



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

2024

МИНСК
БГУ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор **ДЕМИДЧИК В. В.** – доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси, 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.
Валентювич 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.
Киљчевский 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.
Стрѣжалка К. Ягеллонский университет, Краков, Польша.
Тихомиров В. Н. Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
Усанов С. А. Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.
Чубанов В. С. Институт фармакологии и токсикологии им. Вальтера Штрауба Мюнхенского университета им. Людвига и Максимилиана, Мюнхен, Германия.
Шабали 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.**, doctor of science (biology), corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, 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. Institute of Bioorganic Chemistry of the 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.

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

REVIEWS

УДК 576.3::60:577.352.2

ИСКУССТВЕННЫЕ КЛЕТКИ КАК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ УСТРОЙСТВА, ИМИТИРУЮЩИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРИРОДНЫХ КЛЕТОК

Т. А. ГАПЕЕВА¹⁾

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

Термин «искусственная клетка» широко используется в научных кругах, однако его трактовка неоднозначна. Первоначальное понятие об искусственной клетке связано с идеей замены функций природных клеток по аналогии с трансплантацией органов, а не воссоздания живой клетки. В настоящее время исходное понятие не охватывает все многообразие объектов синтетической биологии, определяемых как искусственные (синтетические) клетки. Создание искусственных клеток преследует три основные цели, связанные с исследованием вопроса о происхождении жизни, изучением биологии клетки и решением практических задач во многих областях научной и практической деятельности, прежде всего в медицине. В рамках используемого в науке редуccionистского подхода искусственные клетки можно разделить на две основные группы по способу их получения: клетки *bottom-up* (созданы по принципу «от простого к сложному») и клетки *top-down* (созданы по принципу «от сложного к простому»). В данной обзорной статье рассматриваются конструирование и применение таких клеток *bottom-up*, которые можно определить как биотехнологические устройства для имитации параметров природных клеток, используемые прежде всего в многочисленных практических приложениях.

Ключевые слова: искусственная клетка; биотехнология; синтетическая биология; клеточные мембраны; имитация природных клеток.

Образец цитирования:

Гапеева ТА. Искусственные клетки как биотехнологические устройства, имитирующие параметры природных клеток. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024; 1:4–18. EDN: DVGZAK

For citation:

Gapeeva TA. Artificial cells as biotechnological devices that mimic the parameters of natural cells. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024; 1:4–18. Russian. EDN: DVGZAK

Автор:

Тамара Александровна Гапеева – кандидат биологических наук, доцент; старший научный сотрудник лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки.

Author:

Tamara A. Gapeeva, PhD (biology), docent, senior researcher at the laboratory of biophysics and biochemistry of plant cell. tamaralex@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5559-2689>

ARTIFICIAL CELLS AS BIOTECHNOLOGICAL DEVICES THAT MIMIC THE PARAMETERS OF NATURAL CELLS

T. A. GAPEEVA^a

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

The term «artificial cell» is widely used in scientific circles, but its understanding is ambiguous. The original concept of an artificial cell related to the idea of replacing the functions of natural cells by analogy with organ transplantation, rather than to recreate a living cell. Currently, the original concept does not encompass the entire variety of synthetic biology objects defined as artificial (synthetic) cells. The creation of artificial cells pursues three main goals related to the research of the question of the origin of life, the study of cell biology and the solution of practical problems in many fields, most notably medicine. Within the framework of reductionist approach used in science, artificial cells can be divided into two groups according to the way they are obtained: bottom-up cells (created according to the principle «from simple to complex») and top-down cells (created according to the principle «from complex to simple»). This review focuses on the bottom-up development and application of such cells, which can be defined as biotechnological devices that mimic the parameters of natural cells for use primarily in numerous practical applications.

Keywords: artificial cell; biotechnology; synthetic biology; cell membranes; natural cells mimicking.

Введение

С момента обнаружения одноклеточных микроорганизмов Р. Гуком в 1665 г. [1] клетки изучаются уже несколько столетий. В соответствии с клеточной теорией, сформулированной М. Я. Шлейденом, Т. Шванном и Р. Вирховым к середине XIX в., живые организмы состоят из одной и более клеток, которые являются их основной структурной и организационной (функциональной) единицей и происходят из ранее существовавших клеток [2]. В настоящее время обсуждение клеточной теории продолжается, так как дискуссия о том, что такое жизнь на биологическом уровне, остается открытой.

Исследования в области искусственных клеток обусловлены необходимостью решения трех классов задач. Первый класс задач, связанный с вопросом о происхождении жизни, был давним стимулом для создания искусственных протоклеток. Второй класс задач предполагает изучение биологии клетки путем проведения исследований на упрощенных моделях. Третий класс задач предусматривает создание биотехнологических устройств, запрограммированных на выполнение полезных функций на клеточном уровне.

Термины «искусственная клетка» и «синтетическая клетка» используются как взаимозаменяемые. Существуют разногласия в трактовке понятия «искусственная (синтетическая) клетка» различными исследовательскими группами. Идея искусственной клетки, предложенная канадским ученым-медиком Т. М. С. Чангом в 1957 г., изначально предполагала создание искусственных клеток для замены природных клеток и была призвана стимулировать конструирование очень простых систем для практического применения на основе имеющихся базовых знаний о природной клетке (прежде всего в медицине), а не воспроизводить природную живую клетку [3]. В 1957 г. Т. М. С. Чанг создал первую искусственную клетку с полимерной мембраной на основе коллодия, которая инкапсулировала гемоглобин и ферменты эритроцитов [4]. Впоследствии Т. М. С. Чанг предложил понимать под термином «искусственная клетка» не конкретный физический объект, а концепцию, позволяющую объединить множество структур, создаваемых в рамках синтетической биологии [5]. По его мнению, искусственными клетками можно считать не только микро- и наноструктуры, но и макроструктуры, а также структуры молекулярных размеров. Каждому размеру соответствует неограниченное количество конфигураций.

Первые искусственные клетки представляли собой контейнеры клеточных размеров, инкапсулирующие биоактивные субстанции (ферменты и генетические последовательности), которые придают капсуле бионические свойства. Инкапсулирование защищало содержимое капсулы от прямого взаимодействия с компонентами внеклеточной среды – лейкоцитами, антителами и триптическими (расщепляющими) ферментами. Мембраны клеток были полупроницаемыми и обеспечивали возможность поглощать и выделять необходимые субстанции. С применением данного простого подхода были получены искусственные клетки для гемоперфузии, что стимулировало создание более сложных синтетических конструкций, в частности, для лечения диабета и ферментной терапии наследственных заболеваний.

К 2004 г. определились такие направления применения искусственных клеток, как клеточная терапия с использованием микроинкапсулированных природных и генно-модифицированных клеток и доставка лекарств. Если первые искусственные клетки представляли собой микрокапсулы, то позже были сконструированы, например, наноразмерные заменители эритроцитов [6]. Так как при создании каждой конфигурации требовалась новая терминология, то научная область, предметом изучения которой является искусственная клетка, стала весьма запутанной для новичков [7; 8].

Точные атрибуты, в соответствии с которыми конструкция может считаться искусственной клеткой, все еще обсуждаются. Важно отметить, что концепция искусственной клетки Чанга не требует, чтобы создаваемая структура соответствовала природным биологическим клеткам на основе углерода [9]. Некоторые ученые считают искусственными клетками любой набор функциональных биологически значимых молекул, заключенных в капсулы клеточных размеров. Другие исследователи подчеркивают необходимость имитировать клеточное поведение, которое считается отличительной чертой жизни. К числу спорных также относятся вопросы о том, является ли включение геномных компонентов обязательным условием, должны ли искусственные клетки состоять из строительных блоков, полученных биологическим путем, или достаточно морфологического сходства [10]. Набор свойств, которыми должна обладать «живая» искусственная клетка, точно не установлен, однако существует концепция минимальной жизни, определяющая минимальный набор функций клетки, необходимых для выживания. Для описания минимальной жизни часто используется, например, модель хемотона, предложенная венгерским биологом-теоретиком Т. Ганти [11]. Согласно данной модели объект, обладающий химической системой границ, химической информационной системой и самовоспроизводящимся химическим двигателем (метаболизмом), может считаться «живым». Кроме того, для выживания вида необходимы рост и воспроизводство. Наконец, для сохранения жизни в динамичной среде первостепенное значение имеет адаптивность.

Возможно, самые строгие определения – это те определения, которые классифицируют искусственные («живые») клетки только как полностью автономные, автопоэтические, самоподдерживающиеся, воспроизводящиеся и развивающиеся биохимические микросистемы [10]. На пути создания «живых» искусственных клеток стоят трудности компартиментализации, репликации, обеспечения процессов роста и развития, обработки информации и превращения энергии, коммуникации с внешним окружением, построения коммуникативных клеточных сетей, деления, движения, способности к эволюции и др. Дополненная концепция Чанга, как и первоначальная, ориентирована в большей степени на практическое применение искусственных клеток, и поэтому вопрос о том, должна ли быть создаваемая клетка «живой», не является принципиальным. Тем не менее в данной концепции есть место и «живым» искусственным клеткам. Таким образом, понятие об искусственной клетке в рамках концепции Чанга является достаточно универсальным, требующим лишь уточнения конкретного типа клетки, которая создается теми или иными научными группами.

Искусственная клетка выступает объектом бурно развивающейся в настоящее время синтетической биологии. В контексте данного направления искусственная (синтетическая) клетка – это клетка неестественного происхождения, полученная либо путем модификации уже существующей клетки (от сложного к простому, т. е. сверху вниз (*top-down*)), либо путем сборки устройств, имитирующих или дополняющих свойства и функции живой клетки (от простого к сложному, т. е. снизу вверх (*bottom-up*)) [12]. Подход *top-down* изначально предполагает создание «живых» клеток. В рамках подхода *bottom-up* конструируемые клетки могут и не быть «живыми», однако создание «живой» клетки, тесно связанной с понятием «протоклетка», остается важнейшей задачей и для данного подхода. Стремление к получению искусственных клеток, максимально приближенных к природным клеткам по поведению и функциям, стимулировало также появление клеточной бионики, в которой границы между живой и неживой материей размыты за счет соединения подходов *top-down* и *bottom-up* [12].

Искусственные клетки могут определяться как типичные и нетипичные. Типичные искусственные клетки структурно схожи с природными. Они обладают функциями, соответствующими биологическим процессам в живых клетках, включая метаболизм материалов и энергии, самостоятельный рост, репродукцию и даже эволюцию [13–15]. Конструирование нетипичных искусственных клеток не имеет ограничений по соответствию структуре и функциям природных клеток [16]. Предлагается также разделять искусственные и неинкапсулированные генно-модифицированные клетки [17], которые, однако, тоже созданы искусственно [18].

Таким образом, словосочетание «искусственная (синтетическая) клетка» широко используется, но требует уточнения в каждом конкретном случае в связи с неоднозначностью понимания этого термина различными исследовательскими группами. В целом редукционистский подход к концепции искусственной клетки, заключающийся в создании структурно и функционально упрощенных моделей, удобен для решения как исследовательских, так и прикладных задач в области клеточной биологии и инженерии.

Следует отметить, что в данной работе не рассматривается создание искусственных клеток с использованием методов синтетической геномики [19]. Настоящий обзор посвящен направлению по конструированию клеток *bottom-up*, начало которому было положено Т. М. С. Чангом. Подобные упрощенные модели – имитаторы клеточных параметров представляют собой биотехнологические устройства для решения задач в различных областях, включая прежде всего медицину, клеточную биологию и др.

Конструирование клеток *bottom-up*

В рамках подхода *bottom-up* в большинстве случаев используются искусственные мембранные структуры (в том числе полученные из природных клеточных мембран) [20]. Основными из них являются липосомы, полимеросомы, липидно-полимерные везикулы, неорганические коллойдосомы, металлоорганические каркасы, коацерваты, природные биологические мембраны [17]. Кроме того, при создании каркасов могут применяться структуры из сшитых белков, ДНК-оригами, а также реакции пегилирования, конъюгации и др. [21]. Компонентами искусственных клеток могут быть компартменты, цитозоль, органеллы, магнитные материалы, адсорбенты, серебро, золото, ДНК, мРНК, гормоны, ферменты, гемоглобин, инсулин и другие белки, пептиды, гены, в том числе для генной терапии, вакцины, лекарственные средства химического происхождения, природные клетки, стволовые клетки, генно-модифицированные клетки, микроорганизмы, биотехнологические продукты и т. д. [8].

Липидные везикулы (липосомы) были исторически первым материалом, используемым для получения искусственных клеток [4]. Липосома – это замкнутая полая сфера из липидного бислоя, способная к инкапсуляции водных растворов. Монослойные липидные везикулы подразделяются на гигантские однослойные везикулы (GUVs) с диаметром более 1 мкм, большие однослойные везикулы (LUVs) с диаметром от 100 нм до 1 мкм и небольшие однослойные везикулы (SUVs) с диаметром менее 100 нм. Липосомы используются для имитации разнообразных биологических форм – от эукариотических клеток до бактериальных органелл. Для получения искусственных клеток наиболее часто применяются GUVs из-за их соответствия по размеру природным клеткам. Многослойные липидные везикулы (MLVs) состоят из нескольких слоев липидов или полимеров, окруженных мультивезикулярными частицами (MVVs) [22]. В свою очередь, MVVs состоят из SUVs или LUVs, инкапсулированных в GUVs в качестве органелл, и используются для организации компартментов [23]. Получение GUVs осуществляют с помощью следующих методов [17]: мягкой гидратации и формирования частиц в электрическом поле [24], обращения фаз (переноса между фазами) [25], микрофлюидики (микрогидродинамики) [26; 27]. Для создания LUVs применяют разнообразные методы, в том числе метод впрыска растворителя, метод испарения с обращением фаз, метод солюбилизации детергентами с последующим диализом [17]. Способы получения SUVs включают обработку ультразвуком и экструзию под давлением.

К фосфолипидам липосом могут быть добавлены специфические мембранные белки для исследования соответствующих функций клеток, таких как биологическая активность питательных веществ и отходов [28], внутриклеточная сигнальная трансдукция [29], межклеточные взаимодействия [30; 31], активность генов и эволюционные механизмы [32]. Для стабилизации структуры липидные везикулы обогащаются экстрактами природных мембран, состоящими из липидов, белков, сахаров и других компонентов. Среди достижений в области искусственных клеток с липидными мембранами можно отметить получение в 2019 г. клетки с мембраной из GUVs с включением аденозинтрифосфат-синтазы (АТФ-синтазы) и двух конвертирующих свет белков [33]. Искусственная мембрана инкапсулировала липиды и фотосинтетические органеллы, которые активировались светом, при этом оптический контроль полимеризации актина приводил к изменению морфологии искусственных клеточных везикул. Система успешно осуществляла две АТФ-зависимые реакции – фиксацию углерода и полимеризацию актина.

Наличие таких основных недостатков липидных структур, как низкая стабильность и жесткие условия при проведении химической модификации, стимулировало исследователей к использованию амфифильных блок-сополимеров для сборки полимеросом, в том числе гигантских [34; 35]. Полимеросомы, как и липосомы, формируют бислойную сферическую структуру с жидкостью внутри. Для получения клеточных мембран широко применяются натуральные полимерные материалы (например, хитозан и его производные, глюкоманнан, целлюлоза) и синтетические органические полимеры (например, альгинат-полилизин-альгинат натрия) [36; 37]. К полимерным материалам могут быть добавлены различные типы функциональных белков, такие как ионные каналы и ферменты для имитации функций природных мембран [38–41]. Для более полной реализации преимуществ того или иного материала также используются смешанные липидно-полимерные везикулы, наноконъюгаты белков и полимеров [16; 42–45]. Применение различных типов материалов позволяет регулировать проницаемость мембран, что было продемонстрировано, в частности, при использовании нейлона для обертки клеток [3]. Одним из интересных подходов является применение природных биологических мембран для покрытия синтетических полимерных поверхностей [34].

Липиды и органические полимеры имеют недостатки (нестабильность при тепловых и механических воздействиях, сложности в регуляции проницаемости), ограничивающие практические приложения искусственных мембран из данных материалов. В результате важное место среди материалов для конструирования мембран искусственных клеток заняли неорганические коллоидосомы, которые образуются в основном путем самосборки коллоидных частиц в двухфазной системе вода – масло с использованием микрофлюидики [46–55]. Коллоидосомы представляют собой микрокапсулы, покрытые оболочкой из плотноупакованных однослойных коллоидных частиц, которые могут быть дополнительно соединены между собой для обеспечения переноса коллоидосом в водную фазу [56]. Размер, проницаемость и механическая жесткость коллоидосом тщательно контролируются. Кроме того, неорганические мембраны легко поддаются химической модификации. Первая примитивная неорганическая модель клетки, созданная в 2011 г., имела мембрану из коллоидосом, содержащих области из гидрофобно-гидрофильных силикатных наночастиц размером 20–30 нм [45]. В силикатные коллоидосомы в процессе их сборки могут быть включены различные биологически активные молекулы (белки, нуклеиновые кислоты, ионы металлов и др.). Также обнаружено, что коллоидосомы способны имитировать рост, воспроизводство и фагоцитоз природных клеток [57–59].

В 2019 г. были созданы искусственные клетки из металлоорганических каркасов (MOF) с иммобилизованными на них ферментами, обладающие способностью имитировать разнообразные клеточные функции, включая регуляцию мембранного транспорта, клеточный метаболизм, межклеточную коммуникацию, программируемую деградацию [60]. Металлоорганические каркасы представляют собой гибридные органо-неорганические кристаллические пористые материалы, состоящие из регулярного массива положительно заряженных ионов металлов, окруженных органическими линкерными молекулами. Ионы металлов образуют узлы, которые связывают плечи линкеров, формируя повторяющийся, похожий на клетку состав [17]. Клетки на основе MOF обладают прекрасной стабильностью при воздействии разнообразных физических и химических факторов, а также рядом полезных как для исследований в сфере биологии клетки, так и для медицинской практики свойств: высокой емкостью («грузоподъемностью»), настраиваемым составом и структурой, универсальностью и регулируемым размером пор [61–63]. Из последних достижений в области клеток на основе MOF можно отметить создание в 2022 г. искусственных β -клеток с инкапсулированными MOF-органеллами, обладающими чувствительностью к гипергликемии, что проявляется в запрограммированной транскрипции генов, трансляции белка и секреции инсулина [64].

Клетки с мембранной оболочкой, полученной из природных клеток, позволяют идентифицировать и исследовать мембранные белки, а также являются более безопасной системой доставки лекарств, чем липосомы. Первая подобная искусственная клетка, содержащая функционально активные экзогенные молекулы нуклеиновых кислот, была получена в 2019 г. методом сокультивации клеток линии HeLa и наноматериала – карбоксилированного фуллерена – при облучении белым светом [65].

Все вышеперечисленные искусственные структуры имеют существенные сложности в организации функциональных возможностей в наномасштабе и обеспечении сетевой связи между всеми компонентами, поэтому, в частности, их трудно назвать «живыми». В природной клетке присутствует множество безмембранных структур (например, тельца Кахала и ядрышки), которые образуются в результате коацервации. Коацервация основана на разделении фаз жидкость – жидкость (*liquid – liquid phase separation*, LLPS) [66; 67] и приводит к образованию коллоидных скоплений коацерватов в виде двух жидких слоев или капель. При получении коацерватов, как и при формировании GUVs, может применяться микрофлюидика. В клетке коацерватные структуры (плотные жидкие капли из макромолекул) обычно образуются в результате электростатических взаимодействий между противоположно заряженными полиэлектролитами (полипептидами, полинуклеотидами, полисахаридами) либо мультивалентными небольшими молекулами (например, аденозинтрифосфатом (АТФ) или спермидином). С учетом того что первичный бульон в теории Опарина был коацерватом, можно ожидать, что тип искусственных клеток, полученный в результате коацервации, будет наиболее приближен к «живой» клетке. Действительно, в 2022 г. создана клетка на основе введения в коацерваты компонентов бактерий двух типов [68]. Один тип бактерий был локализован внутри коацерватных капель, а другой – снаружи. После этого бактерии разрушались с выделением клеточных компонентов, вследствие чего образовывались искусственные клетки с мембраной бактериального происхождения, окружающей ядро коацервата, которое содержит активные ферменты, функционально активный аппарат синтеза белков, заполненные водой камеры (вакуоли) и кольцевую плазмидную ДНК. В результате ферментативного расщепления плазмид на короткие нити ДНК конденсировалась в образование, напоминающее ядро. При введении актина его белковые структуры объединялись в нити, обеспечивая рудиментарный цитоскелет. При добавлении живых бактериальных клеток искусственные клетки принимали форму, по морфологии напоминающую амёбу. Хотя сконструированная клетка представляет собой клеточноподобный автомат и живая система пока не создана, работа [68]

является существенным шагом вперед, продемонстрировавшим силу коацерватов. Следующей задачей по преодолению разрыва между искусственной и природной клетками должно стать постепенное создание взаимосвязанных внутриклеточных сетей [69].

Применение клеток *bottom-up*

Клетки *bottom-up* обладают значительным потенциалом для использования в качестве интеллектуальных (реагирующих) биоматериалов (включая биосенсоры), систем адресной доставки персонализированных лекарств, заменителей природных клеток с поврежденными функциями и др. Наиболее полная систематизация достижений в области конструирования клеток с перспективой практического применения представлена в обзоре [17], ее основные аспекты приведены ниже.

Реакционные инкапсулирующие сосуды. Опубликовано множество работ по конструированию клеток, инкапсулирующих системы для простых каскадных реакций и внутриклеточных взаимодействий [29; 32; 70–72]. В частности, показано, что стабильность аминокликозидазы, инкапсулированной в MLVs, выше, чем ее стабильность в растворе [73; 74]. Интересен пример конструирования клетки с использованием мембраны естественного происхождения, инкапсулирующей систему сигнальной трансдукции, запускаемую в присутствии АТФ путем открытия управляемых АТФ нанозатворов из ДНК [75]. Для создания системы каскадных реакций и других наборов сложных химических реакций и внутриклеточных взаимодействий наиболее часто применяются мультикомпарментные GUVs, полученные в том числе с использованием микрофлюидики [23]. Подобные системы перспективны для пространственного и временного разделения каскадных биокаталитических реакций. Для конструирования реакционных инкапсулирующих клеточных систем применяются также полимерные и липидно-полимерные структуры, позволяющие, в частности, создавать более сложные наборы химических реакций или регулировать проницаемость мембран.

Экспрессия генов и трансляция белков являются одной из ключевых функций искусственных клеток. Имеются сообщения об инкапсуляции бесклеточной системы экспрессии, экстрагированной из *Escherichia coli*, для синтеза зеленого флуоресцентного белка [28]; системы экспрессии, состоящей из рибосом *E. coli* и фаговой Т7-полимеразы, матриц ДНК и РНК, для синтеза специфических белков [76]; системы синтеза специфических мРНК [77]; системы ПЦР [78]; системы комплексного геномного синтеза белков фага Φ29 [79]. В будущем возможно развитие направления по конструированию искусственных клеток в качестве заменителей генно-модифицированных бактериальных клеток-биореакторов. В работе [80] внутри гигантского однослойного пузырька объединены система бесклеточного синтеза белка и небольшие протеолипосомы, которые включают очищенную АТФ-синтазу и бактериородопсин. Фотосинтезируемый АТФ используется в качестве субстрата для транскрипции и в качестве источника энергии для трансляции, что в конечном итоге приводит к синтезу *de novo* бактериородопсина и белковых субъединиц АТФ-синтазы. Фотосинтезируемый *de novo* бактериородопсин и части АТФ-синтазы интегрируются в искусственную фотосинтетическую органеллу и усиливают ее АТФ-фотосинтетическую активность за счет положительной обратной связи продуктов. Сконструированная искусственная фотосинтетическая клеточная система открывает путь к созданию энергетически независимой искусственной клетки, а также к применению искусственной клетки для получения энергии с использованием фотосинтеза [81].

Носители мембран для обмена материалами и информацией. В рамках данного направления конструируются липидные GUVs для исследования слияния мембран в процессе эндоцитоза и экзоцитоза на клеточной мембране [82; 83], слияния органелл, обмена белков и липидов на мембране [84], инфицирования вирусами [85; 86]. Созданные клетки могут имитировать временное образование пор и работу рецепторов [87; 88], ионный транспорт и функционирование ионных каналов [89], межклеточные взаимодействия [30; 31; 90]. Особый интерес представляют искусственные клетки со свойствами биосенсоров, в частности описанные выше клетки, реагирующие на гипергликемию [64]. Существенными достижениями являются также создание двух коллоидосомных клеток, осуществляющих между собой ненаправленную трансдукцию сигналов [91], демонстрация переноса материала и везикул-везикулярной коммуникации с использованием индикации на основе флуоресценции [92], конструирование искусственной системы сигнальной трансдукции сигналов (стимулятор – рецептор) с применением модели на базе GUVs [93]. С использованием химических инструментов созданы полностью синтетические рецепторы и продемонстрирован искусственный сигнальный каскад в липосомах. Каскад реакций обеспечивал трансмембранную активацию ферментов, что является отличительной чертой естественных сигнальных рецепторов [94].

Следует отметить, что, хотя исследования в области взаимодействий искусственных клеток между собой и с природными клетками чрезвычайно важны для синтеза живой ткани, в настоящее время они проводятся гораздо менее интенсивно, чем исследования для природных клеток.

Искусственные клетки для медицины. Искусственные клетки конструируются из искусственных и натуральных материалов с хорошей биосовместимостью, могут частично осуществлять функции природных клеток и обладают потенциалом для применения в медицине. Хотя используемые при получении синтетических клеток натуральные материалы должны соответствовать этическим нормам, в целом благодаря возможности применения большого количества искусственных материалов этические требования к искусственным клеткам могут быть менее строгими, чем к биомедицинским продуктам из природных клеток.

Доставка лекарств. Хорошо зарекомендовавшая себя липосомальная технология доставки лекарств и недавнее внедрение вакцин против SARS-CoV-2 на основе нагруженных РНК липидных наночастиц предполагают возможность использования искусственных клеток как своего рода умных агентов доставки лекарств [95].

Наиболее подходящими материалами для конструирования искусственных клеток, применяемых в качестве систем доставки лекарств, являются липиды, биodeградируемые полимеры, мембраны природных клеток [96]. С того времени, как липосомы впервые были предложены в роли систем доставки лекарств [97], эта стратегия достаточно широко и успешно используется на практике [98]. Исследовательские же работы сфокусированы на получении клеток из биоразлагаемых полимеров. Так, в 1976 г. Т. М. С. Чанг создал клетку из полилактида (биоразлагаемый материал, одобренный Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (*Food and Drug Administration*, FDA) для медицинской имплантации), содержащую ферменты, гормоны и другие биологические агенты [99]. В 2016 г. было продемонстрировано, что искусственные клетки из поли(молочно-гликолевой кислоты) (PLGA), инкапсулирующие доцетаксел, эффективнее самого доцетаксела в лечении таксаностойчивого трижды негативного рака молочной железы [100]. Для адресной доставки в липидные и полимерные мембраны искусственных клеток встраиваются антитела. Также для доставки лекарств широко используются искусственные клетки, включающие магнитные материалы, что позволяет направлять движение клеток или выделять их из смешанных систем [101; 102]. Наибольшей биосовместимостью обладают искусственные клетки с мембранами из природных клеток. Термочувствительные экзосомно-липосомные гибридные клетки, инкапсулирующие гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и доцетаксел для доставки в большие узлы опухоли, приводящей к метастатическому раку брюшины, значительно ингибировали развитие опухоли в сочетании с гипертермической интраперитонеальной химиотерапией [103].

Дизайн и конструирование синтетических терапевтических протоклеток, способных устанавливать родственные каналы химической связи с живыми клетками, являются важной задачей для синтетической биологии и биоинженерии. Методом спонтанной самосборки фрагментов мембран эритроцитов, несущих гемоглобин, на поверхности предварительно сформированных полисахаридно-полинуклеотидных коацерватных микрокапель, которые содержат глюкозооксидазу, были получены гибридные протоклетки. Данные синтетические клетки непрерывно производят NO в присутствии глюкозы и гидроксимочевины, что вызывает вазодилатацию *in vitro* и *in vivo* [90]. Применение подобных клеток представляет собой потенциальную стратегию лечения заболеваний, связанных со стенозом и закупоркой сосудов.

Получены искусственные клетки из фрагментов мембран опухолевых клеток, что позволило осуществлять нацеливание на область патологии. Фрагменты мембран, обволакивая молекулы протопорфирина IX, инкапсулировали комплексы ионов металлов с таниновой кислотой с образованием смешанного органического неорганического материала, включающего терапевтическое железо. Сконструированные клетки обладали улучшенной способностью к уничтожению опухолей в комбинации с фототермической и фотодинамической терапией по сравнению с применением только данных видов терапии [104].

Замена функций природных клеток. В 1964 г. Т. М. С. Чанг сообщил о создании искусственных эритроцитов [3]. С того времени исследования в данном направлении стали широко распространенными [105–111]. Гемоглобин представляет собой тетрамер и является отличным переносчиком кислорода. Однако в организме он превращается в токсичные димеры ($\alpha 1\beta 1$ и $\alpha 2\beta 2$) и мономеры ($\alpha 1$, $\beta 1$, $\alpha 2$, $\beta 2$). Для предотвращения этого используются разные подходы, в частности межмолекулярная сшивка, внутримолекулярная сшивка, конъюгация, нанокапсулирование и рекомбинантные методы [7; 112; 113]. Согласно концепции Чанга полимеризованный гемоглобин (PolyHb), получаемый сшивкой глутаровым диальдегидом, также можно отнести к искусственным клеткам, что не исключает применения коацерватной инкапсуляции при создании таких структур [114]. Были проведены и продолжают проводиться многочисленные широкомасштабные клинические испытания различных препаратов на основе PolyHb [107; 111; 115]. Следует отметить, что к настоящему времени ни один подобный препарат не одобрен для применения в трансфузиологии из-за серьезных побочных эффектов, таких как вазоконстрикция, системная гипертензия и поражения сердца, поэтому ведется разработка PolyHb-препаратов

нового поколения [116]. Искусственные клетки, используемые в качестве заменителей гемоглобина, должны имитировать три основные функции красных кровяных телец: транспорт кислорода от легочной ткани по всему организму, удаление вредных активных форм кислорода, транспорт углекислого газа из тканей в легкие для выведения из организма. Т. М. С. Чангом с соавторами разработана искусственная клетка, которая представляет собой нанобиотехнологический комплекс полигемоглобин – каталаза – супероксиддисмутаза – карбоангидраза (PolyHb-CAT-SOD-CA), способный выполнять все три функции природных эритроцитов [117–119]. В испытаниях на животных показано, что по ряду параметров она превосходит природные красные клетки крови [120].

