубики в стадии товарного плодоношения у сорта Bluejay (2,3 кг на растение) соизмерима с полученными автором значениями, у сорта Sunrise (1,3 кг на растение) в 2,0 раза ниже, у сортов Brigitta Blue (3,6 кг на растение), Togo (4,4 кг на растение), Collins (5,0 кг на растение), Spartan (5,0 кг на растение) и Bluecrop (6,9 кг на растение) в 2,1–3,4 раза выше, чем в условиях Белорусского Полесья.

Средние показатели урожайности, отмеченные в провинции Цзилинь в Китае [31], у сортов Spartan (2,6 кг на растение), Bluejay (3,0 кг на растение) и Bluecrop (3,8 кг на растение) в 1,3–1,7 раза превышают установленные автором значения для приведенных таксонов.

В Могилёвской области Беларуси согласно сведениям А. В. Ермоленко, А. Д. Сивцовой и Н. В. Костиной [32] средняя урожайность 7–8-летних растений голубики высокорослой сортов Spartan (1,2–1,4 кг на растение) и Togo (1,3–1,5 кг на растение) сопоставима с результатами настоящего исследования. По данным Т. В. Сачивко и В. Н. Босака [33], полученным там же, средняя урожайность 5–6-летних растений голубики сорта Chandler (0,7 кг на растение) соизмерима с установленными автором значениями, у сорта Bonus (0,1 кг на растение) ниже их.

Таким образом, средняя урожайность растений исследуемых сортов голубики в Белорусском Полесье сопоставима с показателями плодоношения данных таксонов в Польше, Чехии, Китае либо несколько ниже их и, как правило, выше показателей плодоношения этих сортов в России. Сорт Sunrise в условиях пункта интродукции является более урожайным, чем в Польше, России и Чехии.

Полнота реализации потенциала биологической продуктивности растений голубики зависит как от погодно-климатических особенностей пункта интродукции, так и от биологических особенностей отдельных генотипов. Вследствие того что исследуемые сорта голубики формировали плоды в идентичных почвенно-климатических условиях, показатель средней урожайности можно считать сортоспецифичным признаком. Согласно методике классификации низкорослых сортов голубики по урожайности [6] сорт Putte со средним показателем плодоношения 1,0 кг на растение относится к группе урожайных сортов, сорта голубики высокорослой Bluecrop, Bluejay, Collins, Denise Blue, Goldtraube, Spartan, Sunrise, продуцирующие в условиях пункта интродукции урожай плодов от 2,0 до 3,0 кг на растение, принадлежат к среднеурожайным, сорта голубики высокорослой Bonifacy, Bonus, Brigitta Blue, Chandler, Chanticleer, Nui, Puru, Togo с урожайностью ниже 2,0 кг на растение являются малоурожайными в условиях Белорусского Полесья.

Анализ урожайности растений голубики показал, что всем сортам данной культуры свойствен циклический характер плодоношения, который проявляется в чередовании высокоурожайных и низкоурожайных лет. Объективным показателем степени варьирования урожайности того или иного сорта служит индекс периодичности плодоношения, согласно которому периодичность плодоношения наиболее выражена у сорта Nui (средний многолетний индекс периодичности плодоношения равен 44,8 %) (табл. 3). Высокие значения индекса периодичности плодоношения, свидетельствующие о сильной вариативности урожайности, также отмечены у сортов Chanticleer (44,4 %), Bonifacy (39,9 %), Chandler (37,1 %) и Goldtraube (37,0 %). Стабильными показателями плодоношения в пункте интродукции характеризуются высокорослые сорта голубики Bluecrop (12,7 %) и Spartan (16,0 %).

Таблица 3

Индексы периодичности плодоношения сортов голубики в условиях Беларуси, %

Table 3

Indices of fruiting frequency of blueberry cultivars in Belarus, %

Сорт	2013 и 2014 гг.	2014 и 2015 гг.	2015 и 2016 гг.	2016 и 2017 гг.	2017 и 2018 гг.	2018 и 2019 гг.	2019 и 2020 гг.	2020 и 2021 гг.	Среднее многолетнее значение*
Bluecrop (st)	0,6	20,4	–9,8	3,5	–20,2	37,8	0,6	8,8	12,7 ± 8,5
Bluejay	–8,7	17,6	–27,6	8,3	–20,4	61,6	–11,7	11,5	20,9 ± 11,7
Bonifacy	23,4	25,6	–48,5	–44,7	53,6	57,4	–44,5	21,8	39,9 ± 9,4
Bonus	10,4	38,3	–11,4	–3,9	–67,1	84,1	–17,8	–22,8	32,0 ± 19,3
Brigitta Blue	–39,8	33,9	–38,5	7,7	–12,0	63,7	–3,1	2,8	25,2 ± 14,6
Collins	1,0	31,1	–55,2	73,7	–34,5	38,1	–13,2	19,4	33,3 ± 15,4
Chandler	10,3	6,8	–26,4	–12,3	–35,1	84,0	–56,8	–65,2	37,1 ± 19,0
Chanticleer	33,3	58,6	8,6	–54,7	36,8	36,6	–64,7	61,6	44,4 ± 12,6

Окончание табл. 3  
Ending table 3

Сорт	2013 и 2014 гг.	2014 и 2015 гг.	2015 и 2016 гг.	2016 и 2017 гг.	2017 и 2018 гг.	2018 и 2019 гг.	2019 и 2020 гг.	2020 и 2021 гг.	Среднее многолетнее значение*
Denise Blue	-41,2	53,8	-24,3	-8,7	-51,1	78,7	-11,8	-1,7	33,5 ± 18,1
Goldtraube	9,1	30,4	-36,9	36,2	-43,5	61,6	-50,6	27,9	37,0 ± 10,4
Nui	-51,4	55,4	-54,1	53,7	-47,6	54,2	-30,6	11,3	44,8 ± 10,4
Puru	-15,8	21,3	-50,7	34,8	0,0	42,5	-63,2	34,9	32,9 ± 13,3
Putte	50,0	3,8	-21,4	-12,8	5,6	37,7	-28,2	4,1	20,5 ± 11,3
Spartan	25,5	-3,2	18,9	-18,9	12,4	39,6	-5,0	4,7	16,0 ± 8,2
Sunrise	-34,7	23,0	-9,3	17,7	-50,5	58,8	-6,9	-3,2	25,5 ± 13,7
Toro	-79,2	77,5	-25,4	-10,6	1,3	25,0	22,6	13,4	31,9 ± 19,7

\*Данные представлены как среднее значение и ошибка среднего значения.