Созданы клетки из плазматической мембраны тромбоцитов человека, инкапсулирующей полимерные наночастицы, заключенные в плазматической мембране тромбоцитов человека. Инкапсулированные наночастицы не вызывают активации системы комплемента в аутологичной плазме человека, а также демонстрируют свойства, имитирующие свойства тромбоцитов, такие как избирательная адгезия к поврежденным сосудам человека и грызунов, усиленное связывание с патогенами, прикрепляющимися к тромбоцитам. Многогранный биоинтерфейс, обеспечиваемый методом маскировки тромбоцитарной мембраной, обуславливает новый подход к разработке функциональных наночастиц для целенаправленной доставки лекарств к очагу заболевания [121]. Имеются сообщения о получении искусственных клеток с использованием полимеров и PLGA-пептидных сополимеров, обладающих гемостатическими свойствами [122; 123].

В 2019 г. сконструированы клетки, имитирующие нейтрофилы [124]. Супернейтрофилы, как их называют авторы, изготавливаются путем встраивания глюкозооксидазы и хлорпероксидазы в MOF (тип ZIF-8) для образования хлорноватистой кислоты (HClO) посредством ферментативных каскадов, а затем инкапсулируются в природную нейтрофильную мембрану для нацеливания в область воспаления. Результаты исследований *in vitro* и *in vivo* показали, что эти искусственные нейтрофилы могут генерировать в 7 раз более реактивную HClO, чем естественные нейтрофилы, в области опухолей и инфекций.

В 2021 г. был изготовлен искусственный макрофаг AM2M из мембраны макрофагов в качестве оболочки и наногеля, приготовленного из желатина и хондроитинсульфата (ХС). Испытания на мышах показали, что макрофаги AM2M более эффективны для лечения остеоартроза, чем макрофаги M2. Искусственная клетка обеспечивала резкое высвобождение содержимого для снижения воспаления во время острых вспышек остеоартроза и устойчивое высвобождение содержимого для восстановления хряща в период низкой воспалительной активности. Кроме того, наблюдались нацеливание макрофагов AM2M в воспаленную область и длительное пребывание в ней, а также блокирование иммунной стимуляции макрофагов ХС [125]. Данная работа представляет собой основу для интенсивной разработки систем доставки лекарств с контролируемым высвобождением.

Ферментная и генная терапия. Ферменты, инкапсулированные в искусственных клетках, действуют на субстраты, проникающие внутрь клетки, что позволяет избегать аллергических реакций и образования антител [3; 126–128]. С 1964 г. группа ученых во главе с Т. М. С. Чангом опубликовала ряд работ по ферментной терапии с использованием искусственных клеток [5; 127–129]. Показана эффективность РЕГ-аспарагиназы при лечении лейкемии [130]. Установлено, что аргиназа, инкапсулированная в мембраны эритроцитов мышей, успешно снижает уровень аргиназы в крови [131]. Биodeградируемые искусственные клетки, которые представляют собой полилактидные нанокапсулы, содержащие нанобиотехнологический комплекс полигемоглобин – тирозиназа, проникали в клетки меланомы и уменьшали количество тирозина, что приводило к ингибированию роста опухоли, подавлению миграции опухолевых клеток и колонизации ими высокозлокачественной клеточной линии B16F10 [132]. Инкапсуляция L-метионин-лиазы в мембраны человеческих эритроцитов позволила элиминировать специфические аминокислоты в межклеточной жидкости, что обеспечило цитотоксический эффект для клеток различных злокачественных опухолей, но не для нормальных клеток [133]. Приведенные выше данные являются серьезным доводом в пользу ферментной терапии злокачественных опухолей.

С использованием искусственных клеток также были созданы лекарственные средства для перорального введения. Проведенные клинические испытания показали, что при пероральном введении искусственные клетки, содержащие уреазу и адсорбент аммония, уменьшают системный уровень мочевины [134], а клетки, содержащие ксантиноксидазу, – системный уровень токсического гипоксантина при синдроме Леша – Найхана у подростков [135]. Имеются сообщения об успешно проведенных на крысах и мышах испытаниях по пероральному введению искусственных клеток, инкапсулирующих L-фенилаланин-аммоний-лиазу, при фенилкетонурии [136; 137]. Клетки из полимера на основе поли(D,L-лактид-кокапролактона) обладали высокой эффективностью инкапсуляции лизоцима и дезоксирибонуклеазы в желудочном и кишечном соке [138].

Проведено значительное количество испытаний по ферментной терапии с использованием искусственных клеток. В частности, искусственные клетки с аспарагиназой показали многообещающие

результаты в третьей фазе клинических испытаний и могут применяться в комбинации с химиотерапией при онкологии. Продолжается вторая фаза клинических испытаний искусственных клеток с тимидин-фосфорилазой для лечения митохондриальной нейрогастроинтестинальной энцефаломиопатии. Клетки с алкогольоксидазой прошли доклинические испытания по снятию алкогольной токсикации [139–141].

Потенциальная стратегия генной терапии с применением клеток *bottom-up* основана на способности данных клеток инкапсулировать ДНК, в том числе большого размера [142]. Имеются сообщения об инкапсуляции экзосомально-липосомальными мембранами плазмиды экспрессии компонентов CRISPR-Cas9, доставке такой плазмиды в мезенхимальные клетки костного мозга [143]. Искусственные клетки из мембран опухолевых клеток, инкапсулирующие ДНК и гистон, показали высокую биосовместимость и способность к трансфекции генов *in vitro* и *in vivo*, обладали свойствами ухода от иммунного ответа и гомологичного нацеливания (таргетинга), характерного для исходных опухолевых клеток, что делает искусственные клетки перспективным средством для применения в генной терапии [144].

Инкапсулирование природных клеток. Эндокринные клетки, инкапсулированные в искусственные клетки, не уничтожаются иммунной системой и эффективно сохраняют гормоны [5]. В 1964 г. Т. М. С. Чанг синтезировал искусственную клетку, инкапсулирующую природные клетки [3]. Стабильные микрокапсулы диаметром от 1 до 100 мкм с полупроницаемыми мембранами были изготовлены путем осаждения полимера вокруг эмульгированных капель воды либо посредством межфазной коацервации, либо посредством межфазной поликонденсации. Данный метод в дальнейшем получил широкое распространение в клеточной терапии [7; 36; 126; 131; 145–147], например, для инкапсуляции островков Лангерганса в целях лечения диабета. В настоящее время значительно улучшены долговременная биосовместимость таких искусственных клеток и методы приготовления биоматериалов [148].

В 1996 г. показано, что пероральное введение инкапсулированных генно-модифицированных клеток *E. coli* снижает уровень мочевины в крови у крыс с почечной недостаточностью [149]. В дальнейшем были проведены обширные исследования по клиническому применению данного метода при метаболическом синдроме [150]. Интраперитонеальная трансплантация инкапсулированных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга полностью восстанавливала печень у крыс после 90 % гепатэктомии [151]. Перспективным направлением также является разработка технологии посева инкапсулированных искусственных клеток для роста в биоразлагаемых каркасах, имитирующих ткани или органы [152].

Иммунотерапия. Потенциальные производительность, надежность и структурная стабильность искусственных клеток стимулируют исследования по их применению в иммунотерапии [34]. Искусственные клетки могут быть спроектированы так, чтобы избежать сигналов ингибирования от клеток иммунной системы организма, при этом они не потребляют кислород и питательные вещества, не подвергаются дифференцировке и длительно циркулируют. Кроме того, искусственные клетки способны маскироваться под клетки организма за счет экспрессии природных пептидных антигенов, что снижает их фагоцитоз и разрушение [153]. Например, искусственные клетки на основе полимера в сочетании с пептидомиметиком для CD47 меньше захватывались макрофагами, дольше циркулировали, обладали повышенной таргентностью к опухолям по сравнению с теми же клетками без пептидомиметика для CD47 [154].

Решающую роль в развитии различных иммунных заболеваний и иммунотерапии играют Т-клетки. Экспансия Т-клеток в некоторые типы Т-клеток может определять эффективность иммунотерапии. В иммунотерапии рака популяции цитотоксических Т-клеток (CD8⁺-Т-клетки) играют незаменимую роль в очистке и уничтожении опухолевых клеток [155; 156]. Искусственные антигенпрезентирующие клетки (aAPCs) могут стимулировать активацию CD8⁺-Т-клеток. Отмечено, что aAPCs из биodeградируемых полимеров и миметиков молекул главного комплекса гистосовместимости с костимуляторными молекулами на поверхности (такими как CD28) [157] взаимодействовали с Т-клетками и пептидными антигенами, имитируя природные антигенпрезентирующие клетки, различая сигналы патогена и передавая их многим эффекторным клеткам вместе с биологическими регуляторными сигналами. Показано, что aAPCs амплифицируют CD8⁺-Т-клетки *in vitro* и *in vivo*, и они направляют иммунную систему против специфических раковых антигенов в мышинных моделях меланомы. В 2019 г. сконструированы эллипсоидные aAPCs из пегелированных сополимерных материалов и CD47 [158], которые значительно стимулировали некроз опухолей CD8⁺-Т-клетками у мышей с меланомой *in vitro* и *in vivo*.

В 2020 г. предложен обобщенный подход к активации CD8⁺-Т-клеток на основе применения в иммунотерапии *in vivo* трансформируемых по размеру aAPCs в сочетании с нанотехнологиями. Разработана нановакцина для антигенспецифической предварительной активации CD8⁺-Т-клеток *in vivo* с последующей дополнительной реактивацией CD8⁺-Т-клеток с помощью наноразмерных aAPCs (naAPCs), способных трансформироваться по размеру. Для этого были сконструированы naAPCs из редокс-чувствительных сополимеров, нагруженных главным комплексом гистосовместимости и CD28 на поверхности, инкапсулирующие интерлейкин-2. Хотя naAPCs имеют лучший профиль безопасности, чем микроразмерные aAPCs (maAPCs), они обычно вызывают более слабый ответ Т-клеток. В опухолевой ткани при встрече

с предварительно активированными CD8⁺-Т-клетками с высоким поверхностным окислительно-восстановительным потенциалом на APCs преобразовывались в maAPCs. Комбинация naAPCs с нановакциной обладала впечатляющей противоопухолевой эффективностью *in vivo* [159].

В иммунотерапии стимуляция Т-клеток *ex vivo* требует значительных ресурсов и усилий. В работе [156] использовали созданный ранее миметик дендритных клеток, который может стимулировать Т-клетки к пролиферации до CD8⁺-Т-клеток и убивать опухолевые клетки *ex vivo* и *in vivo*. Для имитации дендритных клеток сконструированы искусственные дендритные микроцветки (DM) на основе ДНК, поверхность которых была покрыта полидофамином и дополнительно модифицирована антителами против CD3 и CD28 в целях получения модифицированного антителами DM (DM-A). Пористая структура DM-A позволяла захватывать цитокин, стимулирующий Т-клетки, а также интерлейкин-2 с образованием DM-A, нагруженного интерлейкином-2 (DM-AI). Применение DM-AI в исследованиях на мышцах предотвращало рост отдаленных опухолей и обеспечивало полную выживаемость животных, инокулированных опухолевыми клетками. Эту концепцию можно широко распространить на программирование специфических профилей стимуляции Т-клеток.

В целом aAPCs создаются путем интеграции лигандов рецепторов Т-клеток (TCR) (например, пептида главного комплекса гистосовместимости (pMHC) и антител против CD3) и костимулирующих лигандов (например, антител против CD28 и 4-1BBL) на поверхности биосовместимых материалов, включая липосомы, экзосомы, полимеры, магнитные микробусины и микростержни из мезопористого кремния. Недавно были созданы naAPCs на основе двумерных каркасов ДНК-оригами. Костимулирующие лиганды (антитела против CD28 с фиксированной валентностью (три копии)) были закреплены в трех вершинах треугольного каркаса, а лиганды TCR (pMHC) – на трех краях с различной плотностью. Существенно, что созданный каркас из ДНК-оригами позволяет проводить количественный анализ взаимодействий лиганд – рецептор при активации Т-клеток с разрешением в одну частицу, одну молекулу с применением флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения (*total internal reflection fluorescence*, TIRF). Установлено, что при увеличении плотности pMHC продолжительность pMHC-TCR-связывания возрастает с 9,9 до 12,1 с, что приводит к функциональным ответам Т-клеток. Показано, что сконструированные naAPCs демонстрируют эффективную способность ингибировать рост модельной меланомы мышей как *in vitro*, так и *in vivo* при адоптивной иммунотерапии [160].

Кроме вышеупомянутых, опубликовано много работ по конструированию и применению искусственных клеток в сельском хозяйстве, пищевой промышленности, аквакультуре, косметологии, нанолaborаторных и нанокomпьютерных технологиях [161; 162].

Заключение

В последние 20 лет многие оригинальные идеи Т. М. С. Чанга об искусственных клетках как биотехнологических устройствах для имитации и дополнения параметров природных клеток все чаще применяются и расширяются исследователями по всему миру. Существует тенденция к тому, что новое развитие и дополнение понятия «искусственные клетки» скрываются под многочисленными названиями: «наночастицы», «нанотрубочки», «липидные везикулы», «липосомы», «полимерсвязанные липиды», «полимеросомы», «микрокапсулы», «биокапсулы», «нанокapсулы», «наносенсоры», «макроинкапсуляция», «полигемоглобин», «конъюгированный гемоглобин» и т. д. С термином «искусственная клетка» ассоциируются разнообразные направления, такие как наномедицина, биотерапия, создание заменителей крови, доставка лекарств, ферментная и генная терапия, онкотерапия, клеточная терапия, в том числе терапия с применением стволовых клеток, биосорбент-иммуносорбентная гемоперфузия и плазмаферез, регенеративная медицина, капсулирование микробов, нанобиотехнологии, нанотехнологии и др. Более футуристические направления представлены созданием нанороботов, нанокomпьютеров, мультимодальных роботов-доставщиков и др. Исследования в области искусственной клетки являются междисциплинарными, и их объединение может обеспечить прогресс, превосходящий чье-либо воображение [163].

Библиографические ссылки/References

1. Hooke R. *Micrographia: or Some physiological descriptions of minute bodies made by magnifying glasses with observations and inquiries thereupon* [Internet]. London: John Martyn and James Allestry; 1665 [cited 2023 April 17]. 246, [46] p. Available from: <https://collections.nlm.nih.gov/catalog.nlm.nih.gov/uid-2366075R-bk>.
2. Schwann T. *Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Tiere und Pflanzen* [Internet]. Berlin: Verlag der Sander'schen Buchhandlung (G. E. Reimer); 1839 [cited 2023 April 17]. XVIII, 270 S. Available from: <https://wellcomecollection.org/works/bknnmj2k>. German.
3. Chang TMS. Semipermeable microcapsules. *Science*. 1964;146(3643):524–525. DOI: 10.1126/science.146.3643.524.
4. Chang TMS. *Hemoglobin corpuscles. Report of research project for BSc honours physiology*. Montreal: McGill University; 1957. 25 p.

5. Chang TMS. *Artificial cells* [Internet]. Springfield: Charles C. Thomas; 1972 [cited 2023 April 19]. XIV, 207 p. Available from: <http://www.medicine.mcgill.ca/artcell/1972bookCovercr.pdf>.
6. Chang TMS. Artificial cells for cell and organ replacements. *Artificial Organs*. 2004;28(3):265–270. DOI: 10.1111/j.1525-1594.2004.47343.x.
7. Chang TMS. 50th anniversary of artificial cells: their role in biotechnology, nanomedicine, regenerative medicine, blood substitutes, bioencapsulation, cell / stem cell therapy and nanorobotics. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*. 2007;35(6):545–554. DOI: 10.1080/10731190701730172.
8. Chang TMS. The role of artificial cells in the fight against COVID-19: deliver vaccine, hemoperfusion removes toxic cytokines, nanobiotherapeutics lower free radicals and pCO₂ and replenish blood supply. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2022;50(1):240–251. DOI: 10.1080/21691401.2022.2126491.
9. Schwille P. How simple could life be? *Angewandte Chemie International Edition*. 2017;56(37):10998–11002. DOI: 10.1002/anie.201700665.
10. Elani Y. Interfacing living and synthetic cells as an emerging frontier in synthetic biology. *Angewandte Chemie International Edition*. 2021;60(11):5602–5611. DOI: 10.1002/anie.202006941.
11. Gánti T. *The principles of life* [Internet]. Griesemer J, Szathmáry E, editors. Oxford: Oxford University Press; 2003 [cited 2023 April 20]. XVIII, 201 p. Available from: https://www.chemoton.com/images/pdf/GantiTiborEletmu_22.pdf.
12. Göpflich K, Platzman I, Spatz JP. Mastering complexity: towards bottom-up construction of multifunctional eukaryotic synthetic cells. *Trends in Biotechnology*. 2018;36(9):938–951. DOI: 10.1016/j.tibtech.2018.03.008.
13. Pohorille A, Deamer D. Artificial cells: prospects for biotechnology. *Trends in Biotechnology*. 2002;20(3):123–128. DOI: 10.1016/S0167-7799(02)01909-1.
14. Szostak JW, Bartel DP, Luisi PL. Synthesizing life. *Nature*. 2001;409(6818):387–390. DOI: 10.1038/35053176.
15. Saraniti M. Designing biomimetic nanomachines. *Nature Nanotechnology*. 2008;3(11):647–648. DOI: 10.1038/nnano.2008.327.
16. Xu C, Hu S, Chen X. Artificial cells: from basic science to applications. *Materials Today*. 2016;19(9):516–532. DOI: 10.1016/j.mattod.2016.02.020.
17. Jiang W, Wu Z, Gao Z, Wan M, Zhou M, Mao C, et al. Artificial cells: past, present and future. *ACS Nano*. 2022;16(10):15705–15733. DOI: 10.1021/acsnano.2c06104.
18. Lindblad P, Lindberg P, Oliveira P, Stensjö K, Heidom T. Design, engineering, and construction of photosynthetic microbial cell factories for renewable solar fuel production. *Ambio*. 2012;41(supplement 2):163–168. DOI: 10.1007/s13280-012-0274-5.
19. Venter JC, Glass JI, Hutchison CA 3rd, Vashee S. Synthetic chromosomes, genomes, viruses, and cells. *Cell*. 2022;185(15):2708–2724. DOI: 10.1016/j.cell.2022.06.046.
20. Buddingh' BC, van Hest JCM. Artificial cells: synthetic compartments with life-like functionality and adaptivity. *Accounts of Chemical Research*. 2017;50(4):769–777. DOI: 10.1021/acs.accounts.6b00512.
21. Zhao N, Chen Y, Chen G, Xiao Z. Artificial cells based on DNA nanotechnology. *ACS Applied Bio Materials*. 2020;3(7):3928–3934. DOI: 10.1021/acsbm.0c00149.
22. Jelinek R, Kolusheva S. Membrane interactions of host-defense peptides studied in model systems. *Current Protein and Peptide Science*. 2005;6(1):103–114. DOI: 10.2174/1389203053027511.
23. Nuti N, Verboket PE, Dittich PS. Multivesicular droplets: a cell model system to study compartmentalised biochemical reactions. *Lab on a Chip*. 2017;17(18):3112–3119. DOI: 10.1039/c7lc00710h.
24. Bangham AD, Horne RW. Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope. *Journal of Molecular Biology*. 1964;8(5):660–668. DOI: 10.1016/S0022-2836(64)80115-7.
25. Xu R, Simpson RJ, Greening DW. A protocol for isolation and proteomic characterization of distinct extracellular vesicle subtypes by sequential centrifugal ultrafiltration. In: Hill AF, editor. *Exosomes and microvesicles: methods and protocols*. New York: Humana Press; 2017. p. 91–116 (Walker JM, editor. Methods in molecular biology; volume 1545). DOI: 10.1007/978-1-4939-6728-5_7.
26. Martino C, deMello AJ. Droplet-based microfluidics for artificial cell generation: a brief review. *Interface Focus*. 2016;6(4):20160011. DOI: 10.1098/rsfs.2016.0011.
27. Kamiya K. Development of artificial cell models using microfluidic technology and synthetic biology. *Micromachines*. 2020;11(6):559. DOI: 10.3390/mi11060559.
28. Noireaux V, Libchaber A. A vesicle bioreactor as a step toward an artificial cell assembly. *PNAS*. 2004;101(51):17669–17674. DOI: 10.1073/pnas.0408236101.
29. Elani Y, Law RV, Ces O. Vesicle-based artificial cells as chemical microreactors with spatially segregated reaction pathways. *Nature Communications*. 2014;5:5305. DOI: 10.1038/ncomms6305.
30. Gardner PM, Winzer K, Davis BG. Sugar synthesis in a protocellular model leads to a cell signalling response in bacteria. *Nature Chemistry*. 2009;1(5):377–383. DOI: 10.1038/nchem.296.
31. Lentini R, Perez Santero S, Chizzolini F, Cecchi D, Fontana J, Marchioreto M, et al. Integrating artificial with natural cells to translate chemical messages that direct *E. coli* behaviour. *Nature Communications*. 2014;5:4012. DOI: 10.1038/ncomms5012.
32. Adamala K, Szostak JW. Competition between model protocells driven by an encapsulated catalyst. *Nature Chemistry*. 2013;5(6):495–501. DOI: 10.1038/nchem.1650. Erratum in: *Nature Chemistry*. 2013;5(7):634. DOI: 10.1038/nchem.1700.
33. Lee KY, Park S-J, Lee KA, Kim S-H, Kim H, Meroz Y, et al. Photosynthetic artificial organelles sustain and control ATP-dependent reactions in a protocellular system. *Nature Biotechnology*. 2018;36(6):530–535. DOI: 10.1038/nbt.4140.
34. Green JJ, Elisseff JH. Mimicking biological functionality with polymers for biomedical applications. *Nature*. 2016;540(7633):386–394. DOI: 10.1038/nature21005.
35. Discher DE, Eisenberg A. Polymer vesicles. *Science*. 2002;297(5583):967–973. DOI: 10.1126/science.1074972.
36. Lim F, Sun AM. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science*. 1980;210(4472):908–910. DOI: 10.1126/science.6776628.
37. O'Shea GM, Sun AM. Encapsulation of rat islets of Langerhans prolongs xenograft survival in diabetic mice. *Diabetes*. 1986;35(8):943–946. DOI: 10.2337/diab.35.8.943.
38. Tanner P, Baumann P, Enea R, Onaca O, Palivan C, Meier W. Polymeric vesicles: from drug carriers to nanoreactors and artificial organelles. *Accounts of Chemical Research*. 2011;44(10):1039–1049. DOI: 10.1021/ar200036k.
39. Martino C, Kim S-H, Horsfall L, Abbaspourrad A, Rosser SJ, Cooper J, et al. Protein expression, aggregation, and triggered release from polymersomes as artificial cell-like structures. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012;51(26):6416–6420. DOI: 10.1002/anie.201201443.

40. Tamate R, Ueki T, Yoshida R. Self-beating artificial cells: design of cross-linked polymersomes showing self-oscillating motion. *Advanced Materials*. 2015;27(5):837–842. DOI: 10.1002/adma.201404757.
41. Palivan CG, Goers R, Najer A, Zhang X, Car A, Meier W. Bioinspired polymer vesicles and membranes for biological and medical applications. *Chemical Society Reviews*. 2016;45(2):377–411. DOI: 10.1039/c5cs00569h.
42. Le Meins J-F, Schatz C, Lecommandoux S, Sandre O. Hybrid polymer/lipid vesicles: state of the art and future perspectives. *Materials Today*. 2013;16(10):397–402. DOI: 10.1016/j.mattod.2013.09.002. Erratum in: *Materials Today*. 2014;17(2):92–93. DOI: 10.1016/j.mattod.2014.01.003.
43. Chemin M, Brun P-M, Lecommandoux S, Sandre O, Le Meins J-F. Hybrid polymer/lipid vesicles: fine control of the lipid and polymer distribution in the binary membrane. *Soft Matter*. 2012;8(10):2867–2874. DOI: 10.1039/c2sm07188f.
44. Khan S, McCabe J, Hill K, Beales PA. Biodegradable hybrid block copolymer – lipid vesicles as potential drug delivery systems. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2020;562:418–428. DOI: 10.1016/j.jcis.2019.11.101.
45. Huang X, Li M, Green DC, Williams DS, Patil AJ, Mann S. Interfacial assembly of protein – polymer nano-conjugates into stimulus-responsive biomimetic protocells. *Nature Communications*. 2013;4:2239. DOI: 10.1038/ncomms3239.
46. Li M, Green DC, Anderson JLR, Binks BP, Mann S. *In vitro* gene expression and enzyme catalysis in bio-inorganic protocells. *Chemical Science*. 2011;2(9):1739–1745. DOI: 10.1039/c1sc00183c.
47. Dinsmore AD, Hsu MF, Nikolaides MG, Marquez M, Bausch AR, Weitz DA. Colloidosomes: selectively permeable capsules composed of colloidal particles. *Science*. 2002;298(5595):1006–1009. DOI: 10.1126/science.1074868.
48. Binks BP, Murakami R. Phase inversion of particle-stabilized materials from foams to dry water. *Nature Materials*. 2006;5(11):865–869. DOI: 10.1038/nmat1757.
49. Subramaniam AB, Wan J, Gopinath A, Stone HA. Semi-permeable vesicles composed of natural clay. *Soft Matter*. 2011;7(6):2600–2612. DOI: 10.1039/c0sm01354d.
50. Wang C, Liu H, Gao Q, Liu X, Tong Z. Facile fabrication of hybrid colloidosomes with alginate gel cores and shells of porous CaCO_3 microparticles. *ChemPhysChem*. 2007;8(8):1157–1160. DOI: 10.1002/cphc.200700147.
51. He Y, Wu F, Sun X, Li R, Guo Y, Li C, et al. Factors that affect Pickering emulsions stabilized by graphene oxide. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2013;5(11):4843–4855. DOI: 10.1021/am400582n.
52. Bachinger A, Kickelbick G. Pickering emulsions stabilized by anatase nanoparticles. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly*. 2010;141(6):685–690. DOI: 10.1007/s00706-010-0273-9.
53. Zhou J, Wang L, Qiao X, Binks BP, Sun K. Pickering emulsions stabilized by surface-modified Fe_3O_4 nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2012;367(1):213–224. DOI: 10.1016/j.jcis.2011.11.001.
54. He J, Liu Y, Babu T, Wei Z, Nie Z. Self-assembly of inorganic nanoparticle vesicles and tubules driven by tethered linear block copolymers. *Journal of the American Chemical Society*. 2012;134(28):11342–11345. DOI: 10.1021/ja3032295.
55. Fasciano S, Wang S. Recent advances of droplet-based microfluidics for engineering artificial cells. *SLAS Technology*. Forthcoming 2024. DOI: 10.1016/j.slast.2023.05.002.
56. Huo C, Li M, Huang X, Yang H, Mann S. Membrane engineering of colloidosome microcompartments using partially hydrophobic mesoporous silica nanoparticles. *Langmuir*. 2014;30(50):15047–15052. DOI: 10.1021/la503958d.
57. Tamate R, Ueki T, Yoshida R. Evolved colloidosomes undergoing cell-like autonomous shape oscillations with buckling. *Angewandte Chemie International Edition*. 2016;55(17):5179–5183. DOI: 10.1002/anie.201511871.
58. Li M, Huang X, Mann S. Spontaneous growth and division in self-reproducing inorganic colloidosomes. *Small*. 2014;10(16):3291–3298. DOI: 10.1002/sml.201400639.
59. Rodríguez-Arco L, Li M, Mann S. Phagocytosis-inspired behaviour in synthetic protocell communities of compartmentalized colloidal objects. *Nature Materials*. 2017;16(8):857–863. DOI: 10.1038/nmat4916.
60. Liu J, Guo Z, Liang K. Biocatalytic metal-organic framework-based artificial cells. *Advanced Functional Materials*. 2019;29(45):1905321. DOI: 10.1002/adfm.201905321.
61. Furukawa H, Ko N, Go YB, Aratani N, Choi SB, Choi E, et al. Ultrahigh porosity in metal-organic frameworks. *Science*. 2010;329(5990):424–428. DOI: 10.1126/science.1192160.
62. Furukawa H, Cordova KE, O’Keeffe M, Yaghi OM. The chemistry and applications of metal-organic frameworks. *Science*. 2013;341(6149):1230444. DOI: 10.1126/science.1230444.
63. Zuo Q, Liu T, Chen C, Ji Y, Gong X, Mai Y, et al. Ultrathin metal – organic framework nanosheets with ultrahigh loading of single Pt atoms for efficient visible-light-driven photocatalytic H_2 evolution. *Angewandte Chemie International Edition*. 2019;58(30):10198–10203. DOI: 10.1002/anie.201904058.
64. Liu J, Xue J, Fu L, Xu J, Lord MS, Liang K. Genetically encoded synthetic beta cells for insulin biosynthesis and release under hyperglycemic conditions. *Advanced Functional Materials*. 2022;32(18):2111271. DOI: 10.1002/adfm.202111271.
65. Liu Q, Bi C, Li J, Liu X, Peng R, Jin C, et al. Generating giant membrane vesicles from live cells with preserved cellular properties. *Research*. 2019;2019:6523970. DOI: 10.34133/2019/6523970.
66. Brangwynne CP. Phase transitions and size scaling of membrane-less organelles. *Journal of Cell Biology*. 2013;203(6):875–881. DOI: 10.1083/jcb.201308087.
67. Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 2017;18(5):285–298. DOI: 10.1038/nrm.2017.7.
68. Xu C, Martin N, Li M, Mann S. Living material assembly of bacteriogenic protocells. *Nature*. 2022;609(7929):1029–1037. DOI: 10.1038/s41586-022-05223-w.
69. Yewdall NA. Life brought to artificial cells. *Nature*. 2022;609(7929):900–901. DOI: 10.1038/d41586-022-02231-8.
70. Hindley JW, Elani Y, McGilvery CM, Ali S, Bevan CL, Law RV, et al. Light-triggered enzymatic reactions in nested vesicle reactors. *Nature Communications*. 2018;9:1093. DOI: 10.1038/s41467-018-03491-7.
71. Einfalt T, Witzigmann D, Edlinger C, Sieber S, Goers R, Najer A, et al. Biomimetic artificial organelles with *in vitro* and *in vivo* activity triggered by reduction in microenvironment. *Nature Communications*. 2018;9:1127. DOI: 10.1038/s41467-018-03560-x.
72. van Roekel HWH, Rosier BJHM, Meijer LHH, Hilbers PAJ, Markvoort AJ, Huck WTS, et al. Programmable chemical reaction networks: emulating regulatory functions in living cells using a bottom-up approach. *Chemical Society Reviews*. 2015;44(21):7465–7483. DOI: 10.1039/C5CS00361J.
73. Küchler A, Yoshimoto M, Luginbühl S, Mavelli F, Walde P. Enzymatic reactions in confined environments. *Nature Nanotechnology*. 2016;11(5):409–420. DOI: 10.1038/nnano.2016.54.