Исходя из величины среднего многолетнего индекса периодичности плодоношения исследуемые сорта голубики по шкале периодичности плодоношения [7] были разделены на три группы:

- сорта с регулярным плодоношением (до 20 %) – Bluecrop, Spartan;
- сорта с относительно регулярным плодоношением (21–40 %) – Putte, Bluejay, Brigitta Blue, Sunrise, Toro, Bonus, Puru, Collins, Denise Blue, Goldtraube, Chandler, Bonifacy;
- сорта со средней периодичностью плодоношения (41–60 %) – Chanticleer, Nui.

Периодичность плодоношения как биологическое явление связана с неравномерностью формирования цветочных почек в отдельные годы и обусловлена рядом экзогенных (внешних) и эндогенных (внутренних) факторов. Согласно Н. Б. Павловскому [14] и Т. В. Курлович [15; 16], которые также обращали внимание на периодичность плодоношения голубики в условиях Беларуси, основными внешними предпосылками снижения урожайности выступают неблагоприятные метеорологические условия, в первую очередь возвратные морозы и заморозки, повреждающие генеративную сферу голубики, и дефицит осадков в период закладки генеративных почек (июль – август), приводящий к снижению урожая на следующий год. Как правило, именно воздействие экзогенных факторов начинает цикл периодичности, а дальнейшее сохранение изменчивости плодоношения обуславливается эндогенными (гормональными, биохимическими и молекулярными) факторами [34]. Так, наименьшая средняя продуктивность исследуемых сортов в стадии промышленного плодоношения (0,9 кг на растение) отмечена в 2018 г., что обусловлено заморозками в начале июня, повредившими формирующиеся завязи [5]. Продуцирование низкого урожая позволило растениям направить питательные вещества на формирование большого числа новых побегов (вегетативный рост) и закладку генеративных почек урожая будущего года, что при благоприятных погодных условиях в 2019 г. обеспечило максимальную среднюю урожайность интродуцированных сортов голубики за весь период наблюдений – 3,0 кг на растение. Высокая нагрузка растений голубики ягодами оказала негативное влияние на закладку генеративных почек и их дальнейшее развитие, поскольку в таких условиях ассимилирующий листовой аппарат не в состоянии в полном объеме поставлять продукты фотосинтеза одновременно для развития плодов, роста побегов, закладки и дифференциации цветковых почек, а также накопления запасных питательных веществ. Вследствие этого в 2020 г., несмотря на благоприятные метеорологические условия, было отмечено снижение средней урожайности сортов голубики до 2,0 кг на растение. В 2021 г. при отсутствии предпосылок к снижению потенциальной продуктивности средняя урожайность была выше (2,4 кг на растение), что обусловлено достаточной сбалансированностью между процессами роста и плодоношения в предыдущем году.

Важным показателем плодоношения интродуцируемых сортов голубики являются товарные качества ягод, определяющиеся не только вкусовыми и биохимическими показателями, но и в первую очередь размерными характеристиками, основной из которых выступает масса плода. Наибольшая средняя масса одной ягоды в стадии промышленного плодоношения (2,6 г) отмечена у сортов Chandler, Spartan и Toro (см. табл. 2). Также крупные плоды (более 2,0 г) формировали сорта Denise Blue, Nui, Bonus, Brigitta Blue, Sunrise, Bonifacy, Bluecrop. Наименьшая средняя масса одной ягоды (1,4 г) в группе высокорослой голубики отмечена у сорта Goldtraube. У низкорослого сорта Putte данный показатель составил 0,7 г, что в 2,0–3,7 раза меньше, чем у высокорослой голубики. Согласно классификации низкорослых сортов голубики по массе плода [6] сорт Putte в почвенно-климатических условиях Беларуси является среднеплодным. Более подробная характеристика плодов голубики исследуемых сортов и их ранжирование на группы в зависимости от средней массы плода представлены автором в работе [35].

Динамика массы плода разных сортов голубики в условиях Белорусского Полесья, г

Table 4

Dynamics of berry weight of different cultivars of blueberries in the conditions of Belarusian Polissya, g

Сорт	Год										
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
Bluecrop (st)	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,3 ± 0,0	
Bluejay	1,4 ± 0,1*	1,5 ± 0,1*	1,7 ± 0,0	1,3 ± 0,0*	1,6 ± 0,1*	1,5 ± 0,1*	1,6 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,5 ± 0,0*	1,6 ± 0,1*	
Bonifacy	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1*	2,2 ± 0,1*	2,6 ± 0,1	2,5 ± 0,1*	2,2 ± 0,1	
Bonus	2,2 ± 0,1	2,9 ± 0,0*	2,6 ± 0,1*	2,0 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,9 ± 0,1*	1,6 ± 0,1	2,2 ± 0,1	3,0 ± 0,1*	2,1 ± 0,1	
Brigitta Blue	2,1 ± 0,1	1,8 ± 0,1*	1,8 ± 0,1	2,8 ± 0,1*	1,8 ± 0,0	2,1 ± 0,1*	2,8 ± 0,2*	2,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,2	
Collins	1,5 ± 0,1*	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1	1,8 ± 0,0	2,5 ± 0,0*	1,7 ± 0,1*	1,7 ± 0,0	2,0 ± 0,0*	1,5 ± 0,0*	1,7 ± 0,1*	
Chandler	2,4 ± 0,0	2,7 ± 0,1*	2,7 ± 0,1*	2,0 ± 0,1	2,4 ± 0,2*	1,9 ± 0,1*	2,4 ± 0,1*	2,4 ± 0,1	3,5 ± 0,1*	3,1 ± 0,1*	
Chanticleer	1,3 ± 0,0*	1,3 ± 0,1*	1,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1*	1,4 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,5 ± 0,3	2,1 ± 0,2	1,8 ± 0,2*	
Denise Blue	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,0	2,6 ± 0,0*	2,2 ± 0,1*	2,3 ± 0,0*	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,0*	3,2 ± 0,0*	2,3 ± 0,2	2,4 ± 0,1	
Goldtraube	1,7 ± 0,0*	1,7 ± 0,0*	1,4 ± 0,0	1,3 ± 0,0*	1,7 ± 0,0	1,5 ± 0,1*	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1*	1,3 ± 0,0*	1,2 ± 0,0*	
Nui	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1*	2,9 ± 0,1*	2,0 ± 0,2	2,8 ± 0,1*	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,2*	2,9 ± 0,3*	3,2 ± 0,2*	2,4 ± 0,2	
Puru	1,1 ± 0,0*	1,4 ± 0,1*	1,7 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1*	1,6 ± 0,0*	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2*	2,3 ± 0,3	2,1 ± 0,2	
Putte	0,5 ± 0,0*	0,5 ± 0,0*	0,6 ± 0,0*	0,9 ± 0,2*	0,8 ± 0,1*	1,0 ± 0,0*	0,9 ± 0,1*	0,6 ± 0,0*	1,0 ± 0,1*	0,4 ± 0,0*	
Spartan	2,1 ± 0,1	2,7 ± 0,1*	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,0*	2,4 ± 0,1*	2,7 ± 0,1	3,0 ± 0,1*	3,1 ± 0,1*	2,1 ± 0,1	2,5 ± 0,1	
Sunrise	1,7 ± 0,1*	2,0 ± 0,1*	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,1*	2,6 ± 0,3*	2,3 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,3 ± 0,0	
Toro	1,9 ± 0,3	1,9 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,7 ± 0,1*	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,6 ± 0,2	2,3 ± 0,2*	3,8 ± 0,2*	2,5 ± 0,1	
Средняя масса плода	1,8 ± 0,3	2,0 ± 0,4	2,0 ± 0,4	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,4	2,0 ± 0,4	2,3 ± 0,5	2,2 ± 0,4	2,1 ± 0,4	
НСР <sub>0,05</sub>	0,28	0,24	0,52	0,32	0,30	0,27	0,38	0,42	0,39	0,34	

Примечания: 1. Данные представлены как среднее значение и ошибка среднего значения. 2. Звездочкой отмечены достоверные различия по сравнению со значениями стандартного сорта ( $p < 0,05$ ).

Анализ динамики массы ягоды голубики по годам показывает, что данный параметр варьируется в достаточно широких пределах (см. табл. 4). Согласно значениям коэффициента вариации большинство исследуемых сортов голубики высокорослой характеризуются средним уровнем изменчивости массы плода (13–20 %). Низкий уровень изменчивости данного показателя выявлен у сортов Sunrise, Bonifacy, Goldtraube и Bluescop (8–12 %), причем наиболее одномерные плоды, средняя масса которых изменялась от 2,0 г в 2013–2014 гг. до 2,6 г в 2018 г., отмечены у сорта Sunrise. Для низкорослого сорта Putte характерен повышенный уровень изменчивости этого показателя (29 %), при котором средняя масса плода варьировалась от 0,4 г в 2021 г. до 1,0 г в 2017 и 2020 гг.

Согласно литературным данным [35; 36] плоды сортов голубики высокорослой, сформировавшиеся в условиях Белорусского Полесья, имеют биометрические параметры, сходные с таковыми у ягод, полученных в Польше, Латвии, Украине и Италии, за исключением сортов Spartan и Toro, у которых на территории Беларуси формировались более крупные плоды. Для сортов Bluejay, Collins, Sunrise, Toro масса ягод, выросших в Чехии, была в 1,1–1,5 раза меньше полученных автором значений [35]. Средняя масса плода у сортов Bluescop и Denise Blue в Ленинградской области России оказалась в 1,1–1,3 раза ниже, чем в условиях Беларуси [28].

### Заключение

У всех исследуемых сортов голубики отмечено ежегодное плодоношение, что свидетельствует об успешной реализации их адаптационного потенциала в почвенно-климатических условиях Белорусского Полесья. В генеративную фазу развития растения голубики вступают в 4-летнем возрасте, в стадию промышленного плодоношения – в 6-летнем возрасте. Средняя урожайность 2,0 кг на растение и более в пределах пункта интродукции отмечена у сортов голубики высокорослой Goldtraube, Sunrise, Collins, Bluescop, Bluejay, Denise Blue и Spartan. Показатели урожайности голубики значительно варьируются по годам, что, как правило, обусловлено неблагоприятными погодными условиями. Более регулярное плодоношение отмечено у сортов Bluescop, Spartan, Putte, Bluejay, Brigitta Blue, Sunrise, Toro, Bonus, Puru, Collins, Denise Blue. Для промышленного выращивания в условиях республики наиболее перспективными являются следующие крупноплодные, урожайные сорта с относительно стабильным плодоношением: Sunrise, Bluejay, Denise Blue, Spartan, Collins. Высокие показатели плодоношения сортов голубики высокорослой Sunrise, Bluejay, Denise Blue, Spartan и Collins послужили одним из главных оснований для включения их в государственный реестр сортов [37; 38], допущенных для производства, реализации и использования их семян на территории Республики Беларусь.

### Библиографические ссылки

1. Ягідник [Інтернет]. Рівне: [б. в.]; 2017–2020. Стан ринку лохини: Україна та світ; 4 січня 2022 р. [прочитовано 9 березня 2022 р.]. Доступно по: <http://www.jagodnik.info/stan-rynku-lohynu-ukrayina-ta-svit>.
2. Титок В, Всевинок А, Павловский Н. Голубика высокорослая – инновационная культура премиум-класса. *Наука и инновации*. 2012;6:25–27.
3. Решетников ВН. Координация и научное сопровождение работ по развитию в Беларуси нетрадиционного промышленного ягодоводства. В: Титок ВВ, Рупасова ЖА, Гончарова ЛВ, Павловский НБ, Ленковец ТИ, Кузьменкова СМ, редакторы. *Опыт и перспективы выращивания нетрадиционных ягодных растений на территории Беларуси и сопредельных стран. Материалы Международного научно-практического семинара; 28 сентября – 1 октября 2021 г.; Минск – Ганцевичи, Беларусь = Experience and prospects of growing of unconventional berry plants in Belarus and neighbouring countries. Materials of the International scientific and practical seminar; 2021 September 28 – October 1; Minsk – Gantsevichi, Belarus*. Минск: Медисонт; 2021. с. 104–108.
4. Егоров ЕА. *Организация воспроизводства в промышленном плодоводстве*. Краснодар: СКЗНИИСиВ; 2009. 267 с.
5. Дрозд ОВ. Завязываемость плодов голубики высокорослой в зависимости от сортовой специфики и погодно-климатических условий. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2022;1:70–80.
6. Седов ЕН, Огольцова ТП, редакторы. *Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур*. Орел: ВНИИСПК; 1999. 606 с.
7. Ананич ИГ, Бруйло АС, Байтасов РР. Проблема периодичности плодоношения и ее количественное выражение. В: Пестис ВК, редактор. *Сельское хозяйство – проблемы и перспективы. Том 1, часть 1*. Гродно: Гродненский государственный аграрный университет; 2003. с. 55–58.
8. Смирнов ВС. Изменчивость биологических явлений и коэффициент вариации. *Журнал общей биологии*. 1971;32(2): 152–162.
9. Батин НВ. *Компьютерный статистический анализ данных*. Минск: Институт подготовки научных кадров НАН Беларуси; 2008. 159 с.
10. Гордей ДВ. Особенности плодоношения голубики узколистной (*Vaccinium angustifolium* Ait.) в четырехлетнем культурно-цене на севере Беларуси. *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук*. 2013;4:60–66.