74. Yoshimoto M. Stabilization of enzymes through encapsulation in liposomes. In: Minteer SD, editor. *Enzyme stabilization and immobilization: methods and protocols*. New York: Humana Press; 2011. p. 9–18 (Walker JM, editor. *Methods in molecular biology*; volume 679). DOI: 10.1007/978-1-60761-895-9_2.
75. Peng R, Xu L, Wang H, Lyu Y, Wang D, Bi C, et al. DNA-based artificial molecular signaling system that mimics basic elements of reception and response. *Nature Communications*. 2020;11:978. DOI: 10.1038/s41467-020-14739-6.
76. Nourian Z, Roelofsen W, Danelon C. Triggered gene expression in fed-vesicle microreactors with a multifunctional membrane. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012;51(13):3114–3118. DOI: 10.1002/anie.201107123.
77. Fischer A, Franco A, Oberholzer T. Giant vesicles as microreactors for enzymatic mRNA synthesis. *ChemBioChem*. 2002;3(5):409–417. DOI: 10.1002/1439-7633(20020503)3:5<409::AID-CBIC409>3.0.CO;2-P.
78. Kurihara K, Tamura M, Shohda K, Toyota T, Suzuki K, Sugawara T. Self-reproduction of supramolecular giant vesicles combined with the amplification of encapsulated DNA. *Nature Chemistry*. 2011;3(10):775–781. DOI: 10.1038/nchem.1127.
79. van Nies P, Westerlaken I, Blanken D, Salas M, Mencia M, Danelon C. Self-replication of DNA by its encoded proteins in liposome-based synthetic cells. *Nature Communications*. 2018;9:1583. DOI: 10.1038/s41467-018-03926-1.
80. Berhanu S, Ueda T, Kuruma Y. Artificial photosynthetic cell producing energy for protein synthesis. *Nature Communications*. 2019;10:1325. DOI: 10.1038/s41467-019-09147-4.
81. Albanese P, Mavelli F, Altamura E. Light energy transduction in liposome-based artificial cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11:1161730. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1161730.
82. Robson Marsden H, Elbers NA, Bomans PHH, Sommerdijk NAJM, Kros A. A reduced SNARE model for membrane fusion. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009;48(13):2330–2333. DOI: 10.1002/anie.200804493.
83. Chan YM, van Lengerich B, Boxer SG. Effects of linker sequences on vesicle fusion mediated by lipid-anchored DNA oligonucleotides. *PNAS*. 2009;106(4):979–984. DOI: 10.1073/pnas.0812356106.
84. Li-Beisson Y, Neunzig J, Lee Y, Philippar K. Plant membrane-protein mediated intracellular traffic of fatty acids and acyl lipids. *Current Opinion in Plant Biology*. 2017;40:138–146. DOI: 10.1016/j.pbi.2017.09.006.
85. Buzon V, Natrajan G, Schibli D, Campelo F, Kozlov MM, Weissenhorn W. Crystal structure of HIV-1 gp41 including both fusion peptide and membrane proximal external regions. *PLoS Pathogens*. 2010;6(5):e1000880. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000880.
86. Harrison SC. Viral membrane fusion. *Nature Structural and Molecular Biology*. 2008;15(7):690–698. DOI: 10.1038/nsmb.1456.
87. Di Iorio D, Lu Y, Meulman J, Huskens J. Recruitment of receptors at supported lipid bilayers promoted by the multivalent binding of ligand-modified unilamellar vesicles. *Chemical Science*. 2020;11(12):3307–3315. DOI: 10.1039/d0sc00518e.
88. Lu Y, Huskens J, Pang W, Duan X. Hypersonic poration of supported lipid bilayers. *Materials Chemistry Frontiers*. 2019;3(5):782–790. DOI: 10.1039/c8qm00589c.
89. Xu Z, Hueckel T, Irvine WTM, Sacanna S. Transmembrane transport in inorganic colloidal cell-mimics. *Nature*. 2021;597(7875):220–224. DOI: 10.1038/s41586-021-03774-y.
90. Liu S, Zhang Y, Li M, Xiong L, Zhang Z, Yang X, et al. Enzyme-mediated nitric oxide production in vasoactive erythrocyte membrane-enclosed coacervate protocells. *Nature Chemistry*. 2020;12(12):1165–1173. DOI: 10.1038/s41557-020-00585-y.
91. Sun S, Li M, Dong F, Wang S, Tian L, Mann S. Chemical signaling and functional activation in colloidosome-based protocells. *Small*. 2016;12(14):1920–1927. DOI: 10.1002/smll.201600243.
92. Bolognesi G, Friddin MS, Salehi-Reyhani A, Barlow NE, Brooks NJ, Ces O, et al. Sculpting and fusing biomimetic vesicle networks using optical tweezers. *Nature Communications*. 2018;9:1882. DOI: 10.1038/s41467-018-04282-w.
93. Yang Q, Guo Z, Liu H, Peng R, Xu L, Bi C, et al. A cascade signaling network between artificial cells switching activity of synthetic transmembrane channels. *Journal of the American Chemical Society*. 2021;143(1):232–240. DOI: 10.1021/jacs.0c09558.
94. Søgaard AB, Pedersen AB, Løvschall KB, Monge P, Jakobsen JH, Džabbarova L, et al. Transmembrane signaling by a synthetic receptor in artificial cells. *Nature Communications*. 2023;14:1646. DOI: 10.1038/s41467-023-37393-0.
95. Stano P. A four-track perspective for bottom-up synthetic cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022;10:1029446. DOI: 10.3389/fbioe.2022.1029446.
96. Diltemiz SE, Ertas YN, Contag CH, Ashammakhi N. Drug delivery by artificial cells. *The Journal of Craniofacial Surgery*. 2023;34(1):9–10. DOI: 10.1097/scs.00000000000008897.
97. Gregoriadis G, editor. *Drug carriers in biology and medicine*. London: Academic Press; 1979. XVIII, 363 p.
98. Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2005;4(2):145–160. DOI: 10.1038/nrd1632.
99. Chang TMS. Biodegradable semipermeable microcapsules containing enzymes, hormones, vaccines, and other biologicals. *Journal of Bioengineering*. 1976;1(1):25–32. PMID: 1052520.
100. McDaid WJ, Lissin N, Pollheimer E, Greene M, Leach A, Smyth P, et al. Enhanced target-specific delivery of docetaxel-loaded nanoparticles using engineered T cell receptors. *Nanoscale*. 2021;13(35):15010–15020. DOI: 10.1039/d1nr04001d.
101. Chang TMS. Semipermeable aqueous microcapsules («artificial cells»): with emphasis on experiments in an extracorporeal shunt system. *Transactions – American Society for Artificial Internal Organs*. 1966;12:13–19.
102. Fathi Karkan S, Mohammadhosseini M, Panahi Y, Milani M, Zarghami N, Akbarzadeh A, et al. Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis and treatment: a review. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2017;45(1):1–5. DOI: 10.3109/21691401.2016.1153483.
103. Lv Q, Cheng L, Lu Y, Zhang X, Wang Y, Deng J, et al. Thermosensitive exosome – liposome hybrid nanoparticle-mediated chemioimmunotherapy for improved treatment of metastatic peritoneal cancer. *Advanced Science*. 2020;7(18):2000515. DOI: 10.1002/adv.202000515.
104. Qiao B, Luo Y, Cheng H-B, Ren J, Cao J, Yang C, et al. Artificial nanotargeted cells with stable photothermal performance for multimodal imaging-guided tumor-specific therapy. *ACS Nano*. 2020;14(10):12652–12667. DOI: 10.1021/acsnano.0c00771.
105. Chang TMS. Red blood cell replacement, or nanobiotherapeutics with enhanced red blood cell functions? *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2015;43(3):145–147. DOI: 10.3109/21691401.2015.1047557.
106. Winslow RM, editor. *Blood substitutes*. Amsterdam: Academic Press; 2006. XX, 548 p. DOI: 10.1016/b978-0-12-759760-7.x5000-8.
107. Moore EE, Moore FA, Fabian TC, Bernard AC, Fulda GJ, Hoyt DB, et al. Human polymerized hemoglobin for the treatment of hemorrhagic shock when blood is unavailable: the USA multicenter trial. *Journal of the American College of Surgeons*. 2009;208(1):1–13. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.09.023.

108. Wang L, Liu F, Yan K, Pan W, Xu L, Liu H, et al. Effects of resuscitation with polymerized porcine hemoglobin (pPolyHb) on hemodynamic stability and oxygen delivery in a rat model of hemorrhagic shock. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2017;45(1):51–57. DOI: 10.1080/21691401.2016.1185728.
109. Li Y, Yan D, Hao S, Li S, Zhou W, Wang H, et al. Polymerized human placenta hemoglobin improves resuscitative efficacy of hydroxyethyl starch in a rat model of hemorrhagic shock. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2015;43(3):174–179. DOI: 10.3109/21691401.2015.1024846.
110. Kim HW, Greenburg AG, editors. *Hemoglobin-based oxygen carriers as red cell substitutes and oxygen therapeutics*. Heidelberg: Springer; 2013. XXIII, 746 p. DOI: 10.1007/978-3-642-40717-8.
111. Mer M, Hodgson E, Wallis L, Jacobson B, Levien L, Snyman J, et al. Hemoglobin glutamer-250 (bovine) in South Africa: consensus usage guidelines from clinician experts who have treated patients. *Transfusion*. 2016;56(10):2631–2636. DOI: 10.1111/trf.13726.
112. Chang TMS, Bülow L, Jahr J, Sakai H, Yang C, editors. *Nanobiotherapeutic based blood substitutes*. Singapore: World Scientific; 2022. XXXI, 1010 p. (Chang TMS, editor. Regenerative medicine, artificial cells and nanomedicine; volume 6). DOI: 10.1142/12054.
113. Bian Y, Chang TMS. Nanobiotechnological basis of an oxygen carrier with enhanced carbonic anhydrase for CO₂ transport and enhanced catalase and superoxide dismutase for antioxidant function. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11:1188399. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1188399.
114. Chang TMS. Stabilisation of enzymes by microencapsulation with a concentrated protein solution or by microencapsulation followed by cross-linking with glutaraldehyde. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1971;44(6):1531–1536. DOI: 10.1016/s0006-291x(71)80260-7.
115. Muller CR, Williams AT, Walser C, Eaker AM, Sandoval JL, Cuddington CT, et al. Safety and efficacy of human polymerized hemoglobin on guinea pig resuscitation from hemorrhagic shock. *Scientific Reports*. 2022;12:20480. DOI: 10.1038/s41598-022-23926-y.
116. Muller CR, Williams AT, Munoz CJ, Eaker AM, Breton AN, Palmer AF, et al. Safety profile of high molecular weight polymerized hemoglobins. *Transfusion*. 2021;61(1):212–224. DOI: 10.1111/trf.16157.
117. Bian Y, Chang TMS. A novel nanobiotherapeutic poly-[hemoglobin – superoxide dismutase – catalase – carbonic anhydrase] with no cardiac toxicity for the resuscitation of a rat model with 90 minutes of sustained severe hemorrhagic shock with loss of 2/3 blood volume. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2015;43(1):1–9. DOI: 10.3109/21691401.2014.964554.
118. Guo C, Gym M, Chang TMS. Extraction of superoxide dismutase, catalase, and carbonic anhydrase from stroma-free red blood cell hemolysate for the preparation of the nanobiotechnological complex of polyhemoglobin – superoxide dismutase – catalase – carbonic anhydrase. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2015;43(3):157–162. DOI: 10.3109/21691401.2015.1035479.
119. Guo C, Chang TMS. Long term safety and immunological effects of a nanobiotherapeutic, bovine poly-[hemoglobin – catalase – superoxide dismutase – carbonic anhydrase], after four weekly 5 % blood volume top-loading followed by a challenge of 30 % exchange transfusion. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2018;46(7):1349–1363. DOI: 10.1080/21691401.2018.1476375.
120. Bian YZ, Guo C, Chang TMS. Temperature stability of poly-[hemoglobin – superoxide dismutase – catalase – carbonic anhydrase] in the form of a solution or in the lyophilized form during storage at –80 °C, 4 °C, 25 °C and 37 °C or pasteurization at 70 °C. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2016;44(1):41–47. DOI: 10.3109/21691401.2015.1110871.
121. Hu CMJ, Fang RH, Wang K-C, Luk BT, Thamphiwatana S, Dehaini D, et al. Nanoparticle biointerfacing by platelet membrane cloaking. *Nature*. 2015;526(7571):118–121. DOI: 10.1038/nature15373.
122. Anselmo AC, Modery-Pawlowski CL, Menegatti S, Kumar S, Vogus DR, Tian LL, et al. Platelet-like nanoparticles: mimicking shape, flexibility, and surface biology of platelets to target vascular injuries. *ACS Nano*. 2014;8(11):11243–11253. DOI: 10.1021/nm503732m.
123. Lashof-Sullivan MM, Shoffstall E, Atkins KT, Keane N, Bir C, VandeVord P, et al. Intravenously administered nanoparticles increase survival following blast trauma. *PNAS*. 2014;111(28):10293–10298. DOI: 10.1073/pnas.1406979111.
124. Zhang C, Zhang L, Wu W, Gao F, Li R-Q, Song W, et al. Artificial super neutrophils for inflammation targeting and HClO generation against tumors and infections. *Advanced Materials*. 2019;31(19):1901179. DOI: 10.1002/adma.201901179.
125. Ma Y, Yang H, Zong X, Wu J, Ji X, Liu W, et al. Artificial M2 macrophages for disease-modifying osteoarthritis therapeutics. *Biomaterials*. 2021;274:120865. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120865.
126. Chang TMS. Therapeutic applications of polymeric artificial cells. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2005;4(3):221–235. DOI: 10.1038/nrd1659.
127. Chang TMS, Poznansky MJ. Semipermeable microcapsules containing catalase for enzyme replacement in acatalasaemic mice. *Nature*. 1968;218(5138):243–245. DOI: 10.1038/218243a0.
128. Chang TMS. The *in vivo* effects of semipermeable microcapsules containing L-asparaginase on 6C3HED lymphosarcoma. *Nature*. 1971;229(5280):117–118. DOI: 10.1038/229117a0.
129. Poznansky MJ, Chang TMS. Comparison of the enzyme kinetics and immunological properties of catalase immobilized by microencapsulation and catalase in free solution for enzyme replacement. *Biochimica et Biophysica Acta – Enzymology*. 1974;334(1):103–115. DOI: 10.1016/0005-2744(74)90154-5.
130. Wetzler M, Sanford BL, Kurtzberg J, DeOliveira D, Frankel SR, Powell BL, et al. Effective asparagine depletion with pegylated asparaginase results in improved outcomes in adult acute lymphoblastic leukemia: cancer and leukemia group B study 9511. *Blood*. 2007;109(10):4164–4167. DOI: 10.1182/blood-2006-09-045351.
131. Kaminsky YuG, Kosenko EA. Argocytes containing enzyme nanoparticles reduce toxic concentrations of arginine in the blood. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012;153(3):406–408. DOI: 10.1007/s10517-012-1727-3.
132. Wang Y, Chang TMS. Biodegradable nanocapsules containing a nanobiotechnological complex for the *in vitro* suppression of a melanoma cell line B16F10. *Journal of Nanosciences: Current Research*. 2016;1(1):1000102. DOI: 10.4172/2572-0813.1000102.
133. Machover D, Rossi L, Hamelin J, Desterke C, Goldschmidt E, Chadeaux-Vekemans B, et al. Effects in cancer cells of the recombinant L-methionine gamma-lyase from *Brevibacterium aurantiacum*. Encapsulation in human erythrocytes for sustained L-methionine elimination. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2019;369(3):489–502. DOI: 10.1124/jpet.119.256537.
134. Kjellstrand C, Borges H, Pru C, Gardner D, Fink D. On the clinical use of microencapsulated zirconium phosphate-urease for the treatment of chronic uremia. *Transactions – American Society for Artificial Internal Organs*. 1981;27:24–30.
135. Palmour RM, Goodyer P, Reade T, Chang TMS. Microencapsulated xanthine oxidase as experimental therapy in Lesch – Nyhan disease. *The Lancet*. 1989;334(8664):687–688. DOI: 10.1016/s0140-6736(89)90939-2.

136. Bourget L, Chang TMS. Phenylalanine ammonia-lyase immobilized in microcapsules for the depletion of phenylalanine in plasma in phenylketonuric rat model. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*. 1986;883(3):432–438. DOI: 10.1016/0304-4165(86)90281-3.
137. Sarkissian CN, Kang TS, Gámez A, Sriver CR, Stevens RC. Evaluation of orally administered PEGylated phenylalanine ammonia lyase in mice for the treatment of phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2011;104(3):249–254. DOI: 10.1016/j.ymgme.2011.06.016.
138. AbuAbed OS, Chaw C, Williams L, Elkordy AA. Lysozyme and DNase I loaded poly(D, L-lactide-co-caprolactone) nanocapsules as an oral delivery system. *Scientific Reports*. 2018;8:13158. DOI: 10.1038/s41598-018-31303-x.
139. Rossi L, Pierigè F, Aliano MP, Magnani M. Ongoing developments and clinical progress in drug-loaded red blood cell technologies. *BioDrugs*. 2020;34(3):265–272. DOI: 10.1007/s40259-020-00415-0.
140. Rossi L, Pierigè F, Bregalda A, Magnani M. Preclinical developments of enzyme-loaded red blood cells. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2021;18(1):43–54. DOI: 10.1080/17425247.2020.1822320.
141. de la Fuente M, Lombardero L, Gómez-González A, Solari C, Angulo-Barturen I, Acera A, et al. Enzyme therapy: current challenges and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(17):9181. DOI: 10.3390/ijms22179181.
142. Sato YT, Umezaki K, Sawada S, Mukai S, Sasaki Y, Harada N, et al. Engineering hybrid exosomes by membrane fusion with liposomes. *Scientific Reports*. 2016;6:21933. DOI: 10.1038/srep21933.
143. Gee P, Lung MSY, Okuzaki Y, Sasakawa N, Iguchi T, Makita Y, et al. Extracellular nanovesicles for packaging of CRISPR-Cas9 protein and sgRNA to induce therapeutic exon skipping. *Nature Communications*. 2020;11:1334. DOI: 10.1038/s41467-020-14957-y.
144. Zhao X, Tang D, Wu Y, Chen S, Wang C. An artificial cell system for biocompatible gene delivery in cancer therapy. *Nanoscale*. 2020;12(18):10189–10195. DOI: 10.1039/c9nr09131a.
145. Wong H, Chang TMS. Bioartificial liver: implanted artificial cells microencapsulated living hepatocytes increases survival of liver failure rats. *The International Journal of Artificial Organs*. 1986;9(5):335–336. DOI: 10.1177/039139888600900515.
146. Hunkeler D, Rajotte R, Grey D, Morel P, Skjak-Break G, Korbitt G, et al. Bioartificial organ grafts: a view at the beginning of the third millennium. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*. 2003;31(4):365–382. DOI: 10.1081/bio-120025408.
147. Rokstad AM, Lacík I, de Vos P, Strand BL. Advances in biocompatibility and physico-chemical characterization of microspheres for cell encapsulation. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;67–68:111–130. DOI: 10.1016/j.addr.2013.07.010.
148. Chang TMS, editor. *Selected topics in nanomedicine*. Singapore: World Scientific; 2014. VIII, 590 p. (Chang TMS, editor. Regenerative medicine, artificial cells and nanomedicine; volume 3). DOI: 10.1142/8776.
149. Prakash S, Chang TMS. Microencapsulated genetically engineered live *E. coli* DH5 cells administered orally to maintain normal plasma urea level in uremic rats. *Nature Medicine*. 1996;2(8):883–887. DOI: 10.1038/nm0896-883.
150. Iqbal UH, Westfall S, Prakash S. Novel microencapsulated probiotic blend for use in metabolic syndrome: design and *in vivo* analysis. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2018;46(supplement 3):116–124. DOI: 10.1080/21691401.2018.1489270.
151. Liu ZC, Chang TMS. Artificial cell microencapsulated stem cells in regenerative medicine, tissue engineering and cell therapy. In: Pedraz JL, Orive G, editors. *Therapeutic applications of cell microencapsulation*. New York: Springer Science + Business Media; 2010. p. 68–79 (Back N, Cohen IR, Lajtha A, Lambris JD, Paoletti R, editors. Advances in experimental medicine and biology; volume 670). Co-published by the Landes Bioscience. DOI: 10.1007/978-1-4419-5786-3_7.
152. Grant R, Hay D, Callanan A. From scaffold to structure: the synthetic production of cell derived extracellular matrix for liver tissue engineering. *Biomedical Physics and Engineering Express*. 2018;4(6):065015. DOI: 10.1088/2057-1976/aacbe1.
153. Tsai RK, Rodriguez PL, Discher DE. Self inhibition of phagocytosis: the affinity of «marker of self» CD47 for SIRPα dictates potency of inhibition but only at low expression levels. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2010;45(1):67–74. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.02.016.
154. Rodriguez PL, Harada T, Christian DA, Pantano DA, Tsai RK, Discher DE. Minimal «self» peptides that inhibit phagocytic clearance and enhance delivery of nanoparticles. *Science*. 2013;339(6122):971–975. DOI: 10.1126/science.1229568.
155. Zhang M, Gao S, Yang D, Fang Y, Lin X, Jin X, et al. Influencing factors and strategies of enhancing nanoparticles into tumors *in vivo*. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021;11(8):2265–2285. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.03.033.
156. Le Q-V, Lee J, Byun J, Shim G, Oh Y-K. DNA-based artificial dendritic cells for *in situ* cytotoxic T cell stimulation and immunotherapy. *Bioactive Materials*. 2022;15:160–172. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.12.001.
157. Sunshine JC, Perica K, Schneck JP, Green JJ. Particle shape dependence of CD8⁺ T cell activation by artificial antigen presenting cells. *Biomaterials*. 2014;35(1):269–277. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.09.050.
158. Song S, Jin X, Zhang L, Zhao C, Ding Y, Ang Q, et al. PEGylated and CD47-conjugated nanoellipsoidal artificial antigen-presenting cells minimize phagocytosis and augment anti-tumor T cell responses. *International Journal of Nanomedicine*. 2019;14:2465–2483. DOI: 10.2147/ijn.s195828.
159. Yang W, Deng H, Zhu S, Lau J, Tian R, Wang S, et al. Size-transformable antigen-presenting cell-mimicking nanovesicles potentiate effective cancer immunotherapy. *Science Advances*. 2020;6(50):eabd1631. DOI: 10.1126/sciadv.abd1631.
160. Sun Y, Sun J, Xiao M, Lai W, Li L, Fan C, et al. DNA origami-based artificial antigen-presenting cells for adoptive T cell therapy. *Science Advances*. 2022;8(48):eadd1106. DOI: 10.1126/sciadv.add1106.
161. Dutt Y, Pandey RP, Dutt M, Gupta A, Vibhuti A, Vidic J, et al. Therapeutic applications of nanobiotechnology. *Journal of Nanobiotechnology*. 2023;21:148. DOI: 10.1186/s12951-023-01909-z.
162. Bedau MA, McCaskill JS, Packard NH, Rasmussen S. Living technology: exploiting life's principles in technology. *Artificial Life*. 2010;16(1):89–97. DOI: 10.1162/artl.2009.16.1.16103.
163. Chang TMS. Artificial cell evolves into nanomedicine, biotherapeutics, blood substitutes, drug delivery, enzyme/gene therapy, cancer therapy, cell / stem cell therapy, nanoparticles, liposomes, bioencapsulation, replicating synthetic cells, cell encapsulation/scaffold, biosorbent/immunosorbent haemoperfusion/plasmapheresis, regenerative medicine, encapsulated microbe, nanobiotechnology, nanotechnology. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2019;47(1):997–1013. DOI: 10.1080/21691401.2019.1577885.

Физиология и клеточная биология

PHYSIOLOGY AND CELL BIOLOGY

УДК 612.11

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ СЫВОРОТОЧНОГО ЦИСТАТИНА С У СПОРТСМЕНОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА В ТРЕНИРОВОЧНОМ ПРОЦЕССЕ

С. О. ГАВРИЛОВА-МАКСИМЧИК¹⁾

¹⁾Республиканский научно-практический центр спорта,
ул. Нарочанская, 8, 220062, г. Минск, Беларусь

Представлены результаты анализа целесообразности включения новых биохимических маркеров в углубленное медицинское обследование спортсменов и текущий биохимический контроль за ходом тренировочного процесса в циклических видах спорта, полученные во время специально-подготовительного периода годового цикла подготовки 68 членов национальных и сборных команд Республики Беларусь. Установлено, что интенсивное комплексное воздействие тренировочных нагрузок в циклических видах спорта не влияет на содержание цистатина С в сыворотке крови. Данный показатель может служить дополнительным маркером патологии функции почек, заболеланий сердечно-сосудистой системы у профессиональных спортсменов.

Ключевые слова: адаптация; цистатин С; циклические виды спорта; спортсмены; тренировочный процесс; биохимические маркеры.

Образец цитирования:

Гаврилова-Максимчик С.О. Комплексная оценка диагностической значимости определения уровня сывороточного цистатина С у спортсменов циклических видов спорта в тренировочном процессе. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;1:19–26.
EDN: FGXHHM

For citation:

Gavrilova-Maksimchik SO. Comprehensive assessment of the diagnostic significance of determining serum cystatin C level in athletes of cyclic sports during the training process. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024;1:19–26. Russian.
EDN: FGXHHM

Автор:

Светлана Олеговна Гаврилова-Максимчик – научный сотрудник лаборатории биохимии.

Author:

Svetlana O. Gavrilova-Maksimchik, researcher at the laboratory of biochemistry.
gavrilova.so@yandex.ru



COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF DETERMINING SERUM CYSTATIN C LEVEL IN ATHLETES OF CYCLIC SPORTS DURING THE TRAINING PROCESS

S. O. GAVRILOVA-MAKSIMCHIK^a

^aRepublican Scientific and Practical Center of Sports, 8 Narachanskaja Street, Minsk 220062, Belarus

This article presents the results of an analysis of the feasibility of inclusion of new biochemical markers in an in-depth medical examination of athletes and current biochemical control of the training process, obtained in the special preparatory period of the annual training cycle of 68 members of national teams of the Republic of Belarus. It has been established that intensive complex exposure to training loads in cyclic sports does not affect the content of cystatin C in the blood serum. This indicator can serve as an additional marker of pathology of kidney function and diseases of the cardiovascular system in professional athletes.

Keywords: adaptation; cystatin C; cyclic sports; athletes; training process; biochemical markers.

Введение

В настоящее время определение биохимических маркеров является неотъемлемой частью текущего контроля за функциональным состоянием высококвалифицированных спортсменов. Однако часто результаты мониторинга биохимических показателей не несут в себе всей необходимой информации для оценки постнагрузочных изменений и влияния тренировочных воздействий на те или иные органы и системы в целом. В связи с этим весьма актуальными представляются расширение и оптимизация списка анализируемых показателей. Задачей современной биохимии спорта является не только объективизация всех этапов тренировочного процесса и оценка адекватности тренировочных воздействий функциональным возможностям спортсмена, но и системный биохимический мониторинг как здоровьесберегающий подход в разработке тренировочных программ.

Интенсивные физические нагрузки вызывают в организме человека значительные компенсаторные сдвиги. При неправильном построении режима тренировок и без должного медико-биологического контроля наступает состояние декомпенсации, которое влечет за собой истощение энергетических структур и механизмов, включая угнетение работы ферментных систем. Если неблагоприятные изменения превышают адаптационные возможности организма спортсмена, это может привести к срыву компенсаторных механизмов и необратимым нарушениям жизненно важных функций [1, с. 15].

К наиболее информативным маркерам, отражающим адекватность тренировочных воздействий, относят продукт белкового обмена – мочевины [1]. Данный биохимический маркер указывает на сбалансированность процессов анаболизма и катаболизма белков, позволяет оценить полноценность пищевого рациона спортсменов. Концентрация мочевины дает информацию о суммарном воздействии объема и интенсивности тренировочных нагрузок, а также определяет степень восстановления после них. Значения выше 6,8 ммоль/л у женщин и более 7,2 ммоль/л у мужчин указывают на неправильный подбор тренировочных нагрузок.

Высокоинтенсивные тренировки выполняют под строгим контролем, так как они способны приводить к перенапряжению мышечных тканей, нарушать проницаемость мембран миоцитов, что сопровождается увеличением активности креатинфосфокиназы (КФК) – фермента, принимающего участие в энергообеспечении мышечной работы при выполнении нагрузок максимальной мощности. Для дифференциальной диагностики повреждения скелетной мускулатуры и инфаркта миокарда используют индекс повреждения мышечной ткани, определяемый как соотношение уровней КФК и аспартатаминотрансферазы (АСТ) [2].

В спортивной практике повышение активности АСТ в сыворотке крови позволяет выявить изменения в метаболизме сердца, мышц и оценить адекватность тренировочных воздействий. При патологии сердечной и скелетных мышц в большей степени возрастает уровень АСТ и незначительно увеличивается содержание аланинаминотрансферазы (АЛТ). Данное повышение ферментативной активности способствует росту коэффициента де Ритиса, рассчитываемого как соотношение уровней АСТ и АЛТ [3].