11. Shutak VG, Marucci PE. Plant and fruit development. In: Eck P, Childers NF, editors. *Blueberry culture*. New Brunswick: Rutgers University Press; 1966. p. 179–198.
12. Босак ВН. Опыт выращивания голубики высокой в условиях юга Республики Беларусь. В: Решетников ВН, Володько ИК, Гетко НВ, Кухарева ЛВ, Мотыль ММ, редакторы. *Пряно-ароматические и лекарственные растения: перспективы интродукции и использования. Материалы докладов международной конференции; 31 мая – 2 июня 1999 г.; Минск, Беларусь*. Минск: [б. и.]; 1999. с. 11–12.
13. Приходько СЛ. Урожайность сортов *Vaccinium coveilleatum* But. et Pl. В: *Промышленная ботаника: состояние и перспективы развития. Материалы VII Международной научной конференции; 17–19 мая 2017 г.; Донецк, Донецкая Народная Республика*. Ростов-на-Дону: Альтаир; 2017. с. 356–358.
14. Павловский НБ. Плодоношение сортов голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) в Беларуси. *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 2018;63(4):486–499. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-4-486-499.
15. Курлович ТВ. Периодичность плодоношения сортовой голубики в репродуктивной фазе онтогенеза. В: Титок ВВ, Анисимова ЕИ, Анощенко БЮ, Беломесецева ДБ, Белый ПН, Бычкова ЕИ и др., редакторы. *Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов. Материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н. В. Смольского; 7–9 октября 2015 г.; Минск, Беларусь. Часть 1*. Минск: Конфидо; 2015. с. 417–419.
16. Курлович ТВ. Сорты голубики, перспективные для промышленного возделывания. *Наше сельское хозяйство. Агрономия*. 2021;11:143–146.
17. Dierend W, Bier-Kamotzke A. Ertragsleistung von Kulturheidelbeersorten. *Erwerbs-Obstbau*. 1999;41(1):18–25.
18. Taylor S. Oczekiwania brytyjskich odbiorców borówek. W: *Konferencja borówkowa 2013. Szanse i zagrożenia; 15 marca 2013; Michałowice, Polska*. Kraków: Hortus Media; 2013. s. 66–73.
19. Smolarz K, Chlebowska D, Krzewińska D, Koziński B. Przegląd badań nad oceną odmian borówki wysokiej prowadzonych od 1978 roku w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach. W: *Uprawa borówki i żurawiny (z elementami ekologii). Międzynarodowa konferencja naukowa; 19–22 czerwca 2006; Skierniewice, Polska*. Skierniewice: ISiK; 2006. s. 21–30.
20. Jabłoński B, Król S, Pliszka R, Żurawska Z. Nektarowanie i zapylanie borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). *Pszczelnictwo Zeszyty Naukowe*. 1983;27:91–109.
21. Smolarz K. Wzrost i plonowanie 12 odmian borówki wysokiej w środkowej części Polski. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 1997;4:97–109.
22. Koziński B. Wzrost i plonowanie kilku nowych odmian borówki wysokiej w latach pełnego owocowania. W: *Uprawa borówki i żurawiny (z elementami ekologii). Międzynarodowa konferencja naukowa; 19–22 czerwca 2006; Skierniewice, Polska*. Skierniewice: ISiK; 2006. s. 31–37.
23. Smolarz K. *Uprawa borówki i żurawiny*. Warszawa: Hortpress; 2003. 212 s.
24. Chlebowska D, Smolarz K. Ocena wartości gospodarczej kilku nowych odmian borówki wysokiej w centralnej Polsce. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 2004;12:163–172.
25. Seliga L, Pluta S. Wstępna ocena wzrostu i plonowania wybranych odmian borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). *Zeszyty Naukowe Instytutu Ogrodnictwa*. 2017;25:105–114.
26. Rozpara E, Wodzyńska H. Wczesne odmiany borówki w doświadczeniach Instytutu Ogrodnictwa. W: *Nowoczesna uprawa borówki: borówkowe wyzwania. Materiały z VI Międzynarodowej konferencji borówkowej; 1–2 marca 2018; Ożarów Mazowiecki, Polska*. Kraków: Hortus Media; 2018. s. 171–180.
27. Sterne D, Liepniece M. Preliminary observations of phenology development, yield and yield quality of some highbush blueberry cultivars in Latvia. In: *Research for rural development 2010. Annual 16<sup>th</sup> International scientific conference proceedings; 2010 May 19–21; Jelgava, Latvia. Volume 1*. Jelgava: [s. n.]; 2010. p. 60–64.
28. Атрошенко ГП, Кошман АИ, Щеголева КВ. Продуктивность и качество ягод голубики высокорослой в условиях Ленинградской области. *Вестник студенческого научного общества*. 2018;9(1):87–89.
29. Асаева ТДж, Газданов АВ. Влияние удобрений на урожайность ягод голубики в лесостепной зоне РСО – Алания. В: *Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса юга России. Материалы Всероссийской научно-практической конференции (с международным участием); 11–13 ноября 2020 г.; Майкоп, Россия*. Майкоп: [б. и.]; 2020. с. 209–212.
30. Paprstein F, Ludvikova J. Wstępne wyniki oceny odmian borówki wysokiej w Holovousach. W: *Uprawa borówki i żurawiny (z elementami ekologii). Międzynarodowa konferencja naukowa; 19–22 czerwca 2006; Skierniewice, Polska*. Skierniewice: ISiK; 2006. s. 138–144.
31. Li J, Yang WQ, Lin W. Blueberries in China. In: Childers NF, Lyrene PM, editors. *Blueberries for growers, gardeners, promoters*. Gainesville: Norman F. Childers Horticultural Publications; 2006. p. 243–247.
32. Ермоленко АВ, Сивцова АД, Костина НВ. Сортовые особенности сроков созревания и урожайности ягод голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) в условиях восточной части Беларуси. *Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017;2:25–29.
33. Сачивко ТВ, Босак ВН. Сортовые особенности продуктивности интродуцированных сортов голубики. *Агропромышленные технологии Центральной России*. 2019;1:54–58. DOI: 10.24888/2541-7835-2018-11-54-58.
34. Биомолекула [Интернет]. Москва: Биомолтекст; 2007–2023. Периодичность плодоношения – что за странный феномен?; 31 октября 2014 г. [процитировано 6 июня 2022 г.]. Доступно по: <https://biomolecula.ru/articles/periodichnost-plodonosheniia-cto-za-strannyi-fenomen>.
35. Дрозд ОВ. Морфологические особенности плодов голубики разных сортов, интродуцированных в Белорусском Полесье. В: Самусь ВА, Матвеев ВА, Шмыглевская НА, Андрушкевич ТМ, Васеха ВВ, Гашенко ТА и др., редакторы. *Плодоводство. Том 28 = Fruit-growing. Volume 28*. Самохваловичи: [б. и.]; 2016. с. 237–249.
36. Сіленко ВО, Марченко СВ. Якісні та товарні ознаки ягід чорниці щиткової (*Vaccinium corymbosum* L.) в умовах Київської області. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2013;4:40–43. DOI: 10.21498/2518-1017.4(21).2013.56848.
37. Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений. *Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений*. Минск: [б. и.]; 2022. 283 с.
38. Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений [Интернет]. Минск: Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений; 2023. О внесении дополнений и изменений в государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений: приказ от 30 декабря 2022 г. № 82; [процитировано 27 февраля 2023 г.]. Доступно по: <http://sorttest.by/index.html>.

## References

1. Jagidnyk [Berryfield] [Internet]. Rivne: [s. n.]; 2017–2020. Stan rynku lohyny: Ukrai'na ta svit [The state of the blueberry market: Ukraine and the world]; 2022 January 4 [cited 2022 March 9]. Available from: <http://www.jagodnik.info/stan-rynku-lohyny-ukrayina-ta-svit>. Ukrainian.
2. Titok V, Veevnik A, Pavlovskiy N. [Highbush blueberry – a premium class innovative crop]. *Nauka i innovatsii*. 2012;6:25–27. Russian.
3. Reshetnikov VN. [Coordination and scientific support of work on the development of non-traditional industrial berry growing in Belarus]. In: Titok VV, Rupasova ZhA, Goncharova LV, Pavlovskiy NB, Lenkovets TI, Kuz'menkova SM, editors. *Experience and prospects of growing of unconventional berry plants in Belarus and neighbouring countries. Materials of the International scientific and practical seminar; 2021 September 28 – October 1; Minsk – Gantsevichi, Belarus*. Minsk: Medisont; 2021. p. 104–108. Russian.
4. Egorov EA. *Organizatsiya vosproizvodstva v promyshlennom plodovodstve* [Organisation of reproduction in industrial fruit growing]. Krasnodar: North Caucasian Zone Research Institute of Gardening and Viticulture; 2009. 267 p. Russian.
5. Drozd OV. Features fruit set highbush blueberry depending on the cultivar specifications and weather and climatic conditions. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022;1:70–80. Russian.
6. Sedov EN, Ogol'tsova TP, editors. *Programma i metodika sortoizucheniya plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur* [Program and methods cultivar fruit, berry and nut crops]. Orel: All-Russian Research Institute of Fruit Crops Breeding; 1999. 606 p. Russian.
7. Ananich IG, Bruilo AS, Baitasov RR. [The problem of the periodicity of fruiting and its quantitative expression]. In: Pestis VK, editor. *Sel'skoe khozyaistvo – problemy i perspektivy. Tom 1, chast' 1* [Agriculture – problems and prospects. Volume 1, part 1]. Hrodna: Grodno State Agrarian University; 2003. p. 55–58. Russian.
8. Smirnov VS. [Variability of biological phenomena and the coefficient of variation]. *Zhurnal obshchei biologii*. 1971;32(2): 152–162. Russian.
9. Batin NV. *Komp'yuternyi statisticheskiy analiz dannykh* [Computer statistical data analysis]. Minsk: Institute of the Training of Scientific Personnel, National Academy of Sciences of Belarus; 2008. 159 p. Russian.
10. Hardzei DV. Peculiarities of fruiting of low bush blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) in the four year old planting in the north of Belarus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian Sciences Series*. 2013;4:60–66. Russian.
11. Shutak VG, Marucci PE. Plant and fruit development. In: Eck P, Childers NF, editors. *Blueberry culture*. New Brunswick: Rutgers University Press; 1966. p. 179–198.
12. Bosak VN. [Experience in growing highbush blueberry in the conditions of the south of the Republic of Belarus]. In: Reshetnikov VN, Volod'ko IK, Getko NV, Kukhareva LV, Motyl' MM, editors. *Pryano-aromaticheskie i lekarstvennye rasteniya: perspektivy introduktsii i ispol'zovaniya. Materialy dokladov mezhdunarodnoi konferentsii; 31 maya – 2 iyunya 1999 g.; Minsk, Belarus'* [Spicy-aromatic and medicinal plants: prospects for introduction and use. Materials of reports of the International conference; 1999 May 31 – June 2; Minsk, Belarus]. Minsk: [s. n.]; 1999. p. 11–12. Russian.
13. Prikhod'ko SL. [Yield of *Vaccinium covilleianum* But. et Pl. cultivars]. In: *Promyshlennaya botanika: sostoyanie i perspektivy razvitiya. Materialy VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii; 17–19 maya 2017 g.; Donetsk, Donetskaya Narodnaya Respublika* [Industrial botany: state and development prospects. Materials of the 7<sup>th</sup> International scientific conference; 2017 May 17–19; Donetsk, Donetsk People's Republic]. Rostov-on-Don: Al'tair; 2017. p. 356–358. Russian.
14. Pavlovskiy NB. Fruiting of varieties of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in Belarus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Series*. 2018;63(4):486–499. Russian. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-4-486-499.
15. Kurlovich TV. [Periodicity of fruiting of varietal blueberries in the reproductive phase of ontogenesis]. In: Titok VV, Anisimova EI, Anoshenko BYu, Belomesetseva DB, Belyi PN, Bychkova EI, et al., editors. *Problemy sokhraneniya biologicheskogo raznoobraziya i ispol'zovaniya biologicheskikh resursov. Materialy III Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 110-letiyu so dnya rozhdeniya akademika N. V. Smol'skogo; 7–9 oktyabrya 2015 g.; Minsk, Belarus'. Chast' 1* [Problems of conservation of biological diversity and use of biological resources. Materials of the 3<sup>rd</sup> International scientific and practical conference dedicated to the 110<sup>th</sup> anniversary of the birth of academician N. V. Smol'sky; 2015 October 7–9; Minsk, Belarus. Part 1]. Minsk: Konfido; 2015. p. 417–419. Russian.
16. Kurlovich TV. [Varieties of blueberries, promising for industrial cultivation]. *Nashe sel'skoe khozyaistvo. Agronomiya*. 2021; 11:143–146. Russian.
17. Dierend W, Bier-Kamotzke A. Ertragsleistung von Kulturheidelbeersorten. *Erwerbs-Obstbau*. 1999;41(1):18–25.
18. Taylor S. Oczekiwania brytyjskich odbiorców borówek. W: *Konferencja borówkowa 2013. Szanse i zagrożenia; 15 marca 2013; Michałowice, Polska*. Kraków: Hortus Media; 2013. s. 66–73.
19. Smolarz K, Chlebowska D, Krzewińska D, Koziński B. Przegląd badań nad oceną odmian borówki wysokiej prowadzonych od 1978 roku w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach. W: *Uprawa borówki i żurawiny (z elementami ekologii). Międzynarodowa konferencja naukowa; 19–22 czerwca 2006; Skierniewice, Polska*. Skierniewice: ISiK; 2006. s. 21–30.
20. Jabłoński B, Król S, Pliszka R, Żurawska Z. Nektarowanie i zapylenie borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). *Pszczelnictwo Zeszyty Naukowe*. 1983;27:91–109.
21. Smolarz K. Wzrost i plonowanie 12 odmian borówki wysokiej w środkowej części Polski. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 1997;4:97–109.
22. Koziński B. Wzrost i plonowanie kilku nowych odmian borówki wysokiej w latach pełnego owocowania. W: *Uprawa borówki i żurawiny (z elementami ekologii). Międzynarodowa konferencja naukowa; 19–22 czerwca 2006; Skierniewice, Polska*. Skierniewice: ISiK; 2006. s. 31–37.
23. Smolarz K. *Uprawa borówki i żurawiny*. Warszawa: Hortpress; 2003. 212 s.
24. Chlebowska D, Smolarz K. Ocena wartości gospodarczej kilku nowych odmian borówki wysokiej w centralnej Polsce. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 2004;12:163–172.
25. Seliga Ł, Pluta S. Wstępna ocena wzrostu i plonowania wybranych odmian borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). *Zeszyty Naukowe Instytutu Ogrodnictwa*. 2017;25:105–114.