Согласно результатам работы [4] чрезмерное выполнение как однократных, так и многократных физических упражнений приводит к повреждению проксимальных канальцев почек, которое может быть вызвано окислительным стрессом. Накопление миоглобина во время тренировочных воздействий обуславливает образование активных форм кислорода и перекисное окисление липидов, которое приводит к повреждению клеточных мембран и кровеносных сосудов в почках [4; 5].

По данным Американской кардиологической ассоциации (*American Heart Association*, АНА), риск внезапной кардиальной смерти при физических нагрузках (во время спортивных тренировок и соревнований) возрастает среди людей, у которых не были диагностированы сердечные патологии. Наиболее часто среди кардиологических нарушений у молодых спортсменов встречается гипертрофическая кардиомиопатия [6]. Установлена тесная взаимосвязь между патологическими процессами в мочевыделительной и сердечно-сосудистой системах. Так, в рекомендациях Европейского общества кардиологов (*European Society of Cardiology*, ESC) по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике (2016) для повышения точности стратификации риска сердечно-сосудистых заболеваний предложено учитывать скорость клубочковой фильтрации, но не сказано о том, какой показатель почечной дисфункции (уровень креатинина или цистатина С) лучше использовать и какова формула расчета скорости клубочковой фильтрации [7]. В пересмотре данных рекомендаций (2021) предложено отказаться от рутинного использования биомаркеров, поскольку серьезные противоречия в публикациях уменьшают их значимость [8]. Таким образом, фактически признано, что кардиологические биомаркеры являются многообещающими прогностическими показателями, но необходимы дальнейшие исследования.

Выявлено, что дезадаптивные изменения в сердечно-сосудистой системе и дисфункция почек взаимодействуют по типу обратной связи. С одной стороны, почки являются органом-мишенью для факторов риска, связанных с патологическими изменениями в сердечно-сосудистой системе, а с другой стороны, они активно влияют на развитие системных метаболических и сосудистых патологических процессов, составляющих так называемый кардиоренальный континуум [9]. По этой причине в настоящее время для раннего выявления нарушения функции почек и оценки развития сердечно-сосудистых осложнений изучают прогностический потенциал цистатина С. Это негликозилированный основной белок с молекулярной массой 13 кДа, принадлежащий к группе ингибиторов цистатиновых протеиназ. Благодаря небольшим размерам и высокому рН цистатин С свободно фильтруется клубочками, реабсорбируется в почечных канальцах, не возвращаясь в кровоток, что и позволяет рассматривать его как прогностический маркер дисфункции почек [10].

Помимо того, что цистатин С является надежным индикатором состояния почечной функции, по мнению некоторых авторов, он обладает большей диагностической чувствительностью и специфичностью в отношении снижения скорости клубочковой фильтрации, чем креатинин, и оценивается в качестве альтернативного маркера для раннего выявления почечной дисфункции при нормальном уровне креатинина. Сывороточную концентрацию цистатина С считают относительно стабильной и мало зависящей от различных факторов [11–13]. Таким образом, содержание цистатина С в периферической крови может служить предиктором ближайшего и отдаленного прогноза острого повреждения почек.

В работе [14] выявлена взаимосвязь между уровнем сывороточного цистатина С и развитием сердечной недостаточности, особенно у людей с физиологической нормой функционирования мочевыделительной системы. Установлено, что более высокая концентрация цистатина С в сыровотке крови является независимым предиктором сердечной недостаточности у лиц без диагностированной хронической болезни почек, тогда как расчетная скорость клубочковой фильтрации такими прогностическими возможностями не обладает.

В процессе системного биохимического мониторинга в случае, когда вышеизложенные показатели превышают нормы, установленные для здорового населения, их соотносят с особенностями адаптивного ответа организма спортсмена на оказываемую нагрузку. Актуально уточнить, чем обусловлено повышение уровня цистатина С в сыровотке крови: воздействием тренировочных нагрузок либо развитием патологических процессов в организме человека. Исходя из этого, цель настоящего исследования – оценить информативность определения уровня сывороточного цистатина С у спортсменов в тренировочном процессе и проанализировать изменения данного показателя под воздействием тренировочных нагрузок.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 68 спортсменов-добровольцев национальных и сборных команд Республики Беларусь по академической гребле, биатлону, конькобежному спорту и лыжным гонкам. Среди них было 35 мужчин (кандидатов в мастера спорта (КМС) – 19 человек, мастеров спорта (МС) – 10 человек, мастеров спорта международного класса (МСМК) – 6 человек) и 33 женщины (КМС – 18 человек, МС – 11 человек, МСМК – 4 человека). Все спортсмены были заранее проинформированы об условиях эксперимента и дали согласие на участие в нем, а исследования выполнялись с соблюдением основных биоэтических правил.

Для оценки адаптивных реакций организма определяли следующие биохимические маркеры в сыворотке крови:

- концентрацию мочевины;
- уровень креатинина;
- содержание общего белка;
- уровни АСТ и АЛТ;
- содержание КФК;
- концентрацию цистатина С.

Рассчитывали диагностически важные индексы для оценки патологических состояний – коэффициент де Ритиса (АСТ/АЛТ) и индекс повреждения мышечной ткани (КФК/АСТ).

Уровни биохимических показателей изучали в лаборатории биохимии Республиканского научно-практического центра спорта с помощью биохимического анализатора ВА-400 (*Biosystems*, Испания) и фотометра для микропланшетов HiRo MPP-96 (*Biosan*, Латвия).

Лабораторное обследование спортсменов по определению биохимических маркеров в крови проводили в ходе учебно-тренировочного сбора во время специально-подготовительного периода годового цикла подготовки. Забор крови осуществляли в середине недельного микроцикла через 12 ч после последних тренировочных воздействий утром натощак. Суточное потребление белка с пищей составило не более 2 г на 1 кг массы тела. Лица, получающие дополнительное белковое питание, были исключены из исследования.

Анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения *Statistica* (версия 10.0). Применяли методы описательной статистики и сравнительного анализа с использованием *U*-критерия Манна – Уитни для независимых переменных. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Для накопления данных и первичной работы с ними применяли программу *Excel* (пакет *Microsoft Office 2016*).

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования было установлено (см. таблицу), что среднее содержание мочевины в сыворотке крови как у мужчин, так и у женщин превышает значения физиологической нормы, а в некоторых случаях достигает 10,59 ммоль/л у мужчин и 14,18 ммоль/л у женщин, что для нетренированного человека свидетельствует о нарушении фильтрационной функции почек. Но у спортсменов, как известно, тренировки на выносливость вызывают достоверное увеличение концентрации мочевины, что связано с повышением активности катаболических процессов, затрагивающих белковые структуры, из-за использования энергетических источников – липидов и углеводов [15]. По этой причине для корректной оценки данного показателя необходимо учитывать режим и рацион питания, а также фармакологическое обеспечение подготовки спортсменов.

Биохимические показатели спортсменов циклических видов спорта
Biochemical indicators of athletes of cyclic sports

Биохимический маркер	Пол	Среднее значение $\pm$ стандартное отклонение	Диапазон значений	Статистическая значимость различий (p)	Физиологическая норма для здоровых людей
Концентрация мочевины, ммоль/л	Мужчины	7,31 $\pm$ 1,08	6,02–10,59	0,052	3,2–7,2
	Женщины	6,91 $\pm$ 1,73	4,60–14,18		2,6–6,7
Уровень креатинина, мкмоль/л	Мужчины	82,97 $\pm$ 13,53	59,0–116,2	0,010*	62–106
	Женщины	75,95 $\pm$ 9,32	58,23–96,12		44–80
Содержание общего белка, г/л	Мужчины	69,22 $\pm$ 5,58	59,08–80,34	0,570	65–85
	Женщины	68,52 $\pm$ 3,87	60,54–76,60		
Уровень АСТ, ед./л	Мужчины	37,06 $\pm$ 12,68	20,8–81,2	0,025*	До 40
	Женщины	33,37 $\pm$ 12,94	21,2–95,4		До 32
Уровень АЛТ, ед./л	Мужчины	33,35 $\pm$ 14,76	13,6–90,4	0,000 2*	До 40
	Женщины	25,75 $\pm$ 8,53	16,2–66,0		До 32
Содержание КФК, ед./л	Мужчины	538,0 $\pm$ 406,1	105,0–2274,0	1,000	24–195
	Женщины	373,3 $\pm$ 349,1	86,0–1754,0		24–170
Индекс повреждения мышечной ткани	Мужчины	17,55 $\pm$ 6,66	6,7–28,0	0,798 9	9–13
	Женщины	17,99 $\pm$ 4,59	8,28–22,85		

Окончание таблицы
Ending of the table

Биохимический маркер	Пол	Среднее значение $\pm$ стандартное отклонение	Диапазон значений	Статистическая значимость различий (p)	Физиологическая норма для здоровых людей
Коэффициент де Ритиса	Мужчины	$1,29 \pm 0,49$	0,59–2,25	0,176	0,91–1,75
	Женщины	$1,47 \pm 0,37$	0,815–2,040		
Концентрация цистатина С, мг/л	Мужчины	$0,81 \pm 0,16$	0,59–1,03	0,736	0,59–1,03
	Женщины	$0,80 \pm 0,17$	0,58–1,00		

Как следует из представленных в таблице результатов, средние значения уровня креатинина (по которому оценивают индивидуальную емкость и мощность креатинфосфатного механизма энергообеспечения мышечного сокращения [16]) в сыворотке крови не выходили за пределы физиологического оптимума. Были получены статистически значимые различия между мужчинами и женщинами ($p = 0,010$).

Среднее содержание общего белка в сыворотке крови находилось в пределах нормы, даже максимальные значения не пересекали границы диапазона физиологического оптимума.

Известно, что повышение активности АСТ при системном обследовании спортсменов позволяет выявить ранние признаки изменений метаболических процессов, протекающих в сердечной мышце [3]. Так, в настоящем исследовании изучение динамики содержания АСТ в сыворотке крови показало, что средние значения данного маркера не выходили за пределы нормы для здорового человека. Индивидуальные показатели, значимо превышающие норму, редко, но встречались. Это позволило обратить внимание на прогностический потенциал коэффициента де Ритиса.

У мужчин максимальный уровень АСТ составил 81,2 ед./л, а у женщин – 95,4 ед./л. Содержание АСТ в группах достоверно отличалось ($p = 0,025$). Указанные результаты стали основанием для коррекции тренировочных нагрузок.

Средние значения ферментативной активности КФК как у мужчин, так и у женщин выходили за пределы физиологического оптимума и составляли ($538,0 \pm 406,1$) ед./л и ($373,3 \pm 349,1$) ед./л соответственно. Максимальные значения активности КФК существенно превышали норму, принятую для здорового человека, и достигали 2274,0 ед./л у мужчин и 1754,0 ед./л у женщин.

Средние значения индекса повреждения мышечной ткани, рассчитанного при повышенных значениях активности КФК и АСТ, составили $17,55 \pm 6,66$ у мужчин и $17,99 \pm 4,59$ у женщин. Данный факт свидетельствует о преобладании повреждения мышечной ткани, но не кардиомиоцитов. Значимых различий между мужчинами и женщинами не выявлено ($p = 0,7989$).

Коэффициент де Ритиса, рассчитанный при повышенных значениях активности АСТ и АЛТ в обеих сравниваемых группах, находился в пределах нормы как у мужчин, так и у женщин, что свидетельствует об отсутствии патологических процессов в сердечной мышце и печени. Достоверных различий между группами не выявлено ($p = 0,176$).

Повышение сывороточной концентрации цистатина С служит ранним предиктором нарушения функции почек и сердечно-сосудистой системы [10]. В настоящем исследовании даже его максимальные значения не выходили за пределы нормы, принятой для здорового человека. С учетом этого факта, несмотря на то что по значениям отдельных биохимических показателей общее состояние спортсменов можно оценить как физиологическое перенапряжение, делаем вывод о том, что у обследуемых спортсменов на данном этапе подготовки отсутствуют поражения печени, почек, нарушение скорости клубочковой фильтрации, а также функциональные изменения в работе сердечно-сосудистой системы. То есть все биохимические сдвиги как у мужчин, так и у женщин обусловлены адаптивной реакцией организма на тренировочные воздействия.

Результаты настоящего исследования дополняют и подтверждают данные других исследований. Например, в работе [17] при оценке концентрации сывороточного цистатина С и креатинина в середине соревновательного сезона, когда психофизическое напряжение спортсменов достигает наивысшего уровня, у игроков в регби отмечено увеличение концентрации креатинина в сыворотке крови, тогда как содержание цистатина С не было повышено ни у одного спортсмена.

При биохимическом мониторинге профессиональных велосипедистов во время трехнедельной гонки «Джиро д'Италия» установлено, что сывороточная концентрация цистатина С не изменялась по сравнению с исходным уровнем как сразу после гонки на финише, так и спустя 24 ч после прохождения дистанции. Вместе с тем сывороточная концентрация креатинина у велогонщиков была ниже референтного интервала [18].

В работе [19] установлены изменения ряда биохимических маркеров у борцов греко-римского стиля. Однако существенных колебаний уровня цистатина С во время наблюдения не выявлено. Следует отметить, что в данном виде спорта, помимо влияния тяжелых физических нагрузок, присутствует сгонка веса перед ответственными стартами, что также может негативно сказываться на работе мочевыделительной системы [19].

У физиологически здоровых людей, участвующих в Бостонском марафоне, содержание цистатина С в сыворотке крови под влиянием физических нагрузок не выходило за пределы референтных интервалов [20; 21]. Однако авторы обратили внимание на то, что результаты их наблюдений разнятся с данными ряда других подобных исследований, где концентрация цистатина С после марафона повышается по сравнению с исходными значениями, но восстанавливается до нормального уровня в течение 24 ч [22–24]. Такие различия они связали с неоднородностью выборки в группах, дизайном исследования, методологией. Кроме того, исследователи отметили сложность интерпретации результатов: невозможно однозначно сказать, связаны ли выявленные изменения с патологией мочевыделительной системы или являются адаптацией метаболизма к марафонской дистанции.

Приведенные выше исследования показали, что у спортсменов при тяжелых физических нагрузках сывороточная концентрация цистатина С может служить биохимическим маркером не адаптивной реакции организма на тренировочные воздействия, а клинической патологии. Данные наблюдения находят подтверждение и в настоящей работе.

В клинических исследованиях у пациентов с установленной патологией сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем сывороточная концентрация цистатина С изменяется под действием физических нагрузок. Так, в когортном исследовании Д. Макмануса и соавторов у амбулаторных пациентов с ишемической болезнью сердца при выполнении тестирования со ступенчато возрастающей нагрузкой на беговой дорожке содержание цистатина С увеличивалось и отмечалась линейная связь с плохой переносимостью физической нагрузки и частотой сердечных сокращений. Результаты данного исследования показали, что уровень цистатина С является независимым предиктором неблагоприятного прогноза работы сердечно-сосудистой системы при ишемической болезни сердца [25].

Учитывая, что часть значений стандартных маркеров повреждения почек, таких как концентрация мочевины и уровень креатинина, в спорте высших достижений превосходят нормы, принятые для здорового человека, а референтные интервалы биохимических показателей, характерные для спортсменов, слабо изучены, цистатин С можно рекомендовать как маркер поражения почек, отражающий риск для сердечно-сосудистой системы у профессиональных спортсменов. По этой причине включение определения уровня сывороточного цистатина С в углубленное медицинское обследование профессиональных спортсменов позволит предупредить неблагоприятные последствия для здоровья и избежать их в долгосрочной перспективе.

Заключение

Результаты исследования показали, что системный мониторинг биохимических маркеров сохраняет свою актуальность и остается оптимальным способом оценки переносимости тренировочных нагрузок и степени восстановления после них.

Установлено, что интенсивное комплексное воздействие тренировочных нагрузок в циклических видах спорта значимо не влияет на содержание цистатина С в сыворотке крови. Следовательно, для оценки адекватности физических нагрузок данный маркер неинформативен. При обращении к научной и научно-технической литературе отмечено недостаточное количество исследований, посвященных изучению динамики уровня цистатина С в спортивной практике. Поскольку превышение данного клинического маркера может быть сопряжено с фатальными последствиями, особую актуальность приобретает изучение его индивидуальных уровней в спорте высших достижений.

Полученные результаты служат обоснованием внедрения в протокол углубленного медицинского обследования спортсменов диагностики сывороточного цистатина С. Это будет способствовать сохранению здоровья спортсменов, предупреждению развития и ранней диагностике патологических состояний. Научно обоснованная система применения методов и средств медико-биологического контроля позволит повысить эффективность управления тренировочным процессом и расширит возможности здоровьесберегающих технологий.

При интерпретации полученных результатов необходимо учитывать ряд ограничений: оценка связи сывороточной концентрации цистатина С и действия тренировочных нагрузок проводилась в циклических видах спорта, таких как академическая гребля, биатлон, конькобежный спорт и лыжные гонки, у здоровых профессиональных спортсменов в условиях учебно-тренировочного сбора. Таким образом, результаты настоящего исследования не могут быть распространены на другие виды спортивной специализации или на лиц с какими-либо заболеваниями.

Библиографические ссылки

1. Вознесенский ЛС, Адамович ИМ, Аржанова ГД, Моисеев ДР. *Использование показателя мочевины крови при проведении текущего и этапного контроля в плавании*. Москва: Всесоюзный научно-исследовательский институт физической культуры; 1976. 29 с.
2. Невзорова ТГ, Шепурина ТА, Афанасьева ИА, Талибов АХ. Оценка адаптационных изменений тяжелоатлетов высокой квалификации с использованием биохимических маркеров. *Ученые записки университета имени П. Ф. Лесгафта*. 2023; 5:277–281.
3. Нехвядович АИ, Рыбина ИЛ, Будко АН, Ветчинкина ЕВ, Шерап НВ, Мороз ЕА и др. *Научно-методическое обеспечение подготовки спортивного резерва Республики Беларусь по группам видов спорта с использованием методов клинико-лабораторной диагностики*. Минск: Белорусский государственный университет физической культуры; 2018. 46 с.
4. Tripani WJ, Ilmiawan MI, Handoko W. The effect of single and repeated excessive swimming exercise on kidney histopathology of male rats wistar strain. *Muhammadiyah Medical Journal*. 2020;1(1):34–44. DOI: 10.24853/mmj.1.1.33–42.
5. Kim J, Lee J, Kim S, Ryu HY, Cha KS, Sung DJ. Exercise-induced rhabdomyolysis mechanisms and prevention: a literature review. *Journal of Sport and Health Science*. 2016;5(3):324–333. DOI: 10.1016/j.jshs.2015.01.012.
6. Harmon KG, Asif IM, Klossner D, Drezner JA. Incidence of sudden cardiac death in National Collegiate Athletic Association athletes. *Circulation*. 2011;123(15):1594–1600. DOI: 10.1161/circulationaha.110.004622.
7. Европейские рекомендации по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике (пересмотр 2016). *Российский кардиологический журнал*. 2017;6:7–85.
8. 2021. Рекомендации ESC по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(7):5155. DOI: 10.15829/1560-4071-2022-5155.
9. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ИГ. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии. *Нефрология*. 2005;9(3):7–15.
10. Виллевальде СВ, Гудалис НИ, Кобалава ЖД. Цистатин С как новый маркер нарушения функции почек и сердечно-сосудистого риска. *Кардиология*. 2010;50(6):78–82.
11. Hoek FJ, Kemperman FAW, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003;18(10):2024–2031. DOI: 10.1093/ndt/gfg349.
12. Harmoinen A, Lehtimäki T, Korpela M, Turjanmaa V, Saha H. Diagnostic accuracies of plasma creatinine, cystatin C, and glomerular filtration rate calculated by the Cockcroft – Gault and Levey (MDRD) formulas. *Clinical Chemistry*. 2003;49(7):1223–1225. DOI: 10.1373/49.7.1223.
13. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases*. 2002;40(2):221–226. DOI: 10.1053/ajkd.2002.34487.
14. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Fried LF, Newman AB, Stehman-Breen C, et al. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Annals of Internal Medicine*. 2006;145(4):237–246. DOI: 10.7326/0003-4819-145-4-200608150-00003.
15. Hong CZ, Lien IN. Metabolic effects of exhaustive training of athletes. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 1984; 65(7):362–365.
16. Корженевский АН, Тарасова ЛВ, Воробьев АА, Колокатова ЛФ. Комплексная диагностика подготовленности высококвалифицированных тяжелоатлетов. *Теория и практика физической культуры*. 2012;12:26–32.
17. Banfi G, Del Fabbro M, Melzi d'Eril G, Melegati G. Reliability of cystatin C in estimating renal function in rugby players. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2009;46(5):428. DOI: 10.1258/acb.2009.009135.
18. Colombini A, Corsetti R, Graziani R, Lombardi G, Lanteri P, Banfi G. Evaluation of creatinine, cystatin C and eGFR by different equations in professional cyclists during the Giro d'Italia 3-weeks stage race. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2012;72(2):114–120. DOI: 10.3109/00365513.2011.642305.
19. Trivic T, Roklicer R, Zenic N, Modric T, Milovancev A, Lukic-Sarkanovic M, et al. Rapid weight loss can increase the risk of acute kidney injury in wrestlers. *BMJ Open Sport and Exercise Medicine*. 2023;9(2):e001617. DOI: 10.1136/bmjsem-2023-001617.
20. Atkins WC, Butts CL, Kelly MR, Troyanos C, Laursen RM, Duckett A, et al. Acute kidney injury biomarkers and hydration outcomes at the Boston Marathon. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:813554. DOI: 10.3389/fphys.2021.813554.
21. Wolyniec W, Ratkowski W, Renke J, Renke M. Changes in novel AKI biomarkers after exercise. A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(16):5673. DOI: 10.3390/ijms21165673.
22. Mingels A, Jacobs L, Kleijnen V, Wodzig W, dan Dieijen-Visser M. Cystatin C a marker for renal function after exercise. *International Journal of Sports Medicine*. 2009;30(9):668–671. DOI: 10.1055/s-0029-1220733.
23. McCullough PA, Chinnaiyan KM, Gallagher MJ, Colar JM, Geddes T, Gold JM, et al. Changes in renal markers and acute kidney injury after marathon running. *Nephrology*. 2011;16(2):194–199. DOI: 10.1111/j.1440-1797.2010.01354.x.
24. Hewing B, Schattke S, Spethmann S, Sanad W, Schroeckh S, Schimke I, et al. Cardiac and renal function in a large cohort of amateur marathon runners. *Cardiovascular Ultrasound*. 2015;13:13. DOI: 10.1186/s12947-015-0007-6.
25. McManus D, Shlipak M, Ix JH, Ali S, Whooley MA. Association of cystatin C with poor exercise capacity and heart rate recovery: data from the heart and soul study. *American Journal of Kidney Diseases*. 2007;49(3):365–372. DOI: 10.1053/j.ajkd.2006.12.016.

References

1. Voznesenskii LS, Adamovich IM, Arzhanova GD, Moiseev DR. *Ispol'zovanie pokazatelya mocheviny krovi pri provedenii tekushchego i etapnogo kontrolya v plavanii* [Using the blood urea indicator when conducting routine and stage-by-stage monitoring in swimming]. Moscow: All-Union Research Institute of Physical Culture; 1976. 29 p. Russian.
2. Nevzorova TG, Sheshurina TA, Afanasieva IA, Talibov AKh. Assessment of adaptive changes of highly qualified weightlifters using biochemical markers. *Uchenye zapiski universiteta imeni P. F. Lesgafta*. 2023;5:277–281. Russian.

3. Nekhvyadovich AI, Rybina IL, Budko AN, Vetchinkina EV, Sherash NV, Moroz EA, et al. *Nauchno-metodicheskoe obespechenie podgotovki sportivnogo rezerva Respubliki Belarus' po gruppam vidov sporta s ispol'zovaniem metodov kliniko-laboratornoi diagnostiki* [Scientific and methodological support for the preparation of the sports reserve of the Republic of Belarus by groups of sports using clinical and laboratory diagnostic methods]. Minsk: Belarusian State University of Physical Culture; 2018. 46 p. Russian.
4. Tripani WJ, Ilmiawan MI, Handoko W. The effect of single and repeated excessive swimming exercise on kidney histopathology of male rats wistar strain. *Muhammadiyah Medical Journal*. 2020;1(1):34–44. DOI: 10.24853/mmj.1.1.33-42.
5. Kim J, Lee J, Kim S, Ryu HY, Cha KS, Sung DJ. Exercise-induced rhabdomyolysis mechanisms and prevention: a literature review. *Journal of Sport and Health Science*. 2016;5(3):324–333. DOI: 10.1016/j.jshs.2015.01.012.
6. Harmon KG, Asif IM, Klossner D, Drezner JA. Incidence of sudden cardiac death in National Collegiate Athletic Association athletes. *Circulation*. 2011;123(15):1594–1600. DOI: 10.1161/circulationaha.110.004622.
7. 2016 European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Russian Journal of Cardiology*. 2017;6:7–85. Russian.
8. 2021. ESC guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(7):5155. Russian. DOI: 10.15829/1560-4071-2022-5155.
9. Smimov AV, Dobronravov VA, Kayukov IG. Cardioresenal continuum: pathogenetical grounds of preventive nephrology. *Nephrology (Saint Petersburg)*. 2005;9(3):7–15. Russian.
10. Vilevalde SV, Gudgalis NI, Kobalava ZhD. Cystatin C as a novel marker of renal function impairment and cardiovascular risk. *Kardiologiia*. 2010;50(6):78–82. Russian.
11. Hoek FJ, Kemperman FAW, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003;18(10):2024–2031. DOI: 10.1093/ndt/fgf349.
12. Harmoinen A, Lehtimäki T, Korpela M, Turjanmaa V, Saha H. Diagnostic accuracies of plasma creatinine, cystatin C, and glomerular filtration rate calculated by the Cockcroft – Gault and Levey (MDRD) formulas. *Clinical Chemistry*. 2003;49(7):1223–1225. DOI: 10.1373/49.7.1223.
13. Dhamidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases*. 2002;40(2):221–226. DOI: 10.1053/ajkd.2002.34487.
14. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Fried LF, Newman AB, Stehman-Breen C, et al. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Annals of Internal Medicine*. 2006;145(4):237–246. DOI: 10.7326/0003-4819-145-4-200608150-00003.
15. Hong CZ, Lien IN. Metabolic effects of exhaustive training of athletes. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 1984;65(7):362–365.
16. Korzhenevsky AN, Tarasova LV, Vorob'ev AA, Kolokatova LF. Integrated diagnostics of fitness of elite weightlifters. *Teoriya i praktika fizicheskoi kul'tury*. 2012;12:26–32. Russian.
17. Banfi G, Del Fabbro M, Melzi d'Eril G, Melegati G. Reliability of cystatin C in estimating renal function in rugby players. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2009;46(5):428. DOI: 10.1258/acb.2009.009135.
18. Colombini A, Corsetti R, Graziani R, Lombardi G, Lanteri P, Banfi G. Evaluation of creatinine, cystatin C and eGFR by different equations in professional cyclists during the Giro d'Italia 3-weeks stage race. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2012;72(2):114–120. DOI: 10.3109/00365513.2011.642305.
19. Trivic T, Roklicer R, Zenic N, Modric T, Milovancev A, Lukic-Sarkanovic M, et al. Rapid weight loss can increase the risk of acute kidney injury in wrestlers. *BMJ Open Sport and Exercise Medicine*. 2023;9(2):e001617. DOI: 10.1136/bmjsem-2023-001617.
20. Atkins WC, Butts CL, Kelly MR, Troyanos C, Laursen RM, Duckett A, et al. Acute kidney injury biomarkers and hydration outcomes at the Boston Marathon. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:813554. DOI: 10.3389/fphys.2021.813554.
21. Wolyniec W, Ratkowski W, Renke J, Renke M. Changes in novel AKI biomarkers after exercise. A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(16):5673. DOI: 10.3390/ijms21165673.
22. Mingels A, Jacobs L, Kleijnen V, Wodzig W, dan Dieijen-Visser M. Cystatin C a marker for renal function after exercise. *International Journal of Sports Medicine*. 2009;30(9):668–671. DOI: 10.1055/s-0029-1220733.
23. McCullough PA, Chinnaiyan KM, Gallagher MJ, Colar JM, Geddes T, Gold JM, et al. Changes in renal markers and acute kidney injury after marathon running. *Nephrology*. 2011;16(2):194–199. DOI: 10.1111/j.1440-1797.2010.01354.x.
24. Hewing B, Schattke S, Spethmann S, Sanad W, Schroeckh S, Schimke I, et al. Cardiac and renal function in a large cohort of amateur marathon runners. *Cardiovascular Ultrasound*. 2015;13:13. DOI: 10.1186/s12947-015-0007-6.
25. McManus D, Shlipak M, Ix JH, Ali S, Whooley MA. Association of cystatin C with poor exercise capacity and heart rate recovery: data from the heart and soul study. *American Journal of Kidney Diseases*. 2007;49(3):365–372. DOI: 10.1053/ajkd.2006.12.016.

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

УДК 579.23; 579.22; 579.25; 579.8; 579.06

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛОКУСОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ДЕГРАДАЦИЮ ФЕНОЛА, В ГЕНОМЕ БАКТЕРИЙ ШТАММА *RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS* 5Ap

М. И. МАНДРИК¹⁾, А. Э. ОХРЕМЧУК²⁾, Л. Н. ВАЛЕНТОВИЧ²⁾,
Э. В. ТРУШЛИС¹⁾, А. Ю. ЛАРЧЕНКО¹⁾, С. Л. ВАСИЛЕНКО¹⁾

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

²⁾Институт микробиологии НАН Беларуси, ул. Академика Купревича, 2, 220084, г. Минск, Беларусь

Образец цитирования:

Мандрик МИ, Охремчук АЭ, Валентович ЛН, Трушлис ЭВ, Ларченко АЮ, Василенко СЛ. Характеристика генетических локусов, определяющих деградацию фенола, в геноме бактерий штамма *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;1:27–40. EDN: HMLZLH

For citation:

Mandryk MI, Akhremchuk AE, Valentovich LN, Trushlis EV, Larchenka AY, Vasylenko SL. Characteristics of phenol degradation genetic loci in the genome of bacteria *Rhodococcus pyridinivorans* strain 5Ap. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024;1:27–40. Russian. EDN: HMLZLH

Авторы:

Мария Ивановна Мандрик – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры микробиологии биологического факультета.