26. Rozpara E, Wodzyńska H. Wczesne odmiany borówki w doświadczeniach Instytutu Ogrodnictwa. W: *Nowoczesna uprawa borówki: borówkowe wyzwania. Materiały z VI Międzynarodowej konferencji borówkowej; 1–2 marca 2018; Ożarów Mazowiecki, Polska*. Kraków: Hortus Media; 2018. s. 171–180.

27. Šterne D, Liepniece M. Preliminary observations of phenology development, yield and yield quality of some highbush blueberry cultivars in Latvia. In: *Research for rural development 2010. Annual 16<sup>th</sup> International scientific conference proceedings; 2010 May 19–21; Jelgava, Latvia. Volume 1*. Jelgava: [s. n.]; 2010. p. 60–64.

28. Atroshchenko GP, Koshman AI, Shchegoleva KV. [Productivity and quality of tall blueberry berries in the conditions of the Leningrad Region]. *Vestnik studencheskogo nauchnogo obshchestva*. 2018;9(1):87–89. Russian.

29. Asaeva TJ, Gazdanov AV. [Influence of fertilizers on the yield of blueberries in the forest-steppe zone of North Ossetia – Alania. In: *Sostoyanie i perspektivy razvitiya agropromyshlennogo kompleksa yuga Rossii. Materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (s mezhdunarodnym uchastiem); 11–13 noyabrya 2020 g.; Maikop, Rossiya* [Status and prospects for the development of the agro-industrial complex in the south of Russia. Materials of the All-Russian scientific and practical conference (with international participation); 2020 November 11–13; Maikop, Russia]. Maikop: [s. n.]; 2020. p. 209–212. Russian.

30. Paprstein F, Ludvikova J. Wstępne wyniki oceny odmian borówki wysokiej w Holovousach. W: *Uprawa borówki i żurawiny (z elementami ekologii). Międzynarodowa konferencja naukowa; 19–22 czerwca 2006; Skierniewice, Polska*. Skierniewice: ISiK; 2006. s. 138–144.

31. Li J, Yang WQ, Lin W. Blueberries in China. In: Childers NF, Lyrene PM, editors. *Blueberries for growers, gardeners, promoters*. Gainesville: Norman F. Childers Horticultural Publications; 2006. p. 243–247.

32. Ermolenko AV, Sivtsova AD, Kostina NV. Variety features of ripening and productivity terms of tall blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in the conditions of the eastern part of Belarus. *Bulletin of the Belarusian State Agricultural Academy*. 2017;2:25–29. Russian.

33. Sachyuka TV, Bosak VN. Varietal features of productivity of introduced varieties of blueberries. *Agro-industrial Technologies of Central Russia*. 2019;1:54–58. Russian. DOI: 10.24888/2541-7835-2018-11-54-58.

34. Biomolekula [Biomolecule] [Internet]. Moscow: Biomoltekst; 2007–2023. Periodichnost' plodonosheniya – chto za strannyi fenomen? [The frequency of fruiting – what a strange phenomenon?]; 2014 October 31 [cited 2022 June 6]. Available from: <https://biomolecula.ru/articles/periodichnost-plodonosheniia-chto-za-strannyi-phenomen>. Russian.

35. Drozd OV. Fruit morphological characteristics of different highbush blueberry cultivars introduced in Belarusian Polesie. In: Samus VA, Matveyev VA, Shmiglevskaya NA, Andrushkevich TM, Vasekha VV, Gashenko TA, et al., editors. *Fruit-growing. Volume 28*. Samokhvalovich: [s. n.]; 2016. p. 237–249. Russian.

36. Silenko VO, Marchenko SV. Quality and marketable characteristics of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) under the Kyiv Region conditions. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2013;4:40–43. Ukrainian. DOI: 10.21498/2518-1017.4(21).2013.56848.

37. State Inspection for Testing and Protection of Plant Varieties. *Gosudarstvennyi reestr sortov sel'skokhozyaistvennykh rastenii* [State register of agricultural plant varieties]. Minsk: [s. n.]; 2022. 283 p. Russian.

38. Gosudarstvennaya inspektsiya po ispytaniyu i okhrane sortov rastenii [State Inspection for Testing and Protection of Plant Varieties]. Minsk: State Inspection for Testing and Protection of Plant Varieties; 2023. O vnesenii dopolnenii i izmenenii v gosudarstvennyi reestr sortov sel'skokhozyaistvennykh rastenii: prikaz ot 30 dekabrya 2022 g. № 82 [On making additions and changes to the state register of agricultural plant varieties: order dated 2022 December 30 No. 82]; [cited 2023 February 27]. Available from: <http://sorttest.by/index.html>. Russian.

Получена 04.07.2022 / исправлена 21.09.2022 / принята 12.10.2022.  
Received 04.07.2022 / revised 21.09.2022 / accepted 12.10.2022.