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

Леонид Николаевич Валентович – кандидат биологических наук, доцент; заведующий лабораторией «Центр аналитических и генно-инженерных исследований».

Элла Вячеславовна Трушлис – стажер младшего научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории биотехнологии кафедры микробиологии биологического факультета.

Алина Юрьевна Ларченко – аспирантка кафедры микробиологии биологического факультета. Научный руководитель – М. И. Мандрик.

Светлана Леонидовна Василенко – кандидат биологических наук; заведующий кафедрой микробиологии биологического факультета.

Authors:

Maryia I. Mandryk, PhD (biology), docent; associate professor at the department of microbiology, faculty of biology.

charynyi@bsu.by

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

akhremchuk@bio.bsu.by

Leonid N. Valentovich, PhD (biology), docent; head of the laboratory «Center of analytical and genetic engineering research».

valentovich@mbio.bas-net.by

Ella V. Trushlis, junior researcher trainee at the laboratory of biotechnology, department of microbiology, faculty of biology.

trushlisella@gmail.com

Alina Yu. Larchenka, postgraduate student at the department of microbiology, faculty of biology.

larch.alina@gmail.com

Svetlana L. Vasylenko, PhD (biology); head of the department of microbiology, faculty of biology.

vasylenko@tut.by

Охарактеризована динамика роста бактерий штамма *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap в среде с фенолом (200 мг/л). Бактерии достигают стационарной фазы через 24 ч культивирования. К этому времени происходит полная утилизация фенола. В результате полногеномного секвенирования установлено, что геном бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap представлен кольцевой хромосомой размером 5 220 735 пар нуклеотидов (номер в базе данных GenBank CP063450.1) и тремя кольцевыми мегаплазмидами – pSID размером 250 428 пар нуклеотидов (CP063453.1), pRh5Ap-243 размером 243 288 пар нуклеотидов (CP063452.1) и pNAPH размером 207 815 пар нуклеотидов (CP063451.1). Сравнение организации генов β -кетoadипатного пути биodeградации фенола в геномах 78 бактерий рода *Rhodococcus* групп В (подгруппы В1 и В2), С и D показало, что, несмотря на высокий уровень синтении в целом, каждая группа обладает особенностями в строении исследуемых локусов. В отличие от остальных групп у бактерий группы С опероны *pheA2A1* и *catABC* разделены тремя генами, в том числе генами *fadA* и *fadI*, которые определяют альтернативную возможность окисления фенола с образованием сукцинил-КоА (у других групп, по всей вероятности, образуется только ацетил-КоА). У родококков группы С и подгруппы В1 в геноме присутствует дополнительный локус, включающий гены *pheA2*, *pheA1* и *catA*. Второй локус у бактерий подгруппы В1, групп С и D представлен оперонами *pcaJ* и *pcaHGBLRF*, тогда как у бактерий подгруппы В2 он включает опероны *pcaJ* и *pcaBLRF*, а оперон *pcaHG*, кодирующий компоненты пирокатехин-3,4-диоксигеназы, расположен в ином локусе хромосомы. Регуляторные области оперонов *pheA2A1* и *catABC* у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap сходны с известными и содержат сайты связывания как специфических регуляторных белков PheR и CatR соответственно, так и глобального регулятора катаболизма CRP. В результате анализа межгенной области *pcaI* – *pcaB* бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap выявлены шесть потенциальных сайтов связывания белка PcaR. Характер расположения данных сайтов может свидетельствовать о двойной роли регуляторного белка PcaR: как репрессора в не связанном с эффектором состоянии и как активатора в связанном с эффектором состоянии.

Ключевые слова: *Rhodococcus*; бактерии-деструкторы; фенол; генетические локусы; гены биodeградации; регуляция.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» на 2021–2025 гг. (задание 3.6.2) при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Министерства образования Республики Беларусь (грант № B22MB-029).

CHARACTERISTICS OF PHENOL DEGRADATION GENETIC LOCI IN THE GENOME OF BACTERIA *RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS* STRAIN 5Ap

M. I. MANDRYK^a, A. E. AKHREMCHUK^b, L. N. VALENTOVICH^b,
E. V. TRUSHLIS^a, A. Yu. LARCHENKA^a, S. L. VASYLENKO^a

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

^bInstitute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus,
2 Akademika Kuprevicha Street, Minsk 220084, Belarus

Corresponding author: M. I. Mandryk (charynmi@bsu.by)

The growth dynamics of the bacteria *Rhodococcus pyridinivorans* strain 5Ap in a medium with phenol (200 mg/L) was characterised. The bacteria reach the stationary phase after 24 h of cultivation. By this time phenol is completely utilised. As a result of whole-genome sequencing, it was established that the genome of bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap is represented by a circular chromosome with a size of 5 220 735 base pairs (number in the GenBank database CP063450.1) and three circular megaplasms – pSID with a size of 250 428 base pairs (CP063453.1), pRh5Ap-243 with a size of 243 288 base pairs (CP063452.1) and pNAPH with a size of 207 815 base pairs (CP063451.1). A comparison of the organisation of genes of the β -ketoadipate phenol degradation pathway in the genomes of 78 bacteria of the genus *Rhodococcus* of groups B (subgroups B1 and B2), C and D showed that, despite the high level of synteny in general, each group has characteristic features in the structure of the studied loci. Unlike other groups, in genomes of group C bacteria the *pheA2A1* and *catABC* operons are separated by three genes, including *fadA* and *fadI* genes, which determine the alternative possibility of phenol oxidation with the formation of succinyl-CoA (in other groups, likely, only acetyl-CoA is formed). Rhodococci of group C and subgroup B1 have an additional locus in their genome, including the *pheA2*, *pheA1* and *catA* genes. The second locus in bacteria of the subgroup B1, groups C and D includes the *pcaJ* and *pcaHGBLRF* operons, while in bacteria of the subgroup B2 it includes the *pcaJ* and *pcaBLRF* operons, and the *pcaHG* operon, encoding the components of protocatechuate-3,4-dioxygenase, is located in a different chromosomal locus. The regulatory regions of the *pheA2A1* and *catABC* operons in the bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap are similar to the known ones and contain binding sites for both the specific regulatory proteins PheR and CatR, respectively, and for the global catabolism regulator CRP. As a result of analysis of the *pcaI* – *pcaB* intergenic region of *R. pyridinivorans* strain 5Ap, six potential

binding sites for the protein PcaR were identified. The nature of the location of these sites may indicate a dual role of the regulatory protein PcaR: as a repressor in a state unbound to the effector and as an activator in a state bound to the effector.

Keywords: *Rhodococcus*; phenol-degrading bacteria; phenol; genetic loci; genes of biodegradation; regulation.

Acknowledgements. This work was carried out within the framework of the state programme of scientific research «Biotechnologies-2» for 2021–2025 (assignment 3.6.2) with financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and the Ministry of Education of the Republic of Belarus (grant No. B22MV-029).

Введение

Бактерии – деструкторы фенола являются важными объектами исследования по нескольким причинам. Во-первых, фенол широко используется в различных отраслях промышленности и, попадая в окружающую среду с выбросами, становится токсичным загрязнителем. Его концентрация в стоках может значительно превышать предельно допустимую концентрацию (ПДК) (установленная Всемирной организацией здравоохранения ПДК фенола в водах хозяйственного назначения составляет 1 мкг/л) [1].

Во-вторых, некоторые фенолмонооксигеназы обладают расширенным спектром субстратной специфичности, окисляя не только фенол, но и его производные: 2-хлорфенол, 4-хлорфенол, 2,4-дихлорфенол, 4-метилфенол [2]. Хлорированные производные фенола относятся к приоритетным загрязнителям, так как, помимо непосредственного токсичного воздействия на живые организмы, они являются предшественниками полихлорированных диоксинов – суперэкоотоксикантов с канцерогенным действием [3].

В-третьих, ряд ферментов β -кетoadипатного и пирокатехинового путей деградации фенола вовлечены в деградацию других моноциклических ароматических соединений, в частности бензойной кислоты и фталатов [4; 5], которые входят в состав пластификаторов и являются одними из приоритетных загрязнителей экосистем [6].

В-четвертых, фенольные соединения образуются при обработке лигноцеллюлозы (дешевого и возобновляемого источника углеводов) в процессе получения потенциального сырья для микробного синтеза биотоплива. Но не все микроорганизмы, способные утилизировать образовавшиеся углеводы, обладают устойчивостью к фенолам. В связи с этим рассматриваются варианты предварительного удаления фенольных соединений бактериями-деструкторами [7].

Во всех перечисленных направлениях одними из наиболее перспективных являются бактерии рода *Rhodococcus*. Они имеют крупные и пластичные геномы. Гены биodeградации (в том числе фенола) чаще всего представлены несколькими копиями, которые кодируют изоформы ферментов, обладающие разной субстратной специфичностью или активные в разных условиях [2; 7]. Кроме того, родококки могут приспосабливаться к неблагоприятным условиям: путем адаптивной селекции добивались ускорения деградации фенола при различных температурах, высокой концентрации загрязнителя [1; 6; 8; 9].

Важным условием для направленной работы по увеличению деградативного потенциала (путем адаптивной селекции и генно-инженерных манипуляций [10]) является знание генетической организации путей биodeградации фенола и их регуляторных областей. К настоящему времени известно, что гены биodeградации фенола у бактерий рода *Rhodococcus* имеют хромосомную локализацию, что крайне выгодно при использовании бактерий этого рода, так как они не потеряют своих свойств в случае утраты плазмиды. Регуляция экспрессии генов биodeградации фенола осуществляется на уровне транскрипции несколькими регуляторами (как активаторами, так и репрессорами), при этом фенол выступает индуктором (по ряду данных, единственным [11; 12], однако есть сведения, что катехол и некоторые другие ароматические соединения также могут служить индукторами, хотя и более слабыми [13]). Одним из наиболее распространенных у родококков является путь ортоокисления фенола, включающий две ветви – β -кетoadипатную и пирокатехиновую. Гены, кодирующие ферменты биodeградации фенола по ортопути, собраны в опероны *pheA2A1*, *catABC*, *pca(HG)BLRF*, *pcaIJ*. И если о регуляции оперонов *pheA2A1* и *catABC* уже известно [11; 12], то регуляция оперонов *pca(HG)BLRF* и *pcaIJ* в клетках бактерий рода *Rhodococcus* мало исследована.

Целью работы были изучение способности бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap утилизировать фенол и характеристика генетических детерминант, обеспечивающих эту способность.

Материалы и методы исследования

Бактериальные штаммы и плазмиды. Объектом исследования являлись бактерии штамма *R. pyridinivorans* 5Ap (депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером БИМ В-939 Г).

Среды и растворы. Для получения ночных культур бактерии культивировали в жидкой питательной среде ПДБ (пептон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, NaCl – 8 г/л (pH 7,0–7,2)). Способность утилизировать фенол изучали при выращивании в жидкой минеральной среде К [14] с добавлением раствора микроэлементов по Постгейту [15]. Для определения титра клеток проводили высев на агаризованную среду ПДА (пептон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, NaCl – 8 г/л, агар – 15 г/л (pH 7,0–7,2)).

Изучение динамики роста бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap при культивировании с фенолом. В колбы с минеральной средой К, дополненной раствором микроэлементов и водным раствором фенола до конечной концентрации (200 мг/л), вносили дважды отмытую в физиологическом растворе ночную культуру до достижения оптической плотности при длине волны 600 нм, равной 0,05 оптической единицы (о. е.). Культивировали на орбитальном шейкере при температуре 28 °С и скорости перемешивания 140 об/мин в течение 28 ч. Каждый час измеряли оптическую плотность при длине волны 600 нм. Каждые 2 ч готовили серию разведений и производили высевы на среду ПДА для определения титра клеток, а также отбирали 2 мл культуральной жидкости для измерения концентрации фенола. Эксперимент проводили в двух биологических повторах, каждый из них – в двух технических повторах.

Оценка концентрации фенола. Определение концентрации фенола осуществляли с помощью спектрофотометрического метода по калибровочному графику (рис. 1). Для построения калибровочного графика использовали водные растворы фенола с известной концентрацией в диапазоне 2–30 мг/л (при более высокой концентрации фенола график теряет линейную зависимость). Определяли оптическую плотность растворов при длине волны 270 нм. Центрифугировали культуральную жидкость при скорости 10 000 об/мин в течение 5 мин для осаждения клеток. Измеряли оптическую плотность полученного супернатанта при длине волны 270 нм (при необходимости супернатант разводили). Отсутствие неспецифических соединений, обладающих спектром поглощения, сходным со спектром поглощения фенола, определяли при культивировании бактерий в минеральной среде К с добавлением сукцината натрия (0,2 %) в качестве источника углерода.

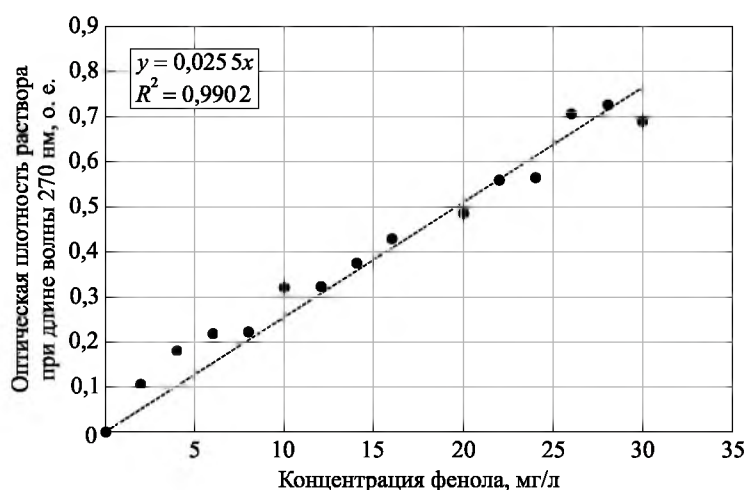


Рис. 1. Калибровочный график для определения концентрации фенола спектрофотометрическим методом

Fig. 1. Calibration graph for determining the concentration of phenol by the spectrophotometric method

Определение эффективности деградации фенола. Эффективность деградации фенола рассчитывали по формуле

$$\Xi = 100 - \frac{c_i}{c_0} \cdot 100,$$

где Ξ – эффективность деградации фенола, %; c_i – текущая концентрация фенола, мг/л; c_0 – начальная концентрация фенола, мг/л.

Статистический анализ данных. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью встроенной программы Excel (пакет Microsoft Office 2013).

Выделение тотальной ДНК. Тотальную ДНК бактерий выделяли саркозильным методом [16].

Проведение полногеномного секвенирования. Полногеномное секвенирование выполняли на приборах MiSeq (Illumina, США) и MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Для подготовки библиотек ДНК использовали наборы Nextera XT (артикул FC-131-1024) (Illumina) и Ligation Sequencing

Kit (артикул SQK-LSK109) (Oxford Nanopore Technologies). Прочтения, полученные на приборе MinION, были отфильтрованы с помощью программы *Barapost* (версия 2020-09-21), а затем собраны в одну кольцевую хромосому и три кольцевые плазмиды с применением программы *Flye* (версия 2.8-b1674). Высококачественные прочтения, полученные на приборе MiSeq, использовались для проверки результатов нанопорового секвенирования и исправления ошибок с помощью программ *SPAdes* (версия 3.14.1) и *Pilon* (версия 1.24). Собранные нуклеотидные последовательности хромосомы и плазмид бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap были депонированы в базу данных GenBank под номерами CP063450.1–CP063453.1.

Анализ нуклеотидных последовательностей. Для анализа нуклеотидных последовательностей хромосомы и плазмид бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap использовали программу *SnapGene Viewer* (версия 5.0.8), интернет-ресурс blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi, а также базы данных GenBank и Protein Национального центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information, NCBI).

Оценка синтении генов. Синтению генов, определяющих способность утилизировать фенол, оценивали с помощью веб-сервера *SyntTax* (archaea.i2bc.paris-saclay.fr/synttax/) [17]. Для сравнения использовали нуклеотидные последовательности хромосом бактерий рода *Rhodococcus* с известным таксономическим статусом (группа В – *R. pyridinivorans*, *R. rhodochrous*, *R. gordoniae* (подгруппа В2), *R. aetherivorans*, *R. ruber* (подгруппа В1), группа С – *R. opacus*, *R. jostii*, группа D – *R. erythropolis*, *R. qingshengii*), для которых установлена способность деградировать фенол [1; 12; 18–22]. Результаты визуализировали с помощью интернет-ресурса cran.r-project.org/web/packages/gggenes/index.html.

Поиск консервативных белковых доменов. Для поиска консервативных белковых доменов использовали интернет-ресурс blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi и инструмент BLASTP.

Поиск регуляторных последовательностей. Для поиска регуляторных последовательностей и идентификации сайтов связывания транскрипционных факторов применяли программу *Sigmod* (версия 1.0.4) [23].

Результаты и их обсуждение

Бактерии штамма *R. pyridinivorans* 5Ap являются эффективными деструкторами широкого спектра углеводородных субстратов, в том числе фенола [24]. В работе был изучен рост бактерий в среде с концентрацией фенола 200 мг/л, что в 200 000 раз превышает ПДК данного соединения в водах бытового назначения¹.

При росте в среде К с фенолом (200 мг/л) у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap наблюдается выраженная лаг-фаза продолжительностью около 16–18 ч (рис. 2), затем следует экспоненциальная фаза роста, через 24 ч бактерии достигают стационарной фазы (количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл к этому времени возрастает на порядок, а оптическая плотность культуры – приблизительно на 0,25 о. е.), спустя 28 ч культивирования начинается фаза отмирания, о чем свидетельствует снижение количества КОЕ (см. рис. 2, а) и оптической плотности культуры (см. рис. 2, б).

Значимое уменьшение концентрации фенола наблюдается через 16–18 ч (рис. 3), что соответствует началу экспоненциальной фазы роста, а через 24 ч эффективность деградации фенола достигает 100 %. Способность деградировать фенол описана для многих бактерий рода *Rhodococcus*, при этом на эффективность деградации данного соединения влияют его начальная концентрация в среде, количество вносимой культуры деструктора, состав минеральной среды, температура культивирования и др. В частности, бактерии штамма *Rhodococcus* sp. SKC (начальная оптическая плотность культуры при длине волны 600 нм составляла около 0,03 о. е.) утилизировали 210 мг/л фенола более чем за 30 ч [25], бактерии штамма *R. ruber* C1 (начальная оптическая плотность культуры при длине волны 600 нм достигала 0,05 о. е.) утилизировали 226 мг/л фенола менее чем за 10 ч [1], бактерии штамма *R. aetherivorans* UCM Ac-602 (начальная оптическая плотность культуры при длине волны 600 нм была равна 0,1 о. е.) утилизировали 200 мг/л фенола за 8 ч [20]. Существенно сократить время утилизации фенола можно путем первичной адаптации бактериальной культуры: для бактерий штамма *R. erythropolis* SKO-1 время полной утилизации 500 мг/л фенола в этом случае уменьшалось с 48 до 24 ч [8].

С целью выяснить особенности организации пути биodeградации фенола и его генетической регуляции у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap была определена нуклеотидная последовательность их генома. Данные бактерии содержат одну кольцевую хромосому размером 5 220 735 пар нуклеотидов (п. н.) и три кольцевые мегаплазмиды – pSID размером 250 428 п. н., pRh5Ap-243 размером 243 288 п. н. и pNAPH размером 207 815 п. н.

¹Об установлении нормативов качества воды поверхностных водных объектов : постановление М-ва природ. ресурсов и охраны окружающей среды Респ. Беларусь от 30 марта 2015 г. № 13 // Нац. правовой интернет-портал Респ. Беларусь. 25 апр. 2015 г. № 8/29808.

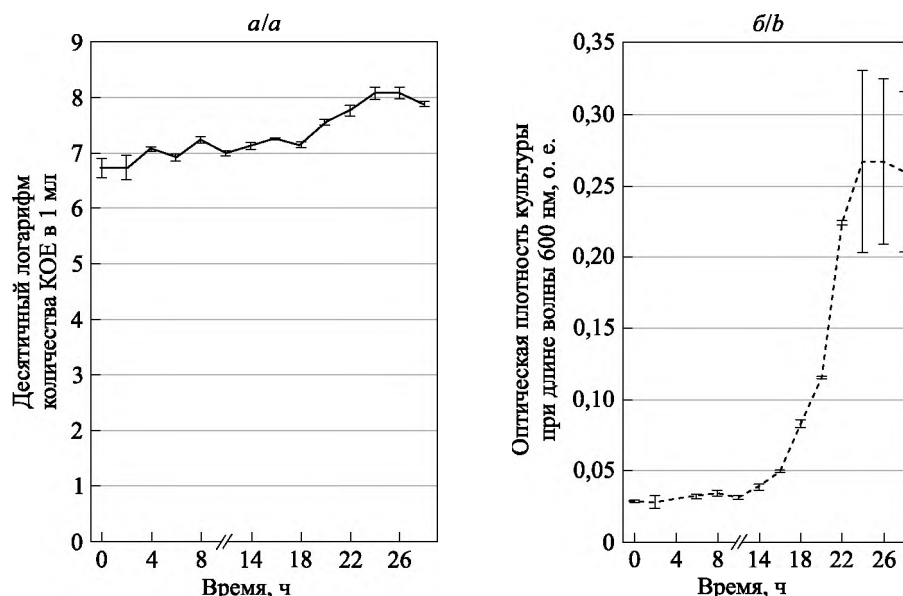


Рис. 2. Динамика роста бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap в жидкой минеральной среде с фенолом (200 мг/л):
а – десятичный логарифм количества КОЕ в 1 мл;
б – оптическая плотность культуры при длине волны 600 нм.

При построении графиков использованы средние значения, планки погрешности отражают среднее квадратичное отклонение

Fig. 2. Dynamics of growth of bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap in a liquid mineral medium with phenol (200 mg/L):
а – decimal logarithm of the number of CFU in 1 mL;
b – optical density of the culture at a wavelength of 600 nm.

When plotting the graphs, average values were used, error bars reflect the standard deviation

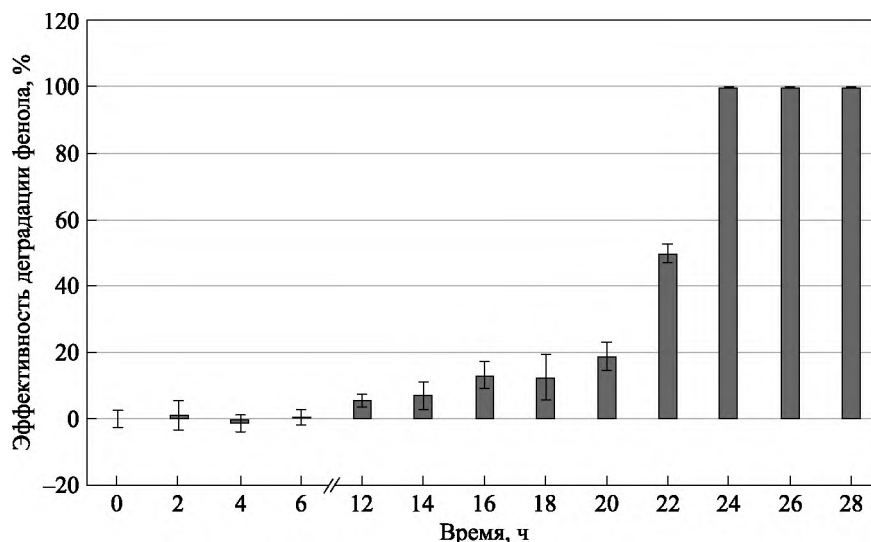


Рис. 3. Эффективность деградации фенола (200 мг/л) бактериями штамма *R. pyridinivorans* 5Ap.

При построении графиков использованы средние значения, планки погрешности отражают среднее квадратичное отклонение

Fig. 3. Phenol (200 mg/L) degradation effectiveness for bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap. When plotting the graphs, average values were used, error bars reflect the standard deviation

Способность деградировать фенол у бактерий рода *Rhodococcus* в основном детерминируется хромосомными генами, хотя известны штаммы, у которых, помимо хромосомных локусов, имеются еще и плазмиды, несущие гены биодеградациии фенола [2]. У родококков процесс расщепления фенола начинается с его окисления до катехола, а дальнейшие превращения протекают по одному из следующих путей: 1) β -кетoadипатному пути; 2) пирокатехиновому пути (карбоксилирование катехола и последующее орторасщепление 3,4-дигидроксibenзойной кислоты); 3) пути метарасщепления катехола. Последний путь включает две ветви [1]. В результате биоинформационного анализа хромосомы бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap были предсказаны все известные структурные и регуляторные гены, определяющие расщепление фенола по β -кетoadипатному пути (табл. 1). Гены располагаются в двух локусах хромосомы и собраны в четыре оперона: первый локус включает опероны *pheA2A1* и *catABC* (координаты на хромосоме 4 864 493–4 871 330 п. н.), а также их регуляторные гены, а второй локус представлен оперонами *pcaIJ* и *pcaBLRF* (4 835 194–4 841 309 п. н.).

Таблица 1

Детерминанты, определяющие β -кетoadипатный путь расщепления фенола
в клетках бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap

Table 1

Determinants of β -ketoadipate phenol degradation pathway
in bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap

Субстрат	Ферменты, необходимые для окисления субстрата (номер в базе данных GenBank)	Гены (номер локуса)
Фенол	Фенол-2-монооксигеназа (QOV98579.1), редуктаза (QOV98578.1)	<i>pheA1</i> (INP59_22640), <i>pheA2</i> (INP59_22635)
Катехол	Катехол-1,2-диоксигеназа (QOV98576.1)	<i>catA</i> (INP59_22620)
<i>цис,цис</i> -Муконовая кислота	Муконат/хлормуконатциклоизомераза (QOV98575.1)	<i>catB</i> (INP59_22615)
Муконолактон	Муконолактон-дельта-изомераза (QOV98574.1)	<i>catC</i> (INP59_22610)
β -Кетoadипатеноллактон	β -Кетoadипатеноллактоназа/4-карбокси- муконолактондекарбоксилаза* (QOV98551.1), 3-карбокси- <i>цис,цис</i> -муконатциклоизомераза (QOV98550.1)	<i>pcaL</i> (INP59_22490), <i>pcaB</i> (INP59_22485)
β -Кетoadипиновая кислота	β -Кетoadипат:сукцинил-КоА-трансфераза (альфа-субъединица – QOV98549.1, бета-субъединица – QOV98548.1)	<i>pcaI</i> (INP59_22480), <i>pcaJ</i> (INP59_22475)
β -Кетoadипил-КоА	Ацетилтрансфераза (QOV98553.1)	<i>pcaF</i> (INP59_22500)

*Белок PcaL у бактерий рода *Rhodococcus* совмещает две функции: β -кетoadипатеноллактоназная активность обеспечивает превращение β -кетoadипатеноллактона в β -кетoadипиновую кислоту, а 4-карбоксимуконлактондекарбоксилазная активность – декарбоксилирование 4-карбоксимуконлактона в пирокатехиновом пути [4].

В целом для родококков отмечается некоторая избыточность генов биодеградациии различных органических соединений, в том числе фенола [1]. Тем не менее присутствие нескольких гомологичных генов не говорит об их участии в пути биодеградациии фенола. Ген фенол-2-монооксигеназы проявляет сходство с 4-гидроксифенилацетат-3-гидролазой (фермент, участвующий в метаболизме ароматических аминокислот). Кроме того, например, катехол является промежуточным продуктом в метаболизме многих ароматических соединений (включая полициклические), соответственно, в этих процессах могут принимать участие ферменты, кодируемые гомологичными генами, расположенными в различных участках генома, в том числе на разных репликонах [26]. На плазмиде биодеградациии нафталина pNAPH бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap локализован ген *catA*, кодирующий катехол-1,2-диоксигеназу. Однако исследование динамики роста и эффективности биодеградациии фенола (200 мг/л) вариантом штамма с элиминированной плазмидой pNAPH не выявило значимых различий с бактериями дикого типа, содержащими плазмиду (данные не представлены).

Сравнение организации локусов, определяющих деградацию фенола по β -кетoadипатному пути, с их организацией у других родококков показало, что внутри вида *R. pyridinivorans* данные локусы, в том числе окружение целевых оперонов, характеризуются высоким уровнем синтении. Сходную организацию обнаруживают и близкородственные виды, входящие в ту же подгруппу – подгруппу B2 (*R. rhodochrous*,

R. gordoniae), тогда как родококки подгруппы В1 (*R. aetherivorans*, *R. ruber*), группы С (*R. opacus*, *R. jostii*) и группы D (*R. erythropolis*, *R. qingshengii*) обладают более значительными отличиями.

Первый локус, включающий опероны *pheA2A1* и *catABC*, имеет идентичное строение и окружение внутри группы В (рис. 4). Во всех проанализированных геномах данной группы к оперону *pheA2A1* прилегают гены, кодирующие гипотетический белок, регулятор семейства AraC, цитохром Р450 (ген *cypX*) и его редуктазу (ген *cypY*), а затем следует оперон *benABCD*, определяющий деградацию бензоата (есть предположения, что гены *cypX* и *cypY* также входят в его состав [4]). К оперону *catABC* прилегают гены щелочной фосфатазы и гидролазы.