---

---

# ЮБИЛЕИ

---

## JUBILEES

---

---

Владимир Адамович  
КУЛЬЧИЦКИЙ

Vladimir Adamovich  
KUL'CHITSKII



Выдающемуся отечественному физиологу, академику НАН Беларуси, доктору медицинских наук, профессору Владимиру Адамовичу Кульчицкому 6 марта 2023 г. исполняется 75 лет.

Сын военнослужащего, Владимир Адамович с детства привык часто менять место проживания, быстро входить в новый коллектив, бережно относиться к сложившимся там условиям и адаптироваться к ним. Среднее и высшее образование В. А. Кульчицкий получил в РСФСР. В 1972 г. он с отличием окончил Куйбышевский медицинский институт. Еще студентом Владимир Адамович активно включился в серьезную научную деятельность, поэтому основной его профессией стала наука. Однако сразу после института он по распределению уехал работать травматологом в шарьинскую районную больницу Костромской области. Спустя три года В. А. Кульчицкий вернулся в Куйбышев, где занял должность старшего лаборанта кафедры физиологии медицинского института, которой руководил член-корреспондент Академии медицинских наук СССР, специалист мирового уровня в области регуляции дыхательной и сердечно-сосудистой систем М. В. Сергиевский. Параллель-

но Владимир Адамович продолжал работу врачом скорой помощи.

Кандидатскую диссертацию В. А. Кульчицкий защитил очень быстро, не обучаясь в аспирантуре. Ученая степень была присуждена ему за сложнейшее в методическом отношении исследование природы центрального апноэ во сне и предложенную тактику терапии. Разработанная Владимиром Адамовичем методика оперативного доступа к глубоким структурам ствола мозга с вентральной стороны и манипуляции с микроциркуляторным руслом в этой области мозга позволили обнаружить рецепторы, реагирующие на содержание углекислого газа, и связать показатель содержания углекислого газа с деятельностью дыхательного центра. Статья, в которой были опубликованы результаты данного исследования, стала первой работой В. А. Кульчицкого, получившей большое количество цитирований в отечественных и зарубежных изданиях. В 1979 г. Владимир Адамович стал лауреатом премии Ленинского комсомола за разработку проблемы бульбарных механизмов генерации дыхательного ритма, получив таким образом высочайшее признание в СССР. Кроме того, В. А. Кульчицкий

проходил стажировки в Институте физиологии имени И. П. Павлова РАН, в лаборатории академика Б. И. Ткаченко, работал над докторской диссертацией и ее защитой.

В жизни юбиляра начался новый этап после приезда в Минск и зачисления в штат Института физиологии Академии наук БССР (в 1991–1997 гг. – Академия наук Беларуси, в настоящее время – Национальная академия наук Беларуси). В сравнительно короткое время Владимир Адамович стал ведущим ученым этого института: с 1989 г. являлся научным сотрудником, старшим научным сотрудником, с 1991 г. – заведующим лабораторией, с 2006 г. – заместителем директора по научной и инновационной работе.

Как указывается в библиографических источниках, Владимир Адамович исследовал центральные механизмы формирования ноцицептивных рефлексов, процессы структурной и функциональной реорганизации нейронных сетей мозга. Ученый доказал, что функциональное состояние клеток вентролатеральных отделов продолговатого мозга является определяющим фактором для генерации дыхательного ритма и формирования симпатизирующих влияний, регулирующих тонус кровеносных сосудов и сердца. Совместно с учеными Института В. Г. Керкхоффа (Германия) В. А. Кульчицкий экспериментально подтвердил модулирующее влияние простагландинов на термочувствительность нейронов переднего гипоталамуса, что позволило обосновать концепцию об участии простагландинов в механизмах нейрональной пластичности. Владимир Адамович обнаружил в продолговатом мозге группы нервных клеток, которые вовлекаются в механизмы нормализации кровяного давления при артериальной гипертензии и регуляции болевой чувствительности; изучил центральные механизмы синдрома внезапной смерти; разработал методы оценки эффективности терапевтических приемов в условиях клиники, в частности предотвращения деструктивных процессов в стволе головного мозга после повреждения веточек тройничных или блуждающих нервов, оптимизации положительных терапевтических эффектов физических факторов, профилактики аритмий сердца, моделирования

межнейронных коммуникаций, изучения функциональных особенностей нервной системы у детей и подростков, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях Белорусского Полесья.

Под руководством В. А. Кульчицкого создан и успешно функционирует Центр мозга при Институте физиологии НАН Беларуси, интегрирующий усилия ученых разных ведомств и учреждений по ключевым нейрофизиологическим направлениям, включая многочисленные проекты в рамках государственных программ научных исследований, и иным формам междисциплинарного комплексирования.

Владимир Адамович – автор более 350 научных работ, в том числе 9 монографий и 18 патентов. Им написаны руководства по физиологии, многочисленные методические статьи для студентов и магистрантов, разработана программа спецкурса «Физиология витальных центров ствола головного мозга». Более 30 лет В. А. Кульчицкий преподает на кафедре физиологии человека и животных БГУ, в настоящее время он является председателем государственной экзаменационной комиссии на биологическом факультете.

Под руководством академика В. А. Кульчицкого защищены 3 докторские, более 20 кандидатских и 15 магистерских диссертаций и дипломных работ. Неформально он руководил исследованиями многочисленных соискателей ученой степени, занимая должность председателя и заместителя председателя совета по защите диссертаций при Институте физиологии НАН Беларуси и являясь членом экспертных советов Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь, редакционных коллегий и редакционных советов многочисленных отечественных и зарубежных научных журналов медико-биологического профиля.

Сотрудники биологического факультета БГУ и коллектив редколлегии журнала «Экспериментальная биология и биотехнология» сердечно поздравляют Владимира Адамовича с юбилеем и желают ему творческих успехов, новых благодарных учеников, плодотворной научной работы, крепкого здоровья и счастья.

А. Г. Чумак<sup>1</sup>, А. В. Сидоров<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Анатолій Георгіевіч Чумак – доктор біялагічных навук, прафесар; заведуючы кафедрай фізіялогіі чалавека і жывотных біялагічнага факультэта Беларускага дзяржаўнага ўніверсітэта.

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

<sup>2</sup>Александр Віктаравіч Сідоров – доктор біялагічных навук, прафесар; прафесар кафедры фізіялогіі чалавека і жывотных біялагічнага факультэта Беларускага дзяржаўнага ўніверсітэта.

Alexander V. Sidorov, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology, Belarusian State University.