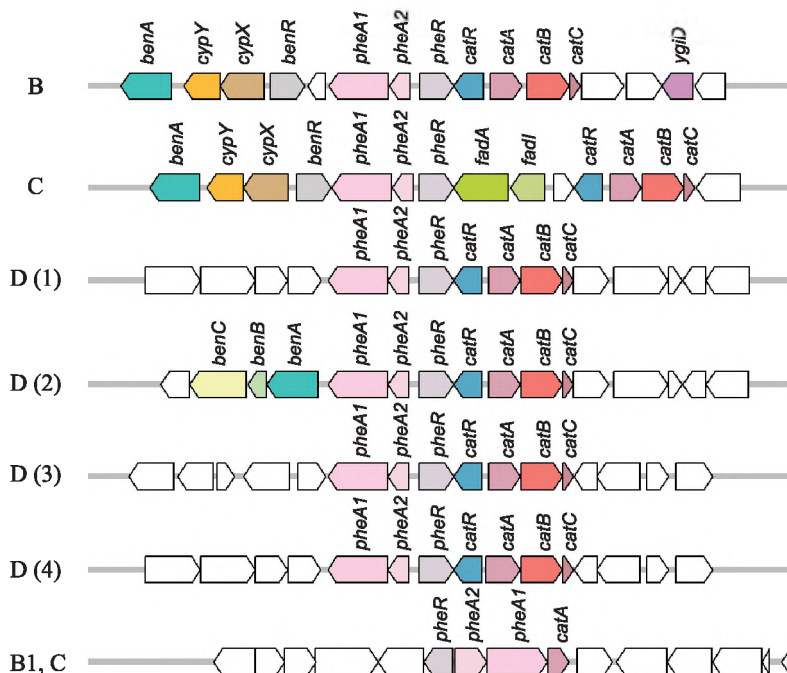


Рис. 4. Организация кластера биodeградации фенола, содержащего опероны *pheA2A1* и *catABC*, в геномах бактерий рода *Rhodococcus* различных групп

Fig. 4. Organisation of phenol degradation cluster consisting of *pheA2A1* and *catABC* operons in bacteria *Rhodococcus* genomes of different groups

В группе D можно выделить четыре подгруппы (см. рис. 4) в зависимости от окружения локусов *pheA2A1* и *catABC*. В первой и второй подгруппах представлены штаммы видов *R. erythropolis* и *R. qingshengii*. За опероном *catABC* у них следуют ген белка, содержащего НТН-домен, и ген бензальдегиддегидрогеназы. После оперона *pheA2A1* в геномах первой подгруппы располагается оперон *benABCD*, а в геномах второй подгруппы находятся гены фитаноил-КоА-диоксигеназы и оксидоредуктазы. В третью и четвертую подгруппы входят только штаммы вида *R. erythropolis*. Перед опероном *catABC* у них располагаются ген регулятора и ген гистидинкиназы/АТФазы. К оперону *pheA2A1* в геномах третьей подгруппы примыкают гены, кодирующие белки с неизвестной функцией, а в геномах четвертой подгруппы – гены фитаноил-КоА-диоксигеназы и оксидоредуктазы.

У бактерий группы С опероны *pheA2A1* и *catABC* разделены тремя генами (см. рис. 4), в том числе генами *fadA* и *fadI*, кодирующими ферменты, которые определяют альтернативную терминальную реакцию в пути окисления фенола: ацетилтрансфераза (PcaF) обеспечивает образование ацетил-КоА из β-кетoadипил-КоА, а тиоэстераза (FadA, FadI) – образование сукцинил-КоА [27]. У других групп родококков гомологи генов *fadA* и *fadI* не обнаруживаются. Кластер биodeградации бензоата у бактерий группы С прилегает непосредственно к оперону *pheA2A1*. За опероном *catABC* следует ген регулятора семейства ROK, а затем оперон, кодирующий ферменты пути Энтнера – Дудорова.

Стоит отметить, что у бактерий подгруппы В1 и группы С в геноме обнаруживается дополнительный локус (см. рис. 4, снизу), включающий гены *pheA2*, *pheA1* и *catA*, по всей вероятности объединенные в один оперон. Для бактерий штамма *R. opacus* PD630 было показано, что экспрессия генов этого оперона усиливается при высокой концентрации фенола [6]. Окружение оперона *pheA2A1catA* сходно внутри групп, но значительно отличается между подгруппой В1 и группой С. У родококков подгруппы В2 и группы D подобный локус отсутствует.

У бактерий подгруппы В2 второй локус включает опероны *pcaIJ* и *pcaBLRF*, а у бактерий подгруппы В1, групп С и D – опероны *pcaIJ* и *pcaHGBLRF* (рис. 5). У родококков подгруппы В2 оперон *pcaHG*,

кодирующий компоненты пирокатехин-3,4-диоксигеназы, располагается в ином локусе хромосомы (его координаты у исследуемых бактерий 1 955 313–1 956 736 п. н.) и имеет идентичное окружение у всех ее представителей. Несмотря на то что у бактерий подгруппы B1, групп C и D гены *pcaH* и *pcaG* расположены рядом с опероном *pcaBLRF*, их транскрипция, вероятно, разобщена либо они подвержены различной посттранскрипционной регуляции [4].

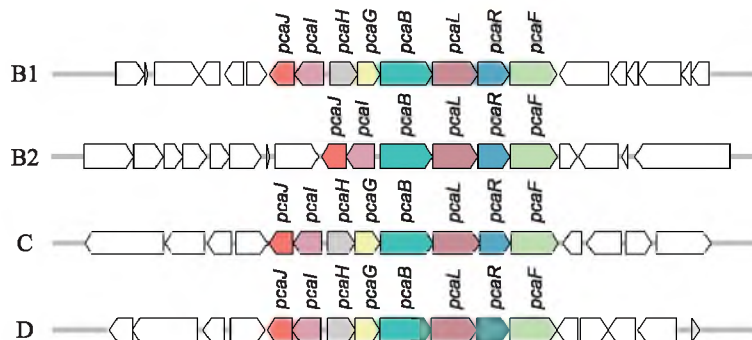


Рис. 5. Организация локуса, содержащего опероны *pcaIJ* и *pca(HG)BLRF*, в геномах бактерий рода *Rhodococcus* различных групп

Fig. 5. Organisation of locus consisting of *pcaIJ* and *pca(HG)BLRF* operons in bacteria *Rhodococcus* genomes of different groups

У бактерий подгруппы B2 к оперону *pcaIJ* прилегают гены транспортера семейства AI-E2 и метиоиновой tPHK, тогда как у бактерий подгруппы B1 между опероном *pcaIJ* и указанными генами находятся еще три гена, кодирующие карбоксимуконлактондекарбоксилазу, регулятор семейства MarR и алкилпероксидазу. В геномах бактерий группы C к оперону *pcaIJ* примыкают ген формиатдегидрогеназы (однако у ряда штаммов вида *R. opacus* он отсутствует или является дефектным) и ген пурамицин-N-ацетилтрансферазы, в геномах бактерий группы D – гены регулятора семейства AraC и редуктазы карбоксипероксидазы.

К оперону *pcaBLRF* в геномах бактерий подгруппы B2 прилегает ген, кодирующий гипотетический белок (отсутствует у штаммов вида *R. gordoniae*), а затем следует ген НАДФ-зависимой оксидоредуктазы. У бактерий подгруппы B1 к оперону *pcaHGBLRF* примыкают гены MFS-транспортера и белка семейства RidA, у бактерий группы D – гены регулятора семейства MarR и оксидоредуктазы семейства SDR, у бактерий группы C – гены фосфоэстеразы и шикиматдегидрогеназы (хотя у ряда штаммов вида *R. opacus* между опероном *pcaHGBLRF* и указанными генами располагаются от одного до четырех дополнительных генов).

Выявленные закономерности позволяют предположить, что формирование локусов, отвечающих за деградацию фенола, так же как и формирование детерминант, определяющих деградацию алканов [7; 28], происходило до видообразования и, вероятно, до разделения на более крупные филогенетические группы.

В регуляции экспрессии генов биodeградации фенола, помимо специфических регуляторных белков (табл. 2), по всей видимости, принимает участие белок – регулятор катаболизма (CRP), о чем говорит наличие сайтов его связывания (выявлены с помощью программы *Sigmod*) вблизи оперонов *pheA2A1* и *catABC*, кодирующих ферменты деградации фенола.

Таблица 2

Транскрипционные факторы, предположительно обеспечивающие регуляцию экспрессии генов биodeградации фенола, у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap

Table 2

Transcription factors that presumably regulate the expression of phenol biodegradation genes in the bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap

Регуляторные белки (номер локуса, номер белка в базе данных GenBank, семейство)	Длина, а. о.; молекулярная масса, кДа	Координаты, а. о.		Регулируемые гены или опероны
		ДНК- связывающий домен	Эффектор- связывающий домен	
PheR (INP59_22630, QOW01403.1, AraC)	306; 33,7	219–304	13–182	<i>pheA2A1</i>
CatR (INP59_22625, QOV98577.1, IclR)	265; 29,0	17–77	78–262	<i>catABC</i> , <i>catR</i>
PcaR (INP59_22495, QOV98552.1, IclR)	274; 29,4	23–83	84–266	<i>pcaIJ</i> , <i>pcaBL</i> , <i>pcaF</i>
PcaQ (INP59_09105, QOW00458.1, LysR)	323; 34,6	30–70	107–310	<i>pcaHG</i>

Примечание. Используемые сокращения: а. о. – аминокислотные остатки.

Регуляция оперонов *pheA2A1* и *catABC* у бактерий рода *Rhodococcus* достаточно хорошо изучена. Известно, что индукция экспрессии оперонов *pheA2A1* и *catABC* происходит в присутствии фенола, при этом белок PheR является активатором оперона *pheA2A1*, а белок CatR выполняет функцию репрессора оперона *catABC* и собственного гена [11; 12]. Строение регуляторных областей оперонов *pheA2A1* и *catABC* у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap сходно с таковым у других родококков. С использованием программы *SigmoID*, а также на основании сравнения с известными регуляторными последовательностями [11; 12] в межгенной области *pheR* – *pheA2* выявлен сайт связывания белка PheR, в межгенной области *catR* – *catA* – сайт связывания белка CatR. В обеих областях обнаружены сайты связывания белка CRP (рис. 6 и 7).



Рис. 6. Регуляторные последовательности оперона *pheA2A1* у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap
Fig. 6. Regulatory regions of the *pheA2A1* operon in the bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap genome



Рис. 7. Регуляторные последовательности оперона *catABC* у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap
Fig. 7. Regulatory regions of the *catABC* operon in the bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap genome

Регуляция оперонов *pcaIJ* и *pca(HG)BLRF* у бактерий рода *Rhodococcus* охарактеризована в меньшей степени. В отличие от оперонов *pheA2A1* и *catABC* *pca*-опероны не подвержены непосредственной регуляции белком CRP [29]. Об этом свидетельствует отсутствие соответствующих сайтов связывания в регуляторных областях. Для бактерий рода *Rhodococcus* не описаны сайты связывания регуляторного белка PcaR [30]. Как и у бактерий родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Corynebacterium*, регулятор *pca*-генов (оперона *pca(HG)BLRF*) у бактерий рода *Rhodococcus* относится к семейству IclR. Однако у исследуемого штамма (и всех представителей подгруппы B2) расположенный отдельно оперон *pcaHG*, по всей видимости, подвержен регуляции белком PcaQ (семейство LysR), ген которого находится перед опероном и транскрибируется дивергентно.

И. А. Суворова и М. С. Гельфанд [30] разделили транскрипционные факторы семейства IclR на три группы в зависимости от строения сайтов связывания. В соответствии с предложенной ими классификацией белки PcaR, их гомологи PcaU, PobR, а также белок CatR входят в одну группу с мотивом сайта связывания GTNCG-N₅₋₆-CGNAC.

Некоторые особенности в строении сайтов связывания можно отметить как для различных белков, так и для промоторов разных генов, регулируемых одним и тем же белком. Так, для белка PcaU бактерий *Acinetobacter baylyi* установлена необходимость присутствия дополнительного внешнего полусайта [30; 31]. Белок PcaR бактерий *Pseudomonas putida* перед геном *pcaR* имеет сайт связывания из одного мотива, а перед опероном *pcaIJ* – сайт связывания, образованный двумя незначительно отличающимися по составу мотивами [32]. Как видно из рис. 7, сайт связывания белка CatR также образован двумя мотивами с небольшими вариациями в составе. Связывание белка PcaR бактерий *P. putida* со вторым мотивом происходит только после связывания белка в первом сайте. Такое тандемное связывание белков-регуляторов характерно для промоторов, имеющих нестандартное расстояние между областями –35 и –10 (предположительно, для того чтобы его компенсировать) [32].

В межгенной области *pcaI* – *pcaB* бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap выявлены шесть потенциальных мотивов (рис. 8), которые могут служить сайтами связывания белка PcaR.

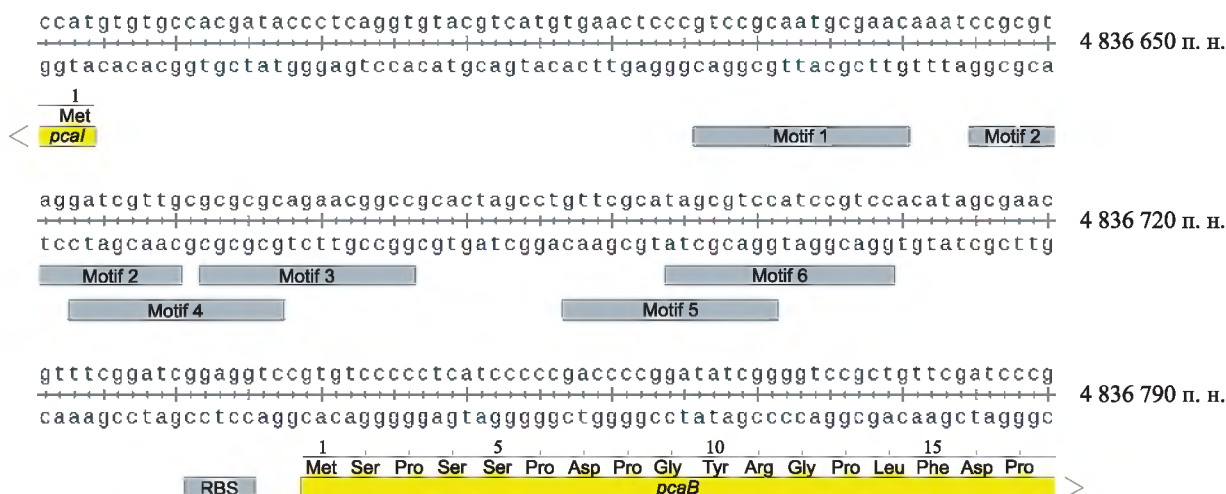


Рис. 8. Строение межгенной области *pcaI* – *pcaB* у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap

Fig. 8. Structure of the *pcaI* – *pcaB* intergenic region in the bacteria *R. pyridinivorans* strain 5Ap genome

Наиболее вероятно, что белок PcaR в клетках бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap выполняет двойную функцию (репрессора и активатора) и связывается с разными мотивами в зависимости от условий, что свойственно регуляторам семейства IclR. Например, при связывании с мотивами 1 и 5 (или 6) он играет роль репрессора, при связывании с мотивами 2–4 – роль активатора. Для бактерий штамма *R. opacus* PD630 установлено, что белок PcaR [33] работает как репрессор в не связанном с лигандом состоянии. Сравнение межгенной области *pcaI* – *pcaB* бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap с межгенной областью *pcaI* – *pcaH* бактерий штамма *R. opacus* PD630 показало, что по протяженности они отличаются всего на 2 п. н. Наиболее сходные области наблюдаются в районе мотивов 1 и 5 (по три замены), тогда как в районе мотивов 2–4 сходств крайне мало. Таким образом, бактерии штамма *R. pyridinivorans* 5Ap, по всей вероятности, обладают регуляцией экспрессии *pca*-генов, отличной от ее регуляции у бактерий штамма *R. opacus* PD630.

Заключение

Бактерии штамма *R. pyridinivorans* 5Ap могут использоваться как перспективные агенты природоохранной биотехнологии для удаления фенола из загрязненных сред, поскольку полная деструкция 200 мг/л фенола неадаптированной культурой осуществляется за 24 ч.

Геном бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap представлен кольцевой хромосомой размером 5 220 735 п. н. (номер в базе данных GenBank CP063450.1) и тремя кольцевыми мегаплазмидами – pSID размером 250 428 п. н. (CP063453.1), pRh5Ap-243 размером 243 288 п. н. (CP063452.1) и pNAPH размером 207 815 п. н. (CP063451.1).

Детерминанты, определяющие способность исследуемых бактерий утилизировать фенол по β -кетoadипатному пути, находятся в двух локусах хромосомы: первый локус включает опероны *pheA2A1* и *catABC* (координаты на хромосоме 4 864 493–4 871 330 п. н.), а также их регуляторные гены, второй локус представлен оперонами *pcaIJ* и *pcaBLRF* (4 835 194–4 841 309 п. н.). Внутри вида *R. pyridinivorans* данные локусы, в том числе окружение целевых оперонов, характеризуются высоким уровнем синтении. Сходную организацию обнаруживают и близкородственные виды, входящие в подгруппу B2 (*R. rhodochrous*, *R. gordoniae*), тогда как родококки подгруппы B1 (*R. aetherivorans*, *R. ruber*), группы C (*R. opacus*, *R. jostii*) и группы D (*R. erythropolis*, *R. qingshengii*) обладают более значительными отличиями. В частности, у бактерий группы C опероны *pheA2A1* и *catABC* разделены тремя генами, в том числе генами *fadA* и *fadI*, которые определяют альтернативную возможность окисления фенола с образованием сукцинил-КоА. У других групп, по всей вероятности, образуется только ацетил-КоА. Кроме того, у родококков группы C, равно как и у родококков подгруппы B1, в геноме присутствует дополнительный локус, включающий гены *pheA2*, *pheA1* и *catA*.

Второй локус у бактерий подгруппы B2 включает опероны *pcaIJ* и *pcaBLRF*, а у бактерий подгруппы B1, групп C и D – опероны *pcaIJ* и *pcaHGBLRF*. У бактерий подгруппы B2 оперон *pcaHG*, кодирующий компоненты пирокатехин-3,4-диоксигеназы, расположен в ином локусе хромосомы (его координаты у исследуемых бактерий 1 955 313–1 956 736 п. н.).

Регуляторные области оперонов *pheA2A1* и *catABC* у бактерий штамма *R. pyridinivorans* 5Ap сходны с известными и содержат сайты связывания как специфических регуляторных белков PheR и CatR соответственно, так и глобального регулятора катаболизма CRP.

Расположение сайтов связывания регуляторных белков в межгенной области *pcaI* – *pcaB* у бактерий рода *Rhodococcus* ранее описано не было. В результате анализа данного участка выявлены шесть потенциальных сайтов связывания белка PcaR. Характер их расположения может свидетельствовать о двойной роли регуляторного белка PcaR: как репрессора в не связанном с эффектором состоянии и как активатора в связанном с эффектором состоянии.

Библиографические ссылки

1. Zhao T, Gao Y, Yu T, Zhang Y, Zhang Z, Zhang L, et al. Biodegradation of phenol by a highly tolerant strain *Rhodococcus ruber* C1: biochemical characterization and comparative genome analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;208:111709. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111709.
2. Gröning JAD, Eulberg D, Tischler D, Kaschabek SR, Schlömann M. Gene redundancy of two-component (chloro)phenol hydroxylases in *Rhodococcus opacus* 1CP. *FEMS Microbiology Letters*. 2014;361(1):68–75. DOI: 10.1111/1574-6968.12616.
3. Покрышкин СА, Косяков ДС, Кожевников АЮ, Лахманов ДЕ, Ульяновский НВ. Высокочувствительное определение хлорфенолов в морской воде методом газовой хроматографии – тандемной масс-спектрометрии. *Журнал аналитической химии*. 2018;73(10):768–775. DOI: 10.1134/s0044450218100092.
4. Patrauchan MA, Florizone C, Dosanjh M, Mohn WW, Davies J, Eltis LD. Catabolism of benzoate and phthalate in *Rhodococcus* sp. strain RHA1: redundancies and convergence. *Journal of Bacteriology*. 2005;187(12):4050–4063. DOI: 10.1128/jb.187.12.4050-4063.2005.
5. Basu S, Dhar R, Bhattacharyya M, Dutta TK. Biochemical and multi-omics approaches to obtain molecular insights into the catabolism of the plasticizer benzyl butyl phthalate in *Rhodococcus* sp. strain PAE-6. *Microbiology Spectrum*. 2023;11(4):e04801-22. DOI: 10.1128/spectrum.04801-22.
6. Yoneda A, Henson WR, Goldner NK, Park KJ, Forsberg KJ, Kim SJ, et al. Comparative transcriptomics elucidates adaptive phenol tolerance and utilization in lipid-accumulating *Rhodococcus opacus* PD630. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(5):2240–2254. DOI: 10.1093/nar/gkw055.
7. Bukliarevich HA, Gurinovich AS, Filonov AE, Titok MA. Molecular genetic and functional analysis of the genes encoding alkane 1-monooxygenase synthesis in members of the genus *Rhodococcus*. *Microbiology*. 2023;92(2):242–255. DOI: 10.1134/s0026261722603311.
8. Soudi MR, Kolahchi N. Bioremediation potential of a phenol degrading bacterium, *Rhodococcus erythropolis* SKO-1. *Progress in Biological Sciences*. 2011;1(1):31–40. DOI: 10.22059/pbs.2011.22457.
9. Margesin R, Fonteyne P-A, Redl B. Low-temperature biodegradation of high amounts of phenol by *Rhodococcus* spp. and basidiomycetous yeasts. *Research in Microbiology*. 2005;156(1):68–75. DOI: 10.1016/j.resmic.2004.08.002.
10. Rucká L, Nešvera J, Pátek M. Biodegradation of phenol and its derivatives by engineered bacteria: current knowledge and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017;33(9):174. DOI: 10.1007/s11274-017-2339-x.

11. Veselý M, Knoppová M, Nešvera J, Pátek M. Analysis of *catRABC* operon for catechol degradation from phenol-degrading *Rhodococcus erythropolis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007;76(1):159–168. DOI: 10.1007/s00253-007-0997-6.
12. Széköl J, Rucká L, Šimčíková M, Halada P, Nešvera J, Pátek M. Induction and carbon catabolite repression of phenol degradation genes in *Rhodococcus erythropolis* and *Rhodococcus jostii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014;98(19):8267–8279. DOI: 10.1007/s00253-014-5881-6.
13. Čejková A, Masák J, Jirků V, Veselý M, Pátek M, Nešvera J. Potential of *Rhodococcus erythropolis* as a bioremediation organism. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2005;21(3):317–321. DOI: 10.1007/s11274-004-2152-1.
14. Ившина ИБ, Каменских ТН, Ляпунов ЯЭ, составители. *Каталог штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов*. Ившина ИБ, редактор. Москва: Наука; 1994. 163 с.
15. Романенко ВИ, Кузнецов СИ. *Экология микроорганизмов пресных водоемов*. Стрелков АА, Буторин НВ, Вайнштейн БА, Кампилов ММ, Мордухай-Болтовской ФД, Поддубный АГ и др., редакторы. Ленинград: Наука; 1974. 194 с.
16. te Riele H, Michel B, Ehrlich SD. Single-stranded plasmid DNA in *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. *PNAS*. 1986; 83(8):2541–2545. DOI: 10.1073/pnas.83.8.2541.
17. Oberto J. SyntTax: a web server linking synteny to prokaryotic taxonomy. *BMC Bioinformatics*. 2013;14:4. DOI: 10.1186/1471-2105-14-4.
18. Przybulewska K, Wiecezorek A, Nowak A, Pochrzyszcz M. The isolation of microorganisms capable of phenol degradation. *Polish Journal of Microbiology*. 2006;55(1):63–67.
19. Jones AL, Brown JM, Mishra V, Perry JD, Steigerwalt AG, Goodfellow M. *Rhodococcus gordoniae* sp. nov., an actinomycete isolated from clinical material and phenol-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004; 54(2):407–411. DOI: 10.1099/ijs.0.02756-0.
20. Nogina T, Fomina M, Dumanskaya T, Zelena L, Khomenko L, Mikhaylovsky S, et al. A new *Rhodococcus aetherivorans* strain isolated from lubricant-contaminated soil as a prospective phenol-biodegrading agent. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020; 104(8):3611–3625. DOI: 10.1007/s00253-020-10385-6.
21. Roell GW, Carr RR, Campbell T, Shang Z, Henson WR, Czajka JJ, et al. A concerted systems biology analysis of phenol metabolism in *Rhodococcus opacus* PD630. *Metabolic Engineering*. 2019;55:120–130. DOI: 10.1016/j.ymben.2019.06.013.
22. Shahabivand S, Mortazavi SS, Mahdavinia GR, Darvishi F. Phenol biodegradation by immobilized *Rhodococcus qingshengii* isolated from coking effluent on Na-alginate and magnetic chitosan-alginate nanocomposite. *Journal of Environmental Management*. 2022;307:114586. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.114586.
23. Nikolaichik Y, Damienian AU. Sigmoid: a user-friendly tool for improving bacterial genome annotation through analysis of transcription control signals. *PeerJ*. 2016;4:e2056. DOI: 10.7717/peerj.2056.
24. Charniakskaya MI, Bukliarevich AA, Delean YaA, Akhremchuk AE, Filonov AE, Titok MA. Biodiversity of hydrocarbon-oxidizing soil bacteria from various climatic zones. *Microbiology*. 2018;87(5):699–711. DOI: 10.1134/s0026261718050065.
25. Wen Y, Li C, Song X, Yang Y. Biodegradation of phenol by *Rhodococcus* sp. strain SKC: characterization and kinetics study. *Molecules*. 2020;25(16):3665. DOI: 10.3390/molecules25163665.
26. Pathak A, Chauhan A, Blom J, Indest KJ, Jung CM, Stothard P, et al. Comparative genomics and metabolic analysis reveals peculiar characteristics of *Rhodococcus opacus* strain M213 particularly for naphthalene degradation. *PLOS One*. 2016;11(8):e0161032. DOI: 10.1371/journal.pone.0161032.
27. Lee GLY, Zakaria NN, Futamata H, Suzuki K, Zulkhamain A, Shaharuddin NA, et al. Metabolic pathway of phenol degradation of a cold-adapted Antarctic bacteria, *Arthrobacter* sp. *Catalysts*. 2022;12(11):1422. DOI: 10.3390/catal12111422.
28. Nie Y, Chi C-Q, Fang H, Liang J-L, Lu S-L, Lai G-L, et al. Diverse alkane hydroxylase genes in microorganisms and environments. *Scientific Reports*. 2014;4:4968. DOI: 10.1038/srep04968.
29. Moreno R, Rojo F. The target for the *Pseudomonas putida* Crc global regulator in the benzoate degradation pathway is the BenR transcriptional regulator. *Journal of Bacteriology*. 2008;190(5):1539–1545. DOI: 10.1128/jb.01604-07.
30. Suvorova IA, Gelfand MS. Comparative analysis of the IclR-family of bacterial transcription factors and their DNA-binding motifs: structure, positioning, co-evolution, regulon content. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:675815. DOI: 10.3389/fmicb.2021.675815.
31. Jerg B, Gerischer U. Relevance of nucleotides of the PcaU binding site from *Acinetobacter baylyi*. *Microbiology*. 2008;154(3):756–766. DOI: 10.1099/mic.0.2007/013508-0.
32. Guo Z, Houghton JE. PcaR-mediated activation and repression of *pca* genes from *Pseudomonas putida* are propagated by its binding to both the –35 and the –10 promoter elements. *Molecular Microbiology*. 1999;32(2):253–263. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01342.x.
33. Diao J, Carr R, Moon TS. Deciphering the transcriptional regulation of the catabolism of lignin-derived aromatics in *Rhodococcus opacus* PD630. *Communications Biology*. 2022;5:1109. DOI: 10.1038/s42003-022-04069-2.

References

1. Zhao T, Gao Y, Yu T, Zhang Y, Zhang Z, Zhang L, et al. Biodegradation of phenol by a highly tolerant strain *Rhodococcus ruber* C1: biochemical characterization and comparative genome analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;208:111709. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111709.
2. Gröning JAD, Eulberg D, Tischler D, Kaschabek SR, Schlömann M. Gene redundancy of two-component (chloro)phenol hydroxylases in *Rhodococcus opacus* 1CP. *FEMS Microbiology Letters*. 2014;361(1):68–75. DOI: 10.1111/1574-6968.12616.
3. Pokryshkin SA, Kosyakov DS, Kozhevnikov AYU, Lakhmanov DE, Ul'yanovskii NV. [Highly sensitive determination of chlorophenols in sea water by gas chromatography – tandem mass spectrometry]. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2018;73(10):768–775. Russian. DOI: 10.1134/s0044450218100092.
4. Patrauchan MA, Florizone C, Dosanjh M, Mohn WW, Davies J, Eltis LD. Catabolism of benzoate and phthalate in *Rhodococcus* sp. strain RHA1: redundancies and convergence. *Journal of Bacteriology*. 2005;187(12):4050–4063. DOI: 10.1128/jb.187.12.4050-4063.2005.
5. Basu S, Dhar R, Bhattacharyya M, Dutta TK. Biochemical and multi-omics approaches to obtain molecular insights into the catabolism of the plasticizer benzyl butyl phthalate in *Rhodococcus* sp. strain PAE-6. *Microbiology Spectrum*. 2023;11(4):e04801-22. DOI: 10.1128/spectrum.04801-22.

6. Yoneda A, Henson WR, Goldner NK, Park KJ, Forsberg KJ, Kim SJ, et al. Comparative transcriptomics elucidates adaptive phenol tolerance and utilization in lipid-accumulating *Rhodococcus opacus* PD630. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(5):2240–2254. DOI: 10.1093/nar/gkw055.
7. Bukliarevich HA, Gurinovich AS, Filonov AE, Titok MA. Molecular genetic and functional analysis of the genes encoding alkane 1-monoxygenase synthesis in members of the genus *Rhodococcus*. *Microbiology*. 2023;92(2):242–255. DOI: 10.1134/s0026261722603311.
8. Soudi MR, Kolahchi N. Bioremediation potential of a phenol degrading bacterium, *Rhodococcus erythropolis* SKO-1. *Progress in Biological Sciences*. 2011;1(1):31–40. DOI: 10.22059/pbs.2011.22457.
9. Margesin R, Fonteyne P-A, Redl B. Low-temperature biodegradation of high amounts of phenol by *Rhodococcus* spp. and basidiomycetous yeasts. *Research in Microbiology*. 2005;156(1):68–75. DOI: 10.1016/j.resmic.2004.08.002.
10. Rucká L, Nešvera J, Pátek M. Biodegradation of phenol and its derivatives by engineered bacteria: current knowledge and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017;33(9):174. DOI: 10.1007/s11274-017-2339-x.
11. Veselý M, Knoppová M, Nešvera J, Pátek M. Analysis of *catRABC* operon for catechol degradation from phenol-degrading *Rhodococcus erythropolis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007;76(1):159–168. DOI: 10.1007/s00253-007-0997-6.
12. Szökö J, Rucká L, Šimčíková M, Halada P, Nešvera J, Pátek M. Induction and carbon catabolite repression of phenol degradation genes in *Rhodococcus erythropolis* and *Rhodococcus jostii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014;98(19):8267–8279. DOI: 10.1007/s00253-014-5881-6.
13. Čejková A, Masák J, Jirků V, Veselý M, Pátek M, Nešvera J. Potential of *Rhodococcus erythropolis* as a bioremediation organism. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2005;21(3):317–321. DOI: 10.1007/s11274-004-2152-1.
14. Ivshina IB, Kamenskikh TN, Lyapunov YaE, compilers. *Katalog shtammov Regional'noi profilirovannoi kollektzii alkano-trofnykh mikroorganizmov* [Catalog of strains of the Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms]. Ivshina IB, editor. Moscow: Nauka; 1994. 163 p. Russian.
15. Romanenko VI, Kuznetsov SI. *Ehкологиya mikroorganizmov presnykh vodoemov* [Ecology of freshwater microorganisms]. Strelkov AA, Butorin NV, Vainshtein BA, Kamshilov MM, Mordukhai-Boltovskoi FD, Poddubnyi AG, et al., editors. Leningrad: Nauka; 1974. 194 p. Russian.
16. te Riele H, Michel B, Ehrlich SD. Single-stranded plasmid DNA in *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. *PNAS*. 1986; 83(8):2541–2545. DOI: 10.1073/pnas.83.8.2541.
17. Oberto J. SyntTax: a web server linking synteny to prokaryotic taxonomy. *BMC Bioinformatics*. 2013;14:4. DOI: 10.1186/1471-2105-14-4.
18. Przybulewska K, Wiczeorek A, Nowak A, Pochrzyszcz M. The isolation of microorganisms capable of phenol degradation. *Polish Journal of Microbiology*. 2006;55(1):63–67.
19. Jones AL, Brown JM, Mishra V, Perry JD, Steigerwalt AG, Goodfellow M. *Rhodococcus gordoniae* sp. nov., an actinomycete isolated from clinical material and phenol-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004; 54(2):407–411. DOI: 10.1099/ijs.0.02756-0.
20. Nogina T, Fomina M, Dumanskaya T, Zelena L, Khomenko L, Mikhalevsky S, et al. A new *Rhodococcus aetherivorans* strain isolated from lubricant-contaminated soil as a prospective phenol-biodegrading agent. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020; 104(8):3611–3625. DOI: 10.1007/s00253-020-10385-6.
21. Roell GW, Carr RR, Campbell T, Shang Z, Henson WR, Czajka JJ, et al. A concerted systems biology analysis of phenol metabolism in *Rhodococcus opacus* PD630. *Metabolic Engineering*. 2019;55:120–130. DOI: 10.1016/j.ymben.2019.06.013.
22. Shahabivand S, Mortazavi SS, Mahdavinia GR, Darvishi F. Phenol biodegradation by immobilized *Rhodococcus qingshengii* isolated from coking effluent on Na-alginate and magnetic chitosan-alginate nanocomposite. *Journal of Environmental Management*. 2022;307:114586. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.114586.
23. Nikolaichik Y, Damienikan AU. Sigmoid: a user-friendly tool for improving bacterial genome annotation through analysis of transcription control signals. *PeerJ*. 2016;4:e2056. DOI: 10.7717/peerj.2056.
24. Charniauskaya MI, Bukliarevich AA, Delekan YaA, Akhremchuk AE, Filonov AE, Titok MA. Biodiversity of hydrocarbon-oxidizing soil bacteria from various climatic zones. *Microbiology*. 2018;87(5):699–711. DOI: 10.1134/s0026261718050065.
25. Wen Y, Li C, Song X, Yang Y. Biodegradation of phenol by *Rhodococcus* sp. strain SKC: characterization and kinetics study. *Molecules*. 2020;25(16):3665. DOI: 10.3390/molecules25163665.
26. Pathak A, Chauhan A, Blom J, Indest KJ, Jung CM, Stothard P, et al. Comparative genomics and metabolic analysis reveals peculiar characteristics of *Rhodococcus opacus* strain M213 particularly for naphthalene degradation. *PLOS One*. 2016;11(8):e0161032. DOI: 10.1371/journal.pone.0161032.
27. Lee GLY, Zakaria NN, Futamata H, Suzuki K, Zulkharnain A, Shaharuddin NA, et al. Metabolic pathway of phenol degradation of a cold-adapted Antarctic bacteria, *Arthrobacter* sp. *Catalysts*. 2022;12(11):1422. DOI: 10.3390/catal12111422.
28. Nie Y, Chi C-Q, Fang H, Liang J-L, Lu S-L, Lai G-L, et al. Diverse alkane hydroxylase genes in microorganisms and environments. *Scientific Reports*. 2014;4:4968. DOI: 10.1038/srep04968.
29. Moreno R, Rojo F. The target for the *Pseudomonas putida* Crc global regulator in the benzoate degradation pathway is the BenR transcriptional regulator. *Journal of Bacteriology*. 2008;190(5):1539–1545. DOI: 10.1128/jb.01604-07.
30. Suvorova IA, Gelfand MS. Comparative analysis of the IclR-family of bacterial transcription factors and their DNA-binding motifs: structure, positioning, co-evolution, regulon content. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:675815. DOI: 10.3389/fmicb.2021.675815.
31. Jerg B, Gerischer U. Relevance of nucleotides of the PcaU binding site from *Acinetobacter baylyi*. *Microbiology*. 2008;154(3): 756–766. DOI: 10.1099/mic.0.2007/013508-0.
32. Guo Z, Houghton JE. PcaR-mediated activation and repression of *pca* genes from *Pseudomonas putida* are propagated by its binding to both the –35 and the –10 promoter elements. *Molecular Microbiology*. 1999;32(2):253–263. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01342.x.
33. Diao J, Carr R, Moon TS. Deciphering the transcriptional regulation of the catabolism of lignin-derived aromatics in *Rhodococcus opacus* PD630. *Communications Biology*. 2022;5:1109. DOI: 10.1038/s42003-022-04069-2.

УДК 582.282.112(476)

МОРФОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И РАСПРОСТРАНЕНИЕ МУЧНИСТОРОСЯНОГО ГРИБА *ERYSIPHE CIRCAEAE* L. JUNELL В БЕЛАРУСИ

И. А. ФЕДЮШКО¹⁾, А. К. ХРАМЦОВ¹⁾

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

В ходе проведенных исследований установлено, что на территории республики, в Южной и Новой агроклиматических областях, мучнисторосяный гриб *Erysiphe circaeae* L. Junell на *Circaea lutetiana* L. проходит цикл развития, включающий как анаморфу, так и телеоморфу. Впервые на материале, собранном в Беларуси, изучены морфометрические характеристики бесполой и половой стадий развития возбудителя мучнистой росы двулестников. Ранее подобные сведения не были опубликованы. На основе сравнительного анализа размеров конидий сделан вывод о строгой приуроченности грибов *E. circaeae* и *E. howeana* U. Braun к своим растениям-хозяевам – *C. lutetiana* и *Oenothera biennis* L. соответственно. Рассмотрен состав гербофильных микосинузий с участием гриба *E. circaeae* и указаны предположительные локалитеты его нахождения на представителях рода *Circaea* в Беларуси.

Ключевые слова: *Erysiphe circaeae*; мучнистая роса; *Circaea*; двулестник; анаморфа; телеоморфа; фитопатогенные микробиоты; растения-хозяева; микобиота; Беларусь.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Природные ресурсы и окружающая среда» (подпрограмма 10.2 «Биоразнообразие, биоресурсы, экология», задание 10.2.02 «Проблемы биологических инвазий и паразитарных угроз в природных и антропогенно трансформированных экосистемах»), научно-исследовательской работы «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» (№ гос. регистрации 20211704). Авторы выражают благодарность научному сотруднику отдела защиты растений Федерального исследовательского центра «Субтропический научный центр Российской академии наук» (г. Сочи, Россия) Т. С. Булгакову и заведующему кафедрой ботаники биологического факультета БГУ В. Н. Тихомирову за содействие в выполнении данной работы.

Образец цитирования:

Федюшко ИА, Храмцов АК. Морфолого-биологическая характеристика и распространение мучнисторосяного гриба *Erysiphe circaeae* L. Junell в Беларуси. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;1:41–53.
EDN: IQCNNC

For citation:

Fiadziushka IA, Khramtsov AK. Morphological and biological characteristics and distribution of the powdery mildew fungus *Erysiphe circaeae* L. Junell in Belarus. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024;1:41–53. Russian.
EDN: IQCNNC

Авторы:

Илья Александрович Федюшко – ассистент кафедры ботаники биологического факультета.

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

Authors:

Ilya A. Fiadziushka, assistant at the department of botany, faculty of biology.

fiadziushka.ilya@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-3465-2432>

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

MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND DISTRIBUTION OF THE POWDERY MILDEW FUNGUS *ERYSIPHE CIRCAEAE* L. JUNELL IN BELARUS

I. A. FIADZIUSHKA^a, A. K. KHRAMTSOV^a

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

Corresponding author: I. A. Fiadziushka (fiadziushka.ilya@gmail.com)

In the course of the studies, it was established that on the territory of republic, in the Southern and New agroclimatic regions, the powdery mildew fungus *Erysiphe circaeae* L. Junell on the *Circaea lutetiana* L. undergoes a development cycle, including both anamorph and teleomorph. For the first time the morphometric characteristics of the asexual and sexual development stages of the powdery mildew causative agent on broad-leaved enchanter's nightshade are studied using material from Belarus. Such information has not been published previously. The strict preferences of the fungi *E. circaeae* and *E. howeana* U. Braun with their host plants – *C. lutetiana* and *Oenothera biennis* L. respectively – is shown on the bases of comparative analysis of the conidia size. The herbophilic mycosinuria composition with the participation of the fungus *E. circaeae* is reviewed and the estimated localities of its occurrence on representatives of the genus *Circaea* in Belarus are indicated.

Keywords: *Erysiphe circaeae*; powdery mildew; *Circaea*; enchanter's nightshade; anamorph; teleomorph; phytopathogenic micromycetes; host plants; mycobiota; Belarus.

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the state programme of scientific research «Natural resources and environment» (subprogramme 10.2 «Biodiversity, bioresources, ecology», assignment 10.2.02 «Problems of biological invasions and parasitic threats in natural and anthropogenically transformed ecosystems»), research work «Invasive phytopathogenic fungi, fungi-like organisms and invertebrate animals on cultivated and closely related wild plants: status in communities, distribution, diagnostics» (state registration No. 20211704). The authors express their gratitude to T. S. Bulgakov, researcher at the department of plant protection, Federal Research Centre «Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences» (Sochi, Russia), as well as V. N. Tikhomirov, head of the department of botany, faculty of biology, Belarusian State University, for assistance in carrying out this work.

Введение

Гриб *Erysiphe circaeae* L. Junell (Erysiphaceae, Helotiales, Leotiomyetidae, Leotiomyetes, Pezizomycotina, Ascomycota, Fungi)¹ является облигатным паразитом растений рода *Circaea* (Onagraceae), вызывающим мучнистую росу [1; 2].

Л. Юнелл в 1967 г. описала *E. circaeae* на *C. lutetiana* L., используя материал, собранный в 1886 г. в Германии (г. Берлин, парк «Тиргартен») [3]. Данный микромицет обнаружен во многих странах Европы (Австрия, Бельгия, Болгария, Великобритания, Венгрия, Германия, Дания, Ирландия, Испания, Италия, Нидерланды, Норвегия, Португалия, Румыния, Сербия, Словакия, Франция, Чехия, Швейцария, Швеция и др.), а также на территории Азии (Армения, Грузия, Иран, российский Дальний Восток), Северной Америки (США)² и Австралии³ [2; 4–7]. Из числа государств, сопредельных с Беларусью, указанный паразит отмечен в Литве, Польше и Украине⁴ [2; 4; 8]. Кроме *C. lutetiana*⁵, гриб *E. circaeae* выявлен на *C. alpina* L., *C. × intermedia* Ehrh.⁶ и способен поражать их не только *in vivo*, но и *in vitro* [9; 10]. Все вышеперечисленные хозяева гриба *E. circaeae* встречаются на территории Беларуси [11]. Местами их произрастания являются сырые ельники, черноольшаники и смешанные леса (*C. alpina*), тенистые леса и кустарники (*C. × intermedia*), тенистые лиственные леса и кустарники, берега лесных ручьев, опушки черноольшаников, сырые тенистые овраги (*C. lutetiana*) [11].

¹*Erysiphe circaeae* L. Junell [Electronic resource] // Index Fungorum. URL: <https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=330696> (date of access: 15.10.2023).

²*Erysiphe circaeae* L. Junell [Electronic resource] // Discover Life. URL: <https://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Erysiphe+circaeae> (date of access: 16.10.2023).

³*Erysiphe circaeae* L. Junell [Electronic resource] // Global Biodiversity Information Facility database. URL: <https://www.gbif.org/rul/species/2578386> (date of access: 15.10.2023).

⁴*Erysiphe circaeae* L. Junell [Электронный ресурс] // Грибы Украины. URL: <http://www.cybertruffle.org.uk/cgi-bin/robi.pl?glo=rus&location=UA&assoge=&assorg=&link=&organism=19206> (дата обращения: 05.10.2023).

⁵*Erysiphe circaeae* L. Junell [Electronic resource] // (Obligat) Phytoparasitische Kleinpilze. URL: <https://www.phytoparasiten.de/?s=Erysiphe+circaeae&submit=Suchen> (date of access: 25.09.2023).

⁶*Erysiphe circaeae* L. Junell [Electronic resource] // Plant parasites of Europe: leafminers, galls and fungi. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/leotiomyetes/leotiomyetidae/helotiales/erysiphaceae/erysiphe/erysiphe-circaeae/> (date of access: 22.09.2023).

В монографии И. С. Гириловича «Мучнисторосяные грибы (порядок Erysiphales) Беларуси» (2018) нет сведений о грибе *E. circaeae* [12]. На территории республики данный микромицет впервые был зарегистрирован О. А. Лис в 2020 г. в республиканском ландшафтном заказнике «Мозырские овраги» на *C. lutetiana* (Новая агроклиматическая область, геоботаническая подзона широколиственно-сосновых лесов, Полесско-Приднепровский геоботанический округ, Припятско-Мозырский геоботанический район) (рис. 1) [13]. Однако морфометрические показатели обнаруженного патогена не были опубликованы. На собранном образце присутствовали анаморфа и зачаточные хазмотеции, что оставляло открытым вопрос о полном прохождении цикла развития нового для Беларуси гриба *E. circaeae*. Изучения также требовали морфометрические характеристики структур микромицета и его распространение в условиях республики.



Рис. 1. Местонахождения гриба *E. circaeae* на *C. lutetiana* в Беларуси

Fig. 1. The locations of the fungus *E. circaeae* on the *C. lutetiana* in Belarus

В 2023 г. И. А. Федюшко собрал образцы растений *C. lutetiana* с признаками мучнистой росы из другого локалитета Беларуси, а именно лесопарка «Альба», имеющего статус ботанического памятника природы республиканского значения (Южная агроклиматическая область, геоботаническая подзона грабово-дубово-темнохвойных лесов, Неманско-Предполесский геоботанический округ, Неманский геоботанический район) (см. рис. 1), и определил на них гриб *E. circaeae*, развивающийся как в анаморфе, так и в телеоморфе, со зрелыми хазмотециями. Выявление вышеуказанного паразита на всех стадиях жизненного цикла обусловило цель данной работы: изучить особенности строения и развития гриба *E. circaeae*, а также дополнить сведения о его распространении в условиях Беларуси.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре ботаники биологического факультета БГУ в 2023 г. Объектом исследования являлся фитопатогенный микромицет *E. circaeae*. Сбор материала осуществлялся с использованием маршрутного метода микологических и фитопатологических исследований [14]. Встречаемость гриба оценена по шкале Гааса [15]. Степень поражения растений патогеном определена по 5-балльной шкале [16]. Идентификация гриба *E. circaeae* и его растения-хозяина, измерение морфометрических показателей вышеуказанного микромицета, а также гриба *E. howeana* U. Braun выполнены методами световой микроскопии с использованием бинокулярных микроскопов Stemi-2000 (*Carl Zeiss*, Германия), Axiostar (*Carl Zeiss*) и Микромед-2 (модель 2-20 inf.) (*Микромед*, Россия) и соответствующих определителей и монографий [1; 2; 4; 5; 9; 11; 17–19]. Окраска структур гриба *E. circaeae* уточнена по шкале цветов, приведенной в работе [20].

Для изучения изменчивости морфометрических характеристик гриба *E. circaeae* были использованы следующие критерии описательной статистики: $(\min -)Q_1 - Q_3(-\max)$, M_o , где $\min$ – минимальное значение признака; $Q_1 - Q_3$ – межквартильный размах; $\max$ – максимальное значение признака; M_o – мода. Определение нормальности распределения сравниваемых признаков (длина и ширина конидий) грибов *E. circaeae* и *E. howeana* осуществлялось с помощью одновыборочного критерия Колмогорова – Смирнова. Объемы выборок каждой из изучаемых структур грибов *E. circaeae* и *E. howeana* составляли не менее 25 шт. В связи с тем что анализируемые данные не подчинялись распределению по нормальному закону, применялся *U*-критерий Манна – Уитни для сравнения двух независимых выборок. Достоверными считались различия при уровне значимости $p < 0,05$. Для статистического анализа данных были использованы возможности языка программирования R и среды программирования RStudio (версия 4.2.3) [21]. Исходя из рекомендаций С. А. Симонян и В. И. Ульянищева, размеры конидий гриба *E. howeana* приводятся с коэффициентом поправки: 1,18 для длины, 1,26 для ширины [22].

Образцы микологического материала, использованного в работе (табл. 1 и 2), хранятся в микологической коллекции (MSKU-F) Гербария БГУ.

Таблица 1

Изученные образцы гриба *E. circaeae*

Table 1

Studied samples of the fungus *E. circaeae*

Номер образца	Место сбора	Растение-хозяин	Дата сбора	Коллектор
MSKU-F 13188	Гомельская область, г. Мозырь, республиканский ландшафтный заказник «Мозырские овраги», смешанный лес	<i>C. lutetiana</i> s. l.	29.06.2020	О. А. Лис
MSKU-F 16997	Минская область, Несвижский район, п. Альба, лесопарк «Альба», у канала, черноольшаник лещиново-снытевый	<i>C. lutetiana</i> s. l.	10.08.2023	И. А. Федюшко
MSKU-F 16999	Минская область, Несвижский район, п. Альба, лесопарк «Альба», у канала, черноольшаник лещиново-снытевый	<i>C. lutetiana</i> s. l.	29.08.2023	И. А. Федюшко
MSKU-F 17009, MSKU-F 17010, MSKU-F 17011, MSKU-F 17012	Минская область, Несвижский район, п. Альба, лесопарк «Альба», у канала, черноольшаник лещиново-снытевый	<i>C. lutetiana</i> s. l.	08.10.2023	И. А. Федюшко
MSKU-F 17013	Минская область, Несвижский район, п. Альба, лесопарк «Альба», 500 м к востоку от центрального кольцевого рва, черноольшаник бузиново-снытевый	<i>C. lutetiana</i> s. l.	08.10.2023	И. А. Федюшко

Таблица 2

Изученные образцы гриба *E. howeana*

Table 2

Studied samples of the fungus *E. howeana*

Номер образца	Растение-хозяин	Коллектор
MSKU-F 1538, MSKU-F 1539, MSKU-F 1540, MSKU-F 1541, MSKU-F 1835, MSKU-F 1836, MSKU-F 1837/1, MSKU-F 1838, MSKU-F 1839, MSKU-F 1840, MSKU-F 2261, MSKU-F 2262, MSKU-F 2263, MSKU-F 3052, MSKU-F 3619, MSKU-F 5334, MSKU-F 5335	<i>Oenothera biennis</i> L.	И. С. Гирилович
MSKU-F 8553, MSKU-F 9442, MSKU-F 10117	<i>O. biennis</i>	А. К. Храмцов
MSKU-F 11580	<i>O. biennis</i>	Е. Ф. Шишея
MSKU-F 12547	<i>O. biennis</i>	В. Д. Сергейчик
MSKU-F 17014	<i>O. biennis</i>	И. А. Федюшко
MSKU-F 12071	<i>Oenothera</i> sp.	В. Д. Поликсенова

Исследование образцов растений рода *Circaea* (табл. 3) на предмет поражения грибом *E. circaeae*, а также выяснение провизорных локалитетов нахождения данного микромицета в Беларуси проведено на материале флористической и микологической коллекций (MSKU-V и MSKU-F соответственно) Гербария БГУ.

Таблица 3

Изученные образцы растений рода *Circaea*

Table 3

Studied samples of the genus *Circaea*

Номер образца	Коллектор*
<i>C. alpina</i>	
MSKU-V 10924	Шестокова
MSKU-V 10932, MSKU-V 10985	В. Парфёнов, Г. Вынаев, Л. Симонович
MSKU-V 10934	Шипуля, Гутовский, Барташ
MSKU-V 10935	Цыбулько
MSKU-V 10936	Нагорская
MSKU-V 10972, MSKU-V 10973	Н. К. Кудряшева
MSKU-V 10978	Нет информации о коллекторе
MSKU-V 10979	С. Гошко, А. Илоин
MSKU-V 10980	Захарова, Шульга
MSKU-V 10981	А. С. Лобкович, Т. В. Лебедева
MSKU-V 10983, MSKU-V 10984, MSKU-V 10987	Г. Вынаев
MSKU-V 10988, MSKU-V 10989	С. Бабич
MSKU-V 10990, MSKU-V 10991	Г. И. Зубкевич
MSKU-V 10992	А. А. Слобожанина
MSKU-V 10993	Э. А. Изергина
MSKU-V 10994	Е. Я. Серова
MSKU-V 10995	Т. А. Карабанова (Т. А. Сауткина)
MSKU-V 11044, MSKU-V 11045, MSKU-V 11047	И. С. Лосоцкая
MSKU-V 11046	А. К. Ефремкина
MSKU-V 13789, MSKU-V 13790	М. В. Кочергина
MSKU-V 13899	Л. Г. Симонович
MSKU-V 14458	В. Храпицкая, Г. Бирич, М. Г. Кудряшова
MSKU-V 18395	Ю. Жабко
MSKU-V 22113	Н. А. Короленя
MSKU-V 27465	Л. Книга
MSKU-V 28034	Нет информации о коллекторе
MSKU-V 28661	Ю. А. Бибилов
MSKU-V 29043, MSKU-V 29044	И. С. Живицкая
MSKU-V 30677	Ярец
MSKU-V 31191	В. Н. Тихомиров
MSKU-V 31192	Ю. А. Бибилов, Рябушева
MSKU-V 31193	И. Ермилович
MSKU-V 42676, MSKU-V 42728	А. Н. Мялик
MSKU-V 48868, MSKU-V 48869, MSKU-F 10051	А. К. Храмцов
MSKU-F 13483, MSKU-F 13484, MSKU-F 13485, MSKU-F 13486, MSKU-F 13487, MSKU-F 13488, MSKU-F 13489, MSKU-F 13490, MSKU-F 13491, MSKU-F 13492, MSKU-F 13493, MSKU-F 13494, MSKU-F 13495, MSKU-F 13496, MSKU-F 13497, MSKU-F 13498, MSKU-F 13499	И. С. Гирилович

Окончание табл. 3
Ending of the table 3

Номер образца	Коллектор*
<i>C. × intermedia</i>	
MSKU-V 11038	М. М. Мотыль
MSKU-V 31190	Ю. А. Бибилов
<i>C. lutetiana</i> s. l.	
MSKU-V 1099, MSKU-V 10996, MSKU-V 17312	Г. И. Зубкевич
MSKU-V 10998, MSKU-V 10999, MSKU-V 11000, MSKU-V 11001, MSKU-V 11037, MSKU-V 11042	Н. К. Кудряшева
MSKU-V 11002, MSKU-V 11003	В. Парфенов
MSKU-V 11004, MSKU-V 11009, MSKU-V 11010	Г. Ф. Рыковский
MSKU-V 11005	В. Парфенов, Л. Симонович
MSKU-V 11006, MSKU-V 11011	Г. В. Вынаев
MSKU-V 11007	В. В. Маврищев
MSKU-V 11008, MSKU-V 11012	Шебеко
MSKU-V 11013	Н. Козловская, Р. Штутина
MSKU-V 11039, MSKU-V 11040, MSKU-V 11041	Журавлева
MSKU-V 11043	Г. Вынаев, В. Гречуха
MSKU-V 13891	Н. Козловская
MSKU-V 18649	Т. А. Сауткина
MSKU-V 19339	И. С. Жмодяк
MSKU-V 20238	Н. Сытько
MSKU-V 20799	С. М. Кузьменкова
MSKU-V 21714	М. М. Маньяков
MSKU-V 22110, MSKU-V 22111	Н. А. Короленя
MSKU-V 25334	И. А. Золоторева
MSKU-V 29049	И. С. Живицкая
MSKU-V 30841, MSKU-F 13482	И. С. Гирилович
MSKU-V 31194, MSKU-V 31977	В. Н. Тихомиров
MSKU-V 31195, MSKU-V 31196, MSKU-V 31197, MSKU-V 31198	Ю. А. Бибилов
MSKU-V 40248	А. Н. Мялик
MSKU-V 40525, MSKU-V 40726, MSKU-V 42075, MSKU-V 44912, MSKU-F 16996, MSKU-F 16998	И. А. Федюшко
<i>Circaea</i> sp.	
MSKU-V 31977	В. Н. Тихомиров

*Сведения о коллекторах указаны идентично данным, приведенным на гербарных этикетках.

Агроклиматическое зонирование Беларуси приведено по данным работы [23]. Геоботаническое районирование указано согласно изданию [24]. При определении координат местонахождений грибов и растений, а также составлении карт использовались возможности электронных ресурсов *SimpleMappr*⁷, *Figma*⁸ и *Google Maps*⁹. Латинские названия грибов даны в соответствии с базой данных Index Fungorum¹⁰, а латинские названия растений – в соответствии с базой данных Plants of the World Online¹¹.

⁷SimpleMappr: create free point maps for publications and presentations [Electronic resource]. URL: <https://www.simplmappr.net/#tabs=0/> (date of access: 01.10.2023).

⁸Figma: the collaborative interface design tool [Electronic resource]. URL: <https://www.figma.com/> (date of access: 01.10.2023).

⁹Google Maps [Electronic resource]. URL: <https://www.google.by/maps/> (date of access: 01.10.2023).

¹⁰Index Fungorum [Electronic resource]. URL: www.indexfungorum.org/names/Names.asp (date of access: 15.10.2023).

¹¹Plants of the World Online [Electronic resource] / Royal Botanic Gardens, Kew. URL: <https://powo.science.kew.org/> (date of access: 15.10.2023).

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований нами установлено, что на территории Беларуси, в Южной и Новой агроклиматических областях, гриб *E. circaeae* на *C. lutetiana* проходит цикл развития, включающий как анаморфу, так и телеоморфу. Встречаемость патогена в исследованных фитоценозах имеет оценку от 1 балла (единично) (июнь, республиканский ландшафтный заказник «Мозырские овраги») до 3 баллов (неравномерно, рассеянно) (октябрь, лесопарк «Альба»).

Гриб полностью покрывал пораженные органы (листья, стебли, цветоносы, цветоножки, плодоножки, плоды) растения-хозяина белым мучнистым налетом (рис. 2). Степень поражения растений в обоих локалитетах достигала 4 баллов (поражение охватывало более 50 % площади листа), причем такое эпифитотийное развитие болезни в республиканском ландшафтном заказнике «Мозырские овраги» было зарегистрировано уже в конце июня, что, вероятно, связано с более благоприятными климатическими условиями для гриба *E. circaeae* в Новой агроклиматической области.



Рис. 2. Гриб *E. circaeae* на *C. lutetiana* (лесопарк «Альба»):
а – общий вид пораженных растений; б – мучнистая роса на листьях
Fig. 2. Fungus *E. circaeae* on the *C. lutetiana* (forest park «Alba»):
a – the general view of affected plants; b – powdery mildew on leaves

Результаты исследований показали, что у гриба *E. circaeae* в двух выявленных локалитетах на территории Беларуси отмечена разница во времени образования хазмотециев. Так, судя по изученным образцам, в республиканском ландшафтном заказнике «Мозырские овраги» (Новая агроклиматическая область) в конце июня патоген уже образовывал зачаточные хазмотеции, в то время как в лесопарке «Альба» (Южная агроклиматическая область) плодовых тел у него не фиксировалось даже в конце первой декады августа. Данный факт, вероятно, также можно связать с климатическими параметрами Новой агроклиматической области, которые способствовали более ранним срокам протекания полового процесса и образования плодовых тел у исследуемого микромицета.

К концу августа в лесопарке «Альба» у гриба *E. circaeae* отмечено наличие зрелых хазмотециев преимущественно на нижних сторонах пораженных листовых пластинок. Позже, в первой декаде октября, помимо обильного конидиального спороношения, выявлены многочисленные плодовые тела по обеим сторонам листовых пластинок (рис. 3, а и б). Некоторые исследователи пишут об образовании хазмотециев грибом *E. circaeae* преимущественно на междоузлиях стебля [5]. Следует отметить, что на проанализированных нами образцах плодовые тела зафиксированы на всех пораженных органах, но особенно многочисленными они были на листьях.

Изучение образцов растений рода *Circaea*, хранящихся в флористической коллекции (MSKU-V) Гербария БГУ, не выявило на них признаков мучнистой росы.

Ниже приводится краткая морфологическая характеристика гриба *E. circaeae*, составленная авторами данной работы по результатам изучения его образцов, собранных на территории Беларуси.