E-mail: sidorov@bsu.by

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

*УДК 577.16(075.8)*

*Орёл Н. М. Биохимия витаминов* [Электронный ресурс] : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 1-31 80 11 «Биохимия» профилизации «Фундаментальная и прикладная биохимия» / Н. М. Орёл ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2022. 116 с. : ил. Библиогр.: с. 114–116. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/289950>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 28.11.2022, № 010828112022.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов магистратуры специальности 1-31 80 11 «Биохимия». Содержание ЭУМК предполагает формирование у студентов целостной системы современных представлений о строении, индивидуальных свойствах, биохимических функциях, взаимодействии витаминов и их роли в функционировании живых систем.

*УДК 502/504(075.8)*

*Гричик В. В. Энвайронментология* [Электронный ресурс] : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 1-31 80 01 «Биология» профилизации «Функциональная биология» / В. В. Гричик, Т. А. Макаревич ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2022. 82 с. : ил., табл. Библиогр.: с. 80–82. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/290589>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 13.12.2022, № 012413122022.

Электронный учебно-методический комплекс, предназначенный для студентов специальности 1-31 80 01 «Биология» профилизации «Функциональная биология», включает в себя следующие разделы: теоретический, контроля знаний и вспомогательный, содержащий учебно-программные материалы и список рекомендованной литературы. Курс «Энвайронментология» предполагает формирование у студентов магистратуры целостной системы современных знаний об окружающей среде, обеспечивающих возможности их практического использования и развития новых направлений исследований.

*УДК 612(075.8)+591.1(075.8)*

*Физиология человека и животных* [Электронный ресурс] : электрон. учеб.-метод. комплекс для студентов спец. 1-31 01 01-03 «Биология (биотехнология)» / БГУ ; сост.: Д. Б. Сандаков [и др.]. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2022. 137 с. Библиогр.: с. 136–137. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/292069>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 17.01.2023, № 000617012023.

Содержание электронного учебно-методического комплекса направлено на овладение студентами основами знаний в области физиологии человека и животных.

## СОДЕРЖАНИЕ

### КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

- Пархимович О. Г., Бичан О. Д., Буланова К. Я.* Постлучевые изменения концентрации цитоплазматического кальция в тромбоцитах, активированных АДФ и тромбином ..... 4
- Дмитриев В. В., Русакова Т. Г., Мачулин А. В., Фарофонова В. В., Звонарев А. Н.* Возникновение специфических инвагинаций (эйзосом) в цитоплазматической мембране дрожжей как результат секреторных процессов: новая версия ..... 14

### БИОХИМИЯ

- Яцкевич Е. В., Джавад М., Федорович С. В.* Влияние пропионовой и масляной кислот на перекисное окисление липидов в гомогенатах мозга и печени крыс ..... 26

### БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

- Мухаметшина А. С., Мигас А. А., Клыч А. В., Ласюков Е. А., Шман Т. В.* Получение новых фидерных клеточных линий, экспрессирующих мембранно-связанные формы ИЛ-12 и ИЛ-18, для улучшения противоопухолевых свойств естественных киллерных клеток ..... 33

### БИОРАЗНООБРАЗИЕ

- Карманова В. В., Шабашова Т. Г., Гигиняк Ю. Г., Синявская М. Г.* Особенности видового состава грибов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс» (Восточная Антарктида) ..... 41
- Антонович А. О.* Таксономический анализ агарикоидных базидиомицетов Национального парка «Беловежская пуща» в сборах гербария MSK-F ..... 47

### ЭКОЛОГИЯ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ

- Дрозд О. В.* Плодоношение новых сортов голубики, интродуцированных в Беларуси ..... 65

### ЮБИЛЕИ

- Владимир Адамович Кульчицкий ..... 77
- Аннотации депонированных в БГУ работ ..... 79

## CONTENTS

### CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

- Parkhimovich O. G., Bichan O. D., Bulanova K. Ya.* Post-radiation changes of cytoplasmatic calcium concentration in platelets activated by ADP and thrombin ..... 4
- Dmitriev V. V., Rusakova T. G., Machulin A. V., Farofonova V. V., Zvonarev A. N.* The occurrence of specific invaginations (eizosomes) in the yeast cytoplasmic membrane as a result of secretory processes: a new version..... 14

### BIOCHEMISTRY

- Yatskevich E. V., Jawad M., Fedorovich S. V.* Influence of propionic and butyric acids on lipid peroxidation in rat brain and liver homogenates..... 26

### BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

- Mukhametshyna N. S., Migas A. A., Klych H. V., Lasiukov Y. A., Shman T. V.* Obtaining new feeder cell lines expressing membrane-bound forms of IL-12 and IL-18 to improve the anti-tumor properties of natural killer cells ..... 33

### BIODIVERSITY

- Karmanova V. V., Shabashova T. G., Giginyak Yu. G., Sinyavskaya M. G.* Features of the species composition of fungi on plant and animal substrates of the Progress station (East Antarctica) ..... 41
- Antonovich A. O.* Taxonomical analysis of agaricoid basidiomycetes from the National Park «Belovezhskaya Pushcha» in MSK-F herbarium collections..... 47

### ECOLOGY AND CONSERVANCY

- Drozd O. V.* Fruiting of new blueberry cultivars introduced in Belarus ..... 65

### JUBILEES

- Vladimir Adamovich Kul'chitskii ..... 77
- Indicative abstracts of the papers deposited in BSU..... 79

*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).*

**Экспериментальная биология  
и биотехнология.  
№ 1. 2023**

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](mailto:jbiol@bsu.by)

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

«Экспериментальная биология  
и биотехнология» издается с января 1969 г.  
С 1969 по 2016 г. выходил под названием «Вестник БГУ.  
Серия 2, Химия. Биология. География»,  
с 2017 по 2021 г. – под названием  
«Журнал Белорусского государственного  
университета. Биология».

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

Подписано в печать 28.02.2023.

Тираж 85 экз. Заказ 48.

Республиканское унитарное предприятие  
«Издательский центр Белорусского  
государственного университета».  
ЛП № 02330/117 от 14.04.2014.  
Ул. Красноармейская, 6, 220030, г. Минск.

© БГУ, 2023

**Experimental Biology  
and Biotechnology.  
No. 1. 2023**

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](mailto:jbiol@bsu.by)

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

«Experimental Biology and Biotechnology»  
published since January, 1969.  
From 1969 to 2016 named «Vestnik BGU.  
Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya»,  
from 2017 to 2021 named «Journal of the Belarusian  
State University. Biology».

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

Signed print 28.02.2023.

Edition 85 copies. Order number 48.

Republic Unitary Enterprise  
«Publishing Center of the Belarusian State University».  
License for publishing No. 02330/117, 14 April, 2014.  
6 Ćyrvonaarmiejskaja Str., Minsk 220030.

© BSU, 2023