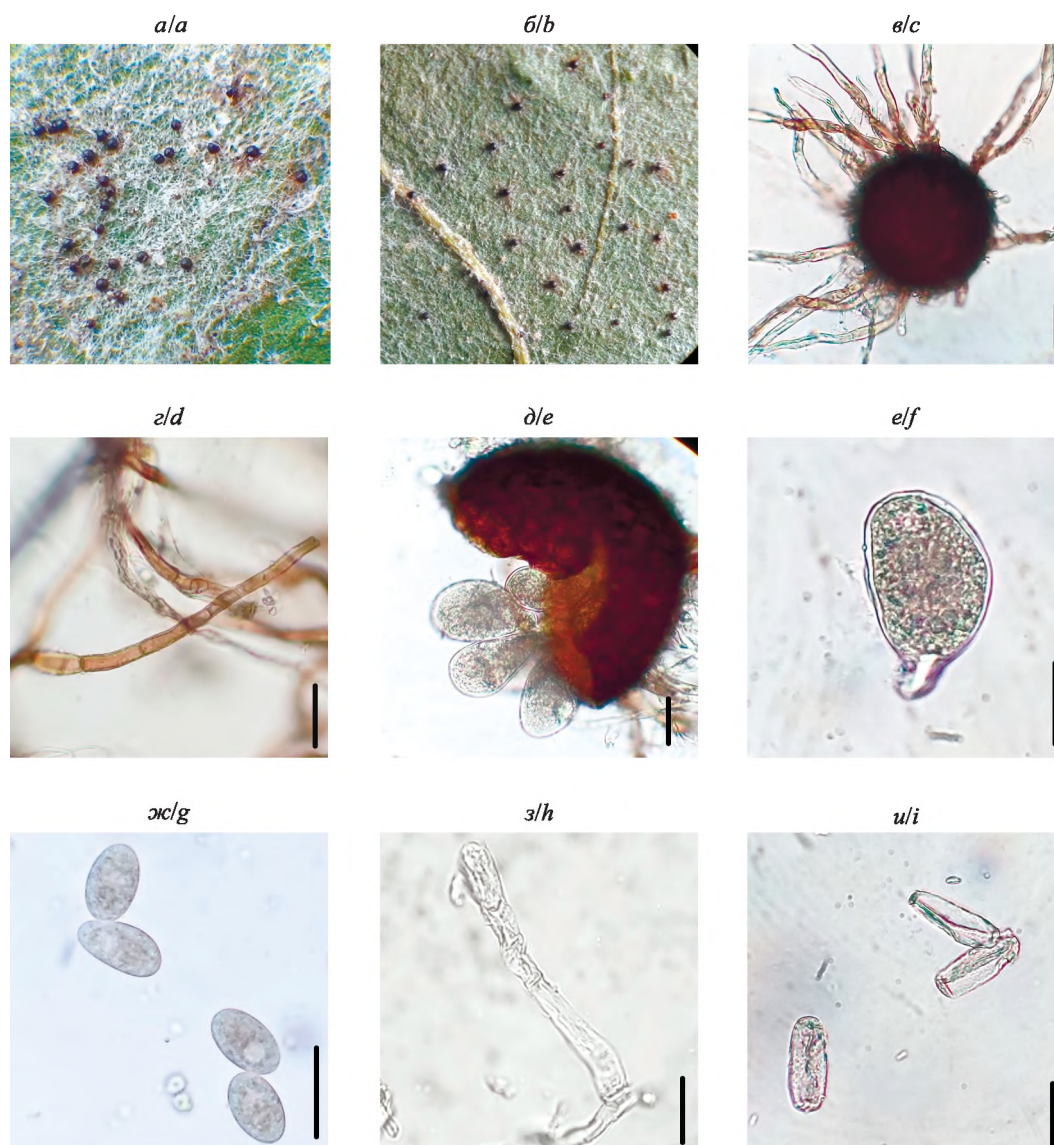


Рис. 3. Структуры гриба *E. circaeae* на разных стадиях его жизненного цикла в условиях Беларуси:
а – верхняя сторона листа *C. lutetiana* с хазмотециями; б – нижняя сторона листа *C. lutetiana* с хазмотециями;
в – хазмотеций; г – фрагменты придатков; д – вскрытый хазмотеций и аски; е – аск;
ж – аскоспоры; з – конидиеносец с конидией; и – конидии.
Длина штрихов составляет 25 мкм

Fig. 3. Structures of the fungus *E. circaeae* on different stages of its life cycle in Belarus:
а – *C. lutetiana* the upper leaf's side with chasmothecia; б – *C. lutetiana* the under leaf's side with chasmothecia;
с – chasmothecium; д – appendages's fragments; е – open chasmothecium and asci; ф – asc;
г – spores; и – conidiophore with conidium; и – conidia.
The bar's length 25 μm

Erysiphe circaeae L. Junell, Svensk Bot. Tidskr. 61(1): 224 (1967)

Syn.: *E. polygoni* auct. p. p., *E. communis* auct. p. p., *E. communis* f. *circaeae* Hammarl., Hereditas 6: 36 (1925).

Мицелий белый с сероватым оттенком, нежный, слабомучнистый, на обеих сторонах листьев, а также на стеблях, цветоносах, цветоножках, плодоножках, плодах растения-хозяина. Анаморфа развивается по типу *Pseudoidium*. Конидиеносцы прямые, длиной (63,8–)75,0–82,5(–87,5) мкм, с прямыми или слегка извилистыми, почти цилиндрическими базальными клетками. Конидии от эллипсоидальных до эллипсоидально-цилиндрических, размером (20,0–)30,0–37,5(–45,0) × (10,0–)12,5–15,0(–20,0) мкм, отношение длины к ширине (1,4–)2,0–2,8(–4,5). Хазмотеции многочисленные, полушаровидные, разбросанные или собранные в группы на всех пораженных органах, в том числе на верхней и нижней поверхностях листовых пластинок, от шоколадно-бурых и темно-коричневых (в проходящем свете) до черных (в отраженном свете), диаметром (70,0–)85,9–99,1(–111,3) мкм. Придатки базальные, мицелиевидные, простые, изредка неправильно ветвящиеся, прямые или извилистые, септированные, мо-

лодые – бесцветные, зрелые – коричневые, размером $(12,5-51,6-153,4(-300,0) \times 5,0(-10,0)$ мкм. Аски эллипсоидальные или яйцевидные, преимущественно неравнобокие, на коротких ножках, размером $(50,0-57,5-65,0(-77,5) \times (25,0-30,0-42,5(-52,5)$ мкм, 3–6-споровые, находятся в хазмотеции по 2–6 шт. Аскоспоры эллипсоидальные, редко яйцевидные, темно-пепельные или темно-пепельно-серые; их размеры с ножкой $(12,5-20,0-25,0(-27,5) \times (7,5-12,5-15,0)$ мкм (см. рис. 3).

Сравнение морфометрических характеристик структур гриба *E. circaeae*, полученных нами, с данными других исследователей показало их сходство практически по всем показателям, кроме длины асков (табл. 4). Значения этого параметра, представленные в настоящей работе, в 1,14–1,15 раза превышают его значения, приводимые в изученных нами источниках, за исключением данных Б. Салаты, который исследовал образцы гриба *E. circaeae*, собранные на территории Польши (см. табл. 4) [8].

На изученных экземплярах двулепестника парижского вместе с возбудителем мучнистой росы обнаружены грибы рода *Alternaria*, которые были приурочены к отмершим участкам цветоножек и верхушкам побегов. Кроме того, на листьях *C. lutetiana*, пораженных грибом *E. circaeae*, выявлено развитие ржавчинного гриба *Puccinia circaeae* Pers. (рис. 4). Следует отметить, что при совместном развитии со ржавчиной интенсивность поражения двулепестника парижского мучнистой росой не превышала 2 баллов, в то время как на растениях, пораженных только грибом *E. circaeae*, этот показатель составил 4 балла. Вероятно, это связано с более поздним (в сравнении с ржавчинным грибом) заселением субстрата мучнисторосяным грибом. В данной гербофильной микосинузии у мучнисторосяного гриба отмечен менее интенсивный налет, что, однако, не сказалось на образовании у патогена хазмотециев, асков и аскоспор как результата полового процесса.



Рис. 4. Двулепестник парижский, пораженный грибами *E. circaeae* и *P. circaeae* (вид с верхней стороны листовых пластинок; стрелками показаны места пустул возбудителя ржавчины)

Fig. 4. Enchanter's nightshade affected by the fungi *E. circaeae* and *P. circaeae* (view from the upper side of the leaf blades; arrows indicate the places of the rust pathogen pustules)

В научной литературе есть сведения о возможности паразитирования гриба *E. circaeae* на растениях других родов семейства Onagraceae, в частности на представителях рода *Oenothera*, а именно *O. biennis* [4; 8; 25]. Для Беларуси на ослиннике двулетнем указывается только один паразит из числа мучнисторосяных грибов – *E. howeana*, который до настоящего времени развивается на территории республики только в анаморфе [12]. Проведенный нами сравнительный анализ размеров конидий грибов *E. circaeae* и *E. howeana* дает возможность говорить о статистически достоверном различии длины и ширины конидий у этих двух грибов на изученных образцах (табл. 5), что согласуется с описаниями указанных микромицетов, сделанными другими исследователями (см. табл. 4) [2; 12]. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что на изученном нами материале вида *O. biennis*, собранном на территории Беларуси, представлен только гриб *E. howeana*, тогда как гриб *E. circaeae* приурочен к *C. lutetiana*. Подобное заключение согласуется с информацией о хозяевах вышеуказанных грибов, появившейся в литературных источниках [2].

Таблица 4

Морфометрические показатели структур гриба *E. circaeae* по данным разных авторов

Table 4

Morphometric indicators of the structures of the fungus *E. circaeae* according to various authors

Длина конидиеносца, мкм	Длина конидии, мкм	Ширина конидии, мкм	Отношение длины конидии к ее ширине	Диаметр хазмотеция, мкм	Ширина придатка, мкм	Длина аска, мкм	Ширина аска, мкм	Длина аскоспоры, мкм	Ширина аскоспоры, мкм	Источник
–	–	–	–	75–90	–	45–50	35–40	20	10	[9]
–	30–46	14–20	–	70–105	4–9	45–65	30–40	18–23	10–12	[3]
–	30–35	15–16	–	100	–	–	–	20–23	11–12	[17]
–	26–42	14–20	–	76–120	–	50–68	32–47	18–26	10–14	[8]
–	26–42	12–20	–	75–120	–	46–65	32–45	18–25	10–14	[4]
–	32–35	14–16	–	80–105	–	45–50	35–40	20–23	11–12	[18]
–	27–37	12–17	2,1–2,4	80–110	–	40–60	25–40	18–21	10–12	[5]
–	29–44	14–20	–	70–105	–	45–65	30–40	18–24	10–13	[7]
–	30–46	14–20	–	70–105	4–9	45–65	30–40	18–23	10–12	[1]
–	(26–)30–42(–46)	(12–)14–20	1,6–2,6	(70–)75–105(–120)	–	46–65	32–45	18–23(–25)	10–12(–14)	[2]
(63,8–)75,0– 82,5(–87,5)	(20,0–)30,0– 37,5(–45,0)	(10,0–)12,5– 15,0(–20,0)	(1,4–)2,0– 2,8(–4,5)	(70,0–)85,9– 99,1(–111,3)	5,0(–10,0)	(50,0–)57,5– 65,0(–77,5)	(25,0–)30,0– 42,5(–52,5)	(12,5–)20,0– 25,0(–27,5)	(7,5–)12,5–15,0	Настоящая работа

Примечание. Прочерк обозначает отсутствие данных.

Таблица 5

Результаты сравнительного анализа морфометрических показателей
конидий грибов *E. circaeae* и *E. howeana*

Table 5

Results of a comparative analysis of the conidia morphometric parameters
of the fungi *E. circaeae* and *E. howeana*

Гриб	Длина конидий, мкм	Ширина конидий, мкм	Отношение длины конидий к их ширине
<i>E. circaeae</i>	(20,0–)30,0–37,5(–45,0) Mo = 37,5	(10,0–)12,5–15,0(–20,0) Mo = 15,0	(1,4–)2,0–2,8(–4,5) Mo = 2,3
<i>E. howeana</i>	(20,6–)29,4–33,0(–44,2) Mo = 29,5	(10,6–)15,8–18,9(–23,0) Mo = 15,8	(1,3–)1,5–1,9(–2,8) Mo = 1,9

Примечание. Для приведенных данных $p < 0,05$.

Полученные нами сведения о размерах конидий гриба *E. circaeae* подтверждают наиболее характерную особенность анаморфы данного вида, ранее отмеченную исследователями, – наличие длинных и тонких конидий (см. табл. 4) [5].

Принимая во внимание широкое распространение гриба *E. circaeae* в европейских странах, расположенных южнее, западнее и севернее Беларуси, и отсутствие до последнего времени информации о таковом восточнее ее территории (европейская часть России), можно предположить, что этот микромицет является чужеродным для республики. Учитывая высокую степень изученности разнообразия мучнисторосяных грибов в Беларуси, что отражено в специализированной монографии [12], а также отсутствие до 2020 г. сведений о грибе *E. circaeae* в республике, вероятно, можно считать его недавно проникнувшим на территорию страны. Вышеуказанный паразит распространился, по всей видимости, с воздушными массами и транспортными потоками и поразил одного из своих потенциальных хозяев – аборигенное растение *C. lutetiana* [12; 26].

С учетом паразитирования гриба *E. circaeae* на представителях рода *Circaea* нами сделан прогноз относительно возможных локалитетов выявления этого микромицета на территории Беларуси, основанный на местонахождениях потенциальных растений-хозяев – *C. alpina*, *C. lutetiana*, *C. × intermedia* и *Circaea* sp. (рис. 5).

Выявление в Беларуси новых местонахождений и хозяев гриба *E. circaeae* позволит детальнее изучить распространение данного микромицета на территории республики и уточнить его статус в фитоценозах.

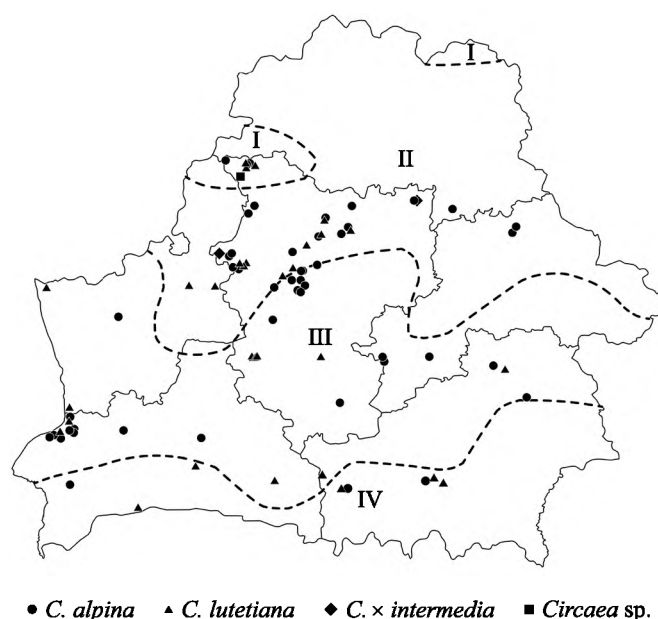


Рис. 5. Локалитеты выявления представителей рода *Circaea* в Беларуси
(по материалам Гербария БГУ). Обозначения областей см. на рис. 1

Fig. 5. Localities for identifying representatives of genus *Circaea* in Belarus
(based on materials from the Herbarium of the Belarusian State University). Area designations see on fig. 1

Заключение

Проведенные исследования показали, что новый для микобиоты Беларуси гриб *E. circaeae* в выявленных местообитаниях развивается как в анаморфе, так и в телеморфе. Он трофически связан с растением *C. lutetiana*, но, вероятно, может быть обнаружен и на других представителях рода *Circaea*. Сравнительный анализ морфометрических показателей конидий грибов *E. circaeae* и *E. howeana* позволяет утверждать о строгой приуроченности их к своим растениям-хозяевам – *C. lutetiana* и *O. biennis* соответственно.

Приведенная информация о грибе *E. circaeae* дополняет данные о его развитии, морфометрических характеристиках, распространении и может быть учтена при инвентаризации микобиоты Беларуси.

Библиографические ссылки

1. Braun U, Cook RTA. *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre; 2012. 707 p. (CBS biodiversity series; volume 11).
2. Гелюта ВП. Критичний перегляд видового складу борошнисторосяних грибів (Erysiphaceae, Ascomycota) України: *Erysiphe* sect. *Erysiphe*. Український ботанічний журнал. 2023;80(1):21–63. DOI: 10.15407/ukrbotj80.01.021.
3. Junell L. A revision of *Erysiphe communis* [Wallr.] Fr. sensu Blumer. *Svensk Botanisk Tidskrift*. 1967;61(1):209–230.
4. Гелюта ВП. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы = *Flora fungorum RSS Ucrainicae. Ascomycetes, Erysiphales*. Киев: Наукова думка; 1989. 256 с.
5. Симонян СА. Микофлора Арменії. Том 7, Мучнисторосяные грибы Арменії (пор. *Erysiphales*). Ереван: Издательство Академии наук Арменії; 1994. 385 с.
6. Petřeková V. *Příprava miniatlasu zástupců padlí (řád Erysiphales)* [dissertation]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci; 2014. 138 s.
7. Paulech C. *Mycota (Huby), Ascomycetes (Vreckatě), Erysiphales (Múčnatkotvaré)*. Bratislava: Veda; 1995. 294 s. (Flóra Slovenska; zväzok 10, zošit 1).
8. Salata B. *Flora Polska. Grzyby (Mycota). Tom 15, Workowce (Ascomycetes). Mączniakowe (Erysiphales)*. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Naukowe; 1985. 246 s.
9. Ячевский АА. *Карманный определитель грибов. Выпуск 2, Мучнисторосяные грибы*. Ленинград: Типография Главного ботанического сада; 1927. 626 с.
10. Hammarlund C. Zur Genetik, Biologie und Physiologie einiger Erysiphaceen. *Hereditas*. 1925;6(1):1–126. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1925.tb03137.x.
11. Сауткина ТА, Третьяков ДИ, Зубкевич ГИ, Козловская НВ, Парфенов ВИ, Блажевич РЮ и др. *Определитель высших растений Беларуси*. Парфенов ВИ, редактор. Минск: Дизайн ПРО; 1999. 472 с.
12. Гирилович ИС. Мучнисторосяные грибы (порядок *Erysiphales*) Беларуси. Минск: БГУ; 2018. 279 с.
13. Храмов АА, Полисенова ВД, Лемеза НА, Лис ОА. Дополнение к перечню чужеродных фитопатогенных микромицетов Беларуси. В: Матусевич НМ, Шкуратова НВ, Левковская МВ, редакторы. *Проблемы оценки, мониторинга и сохранения биоразнообразия. Сборник материалов IV Республиканской научно-практической экологической конференции; 25 ноября 2021 г.; Брест, Беларусь*. Брест: Брестский государственный университет имени А. С. Пушкина; 2021. с. 77–80.
14. Юрцев БА, редактор. *Теоретические и методические проблемы сравнительной флористики. Материалы II рабочего совещания по сравнительной флористике; 20–24 сентября 1983 г.; Неринга, Литва*. Ленинград: Наука; 1987. 296 с.
15. Великанов ЛЛ, Сидорова ИИ, Успенская ГД. *Полевая практика по экологии грибов и лишайников*. Москва: Издательство Московского университета; 1980. 112 с.
16. Хохряков МК, Потлайчук ВИ, Семенов АЯ, Элбакян МА. *Определитель болезней сельскохозяйственных культур*. Ленинград: Колос; 1984. 304 с.
17. Ellis MB, Ellis JP. *Microfungi on land plants: an identification handbook*. London: Croom Helm; 1985. 818 p.
18. Азбукина ЗМ, редактор. *Низшие растения, грибы и мохообразные советского Дальнего Востока. Грибы. Том 2, Аскомицеты: эризифальные, клавицициальные, гелоциальные*. Ленинград: Наука; 1991. 394 с.
19. 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.
20. Бондарцев АС. *Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа*. Савич ВП, редактор. Москва: Издательство Академии наук СССР; 1953. 1107 с.
21. Кабаков РИ. *R в действии. Анализ и визуализация данных в программе R*. Волкова А, переводчик. Москва: ДМК-пресс; 2014. 588 с.
22. Симонян СА, Ульянищев ВИ. Некоторые аспекты систематики мучнисторосяных грибов. *Микология и фитопатология*. 1983;17(2):151–157.
23. Мельник В, Ялукно В, Денисов Н, Николаева Л, Фалолеева М. *Агроклиматическое зонирование территории Беларуси с учетом изменения климата в рамках разработки национальной стратегии адаптации сельского хозяйства к изменению климата в Республике Беларусь*. Минск: [б. и.]; 2017. 83 с.
24. Юркевич ИД, Гельтман ВС, редакторы. *Растительный покров Белоруссии (с картой м. 1:1 000 000)*. Минск: Наука и техника; 1969. 176 с.
25. Dynowska M, Fiedorowicz G, Kubiak D. Contributions to the distribution of *Erysiphales* in Poland. *Acta Mycologica*. 1999; 34(1):79–88. DOI: 10.5586/am.1999.006.
26. Дубовик ДВ, Савчук СС, Скуратович АН, Сысой ИП, Чумаков ЛС, Яковлева ИМ и др. *Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения*. Парфенов ВИ, Пугачевский АВ, редакторы. Минск: Беларуская навука; 2020. 407 с.

References

1. Braun U, Cook RTA. *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre; 2012. 707 p. (CBS biodiversity series; volume 11).
2. Heluta VP. A critical revision of the powdery mildew fungi (Erysiphaceae, Ascomycota) of Ukraine: *Erysiphe* sect. *Erysiphe*. *Ukrainian Botanical Journal*. 2023;80(1):21–63. Ukrainian. DOI: 10.15407/ukrbotj80.01.021.
3. Junell L. A revision of *Erysiphe communis* [Wallr.] Fr. sensu Blumer. *Svensk Botanisk Tidskrift*. 1967;61(1):209–230.
4. Heluta VP. *Flora fungorum RSS Ucrainicae. Ascomycetes, Erysiphales*. Kyiv: Naukova dumka; 1989. 256 p. Russian.
5. Simonyan SA. *Mikoflora Armenii. Tom 7, Muchnistorosyanye gryby Armenii (por. Erysiphales)* [Mycoflora of Armenia. Volume 7, Powdery mildew fungi of Armenia (or Erysiphales)]. Yerevan: Publishing House of the Academy of Sciences of Armenia; 1994. 385 p. Russian.
6. Petřeková V. *Příprava miniatlasu zástupců padlí (řád Erysiphales)* [dissertation]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci; 2014. 138 s.
7. Paulech C. *Mycota (Huby), Ascomycetes (Vreckaté), Erysiphales (Múčnatkotvaré)*. Bratislava: Veda; 1995. 294 s. (Flóra Slovenska; zväzok 10, zošit 1).
8. Salata B. *Flora Polska. Grzyby (Mycota). Tom 15, Workowce (Ascomycetes). Mączniakowe (Erysiphales)*. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Naukowe; 1985. 246 s.
9. Yachevskii AA. *Karmannyi opredelitel' gribov. Vypusk 2, Muchnistorosyanye gryby* [Pocket identification of mushrooms. Issue 2, Powdery mildew fungi]. Leningrad: Tipografiya Glavnogo botanicheskogo sada; 1927. 626 p. Russian.
10. Hammarlund C. Zur Genetik, Biologie und Physiologie einiger Erysiphaceen. *Hereditas*. 1925;6(1):1–126. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1925.tb03137.x.
11. Sautkina TA, Tret'yakov DI, Zubkevich GI, Kozlovskaya NV, Parfenov VI, Blazhevich RYu, et al. *Opredelitel' vysshikh rastenii Belarusi* [Determinant of higher plants of Belarus]. Parfenov VI, editor. Minsk: Dizain PRO; 1999. 472 p. Russian.
12. Girilovich IS. *Muchnistorosyanye gryby (porjadok Erysiphales) Belarusi* [Powdery mildew fungi (order Erysiphales) of Belarus]. Minsk: Belarusian State University; 2018. 279 p. Russian.
13. Khramtsov AK, Poliksenova VD, Lemeza NA, Lis OA. [Addition to the list of alien phytopathogenic micromycetes of Belarus]. In: Matusevich NM, Shkuratova NV, Levkovskaya MV, editors. *Problemy otsenki, monitoringa i sokhraneniya bioraznoobraziya. Sbornik materialov IV Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi ehkologicheskoi konferentsii; 25 noyabrya 2021 g.; Brest, Belarus* [Problems of assessment, monitoring and conservation of biodiversity. Collection of materials of the 4th Republican scientific-practical environmental conference; 2021 November 25; Brest, Belarus]. Brest: Brest State A. S. Pushkin University; 2021. p. 77–80. Russian.
14. Yurtsev BA, editor. *Teoreticheskie i metodicheskie problemy sravnitel'noi floristiki. Materialy II rabocheho soveshchaniya po sravnitel'noi floristike; 20–24 sentyabrya 1983 g.; Neringa, Litva* [Theoretical and methodological problems of comparative floristry. Materials of the 2nd workshop on comparative floristry; 1983 September 20–24; Neringa, Lithuania]. Leningrad: Nauka; 1987. 296 p. Russian.
15. Velikanov LL, Sidorova II, Uspenskaya GD. *Polevaya praktika po ehkologii gribov i lishainikov* [Field practice on ecology of fungus and lichens]. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta; 1980. 112 p. Russian.
16. Khokhryakov MK, Potlaichuk VI, Semenov AY, Ehlbakyen MA. *Opredelitel' boleznei sel'skokhozyaistvennykh kul'tur* [Determinant of diseases of agricultural crops]. Leningrad: Kolos; 1984. 304 p. Russian.
17. Ellis MB, Ellis JP. *Microfungi on land plants: an identification handbook*. London: Croom Helm; 1985. 818 p.
18. Azbukina ZM, editor. *Nizshie rasteniya, gryby i mokhoobraznye sovetskogo Dal'nego Vostoka. Gryby. Tom 2, Askomitsety: ehri-zifal'nye, klavitsipital'nye, gelotsial'nye* [Lower plants, fungi and bryophytes of the Soviet Far East. Fungi. Volume 2, Ascomycetes: erysiphid, clavicipital, helocidal]. Leningrad: Nauka; 1991. 394 p. Russian.
19. Dudka IA, Vasser SP, Ehllanskaya IA, Koval' EZ, Gorbik LT, Nikol'skaya EA, et al. *Metody ehksperimental'noi mikologii* [Methods of experimental mycology]. Bilai VI, editor. Kyiv: Naukova dumka; 1982. 550 p. Russian.
20. Bondartsev AS. *Trutovye gryby evropeiskoi chasti SSSR i Kavkaza* [Polypore fungi of the European part of the USSR and the Caucasus]. Savich VP, editor. Moscow: Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR; 1953. 1107 p. Russian.
21. Kabakov RI. *R v deistvii. Analiz i vizualizatsiya dannyykh v programme R* [R in action. Analysis and visualization of data in the program R]. Volkova A, translator. Moscow: DMK-press; 2014. 588 p. Russian.
22. Simonyan SA, Ulyanishchev VI. [Some aspects of the systematics of powdery mildew fungi]. *Mycology and Phytopathology*. 1983;17(2):151–157. Russian.
23. Mel'nik V, Yatsukhno V, Denisov N, Nikolaeva L, Faloleeva M. *Agroklimaticheskoe zonirovaniye territorii Belarusi s uchetyom izmeneniya klimata v ramkakh razrabotki natsional'noi strategii adaptatsii sel'skogo khozyaistva k izmeneniyu klimata v Respublike Belarus'* [Agriculture climate change zoning in Belarus as part of the development of a national strategy for adaptation of agriculture to climate change in the Republic of Belarus]. Minsk: [s. n.]; 2017. 83 p. Russian.
24. Yurkevich ID, Gel'tman VS, editors. *Rastitel'nyi pokrov Belorussii (s kartoi m. 1 : 1 000 000)* [Vegetation cover of Belarus (with map scale 1 : 1 000 000)]. Minsk: Nauka i tekhnika; 1969. 176 p. Russian.
25. Dynowska M, Fiedorowicz G, Kubiak D. Contributions to the distribution of *Erysiphales* in Poland. *Acta Mycologica*. 1999; 34(1):79–88. DOI: 10.5586/am.1999.006.
26. Dubovik DV, Savchuk SS, Skuratovich AN, Sysoi IP, Chumakov LS, Yakovleva IM, et al. *Chernaya kniga flory Belarusi: chuzherodnye vredonosnye rasteniya* [Black Book of the flora of Belarus: alien harmful plants]. Parfenov VI, Pugachevskii AV, editors. Minsk: Belaruskaja navuka; 2020. 407 p. Russian.

Получена 31.10.2023 / исправлена 21.11.2023 / принята 21.11.2023.
Received 31.10.2023 / revised 21.11.2023 / accepted 21.11.2023.

УДК 575.17-595.768.11

ФЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЖИЛКОВАНИЯ КРЫЛЬЕВ В БЕЛОРУССКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ *ALTICA OLERACEA* (LINNAEUS, 1758) (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE, GALERUCINAE)

О. Л. НЕСТЕРОВА¹⁾, Н. В. ВОРОНОВА¹⁾, А. А. ДВОРНИКОВА¹⁾

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

Исследование полиморфизма жилкования перепончатых крыльев листоедов-блошек *A. oleracea* из четырех белорусских популяций показало наличие у данного вида изменчивости морфологии как главных, так и второстепенных жилок. Все изученные выборки продемонстрировали невысокий уровень внутрипопуляционного разнообразия, но значительную долю редких морф., большая часть которых оказались уникальными для каждой популяции. Выделено 28 фенов жилкования крыла (из них 15 фенов являлись общими для всех популяций) и 29 фенокмплексов (ни один из них не был общим для всех популяций). Связь между степенью флуктуирующей асимметрии жилкования крыльев в популяциях и экологическими условиями среды обитания популяции не обнаружена.

Ключевые слова: листоеды; блошки; *Altica oleracea*; Chrysomelidae; фенетика; фен; полиморфизм; жилкование крыла; популяция.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б20ЕА-051 от 6 ноября 2020 г.).

Образец цитирования:

Нестерова ОЛ, Воронова НВ, Дворникова АА. Фенетический анализ изменчивости жилкования крыльев в белорусских популяциях *Altica oleracea* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae). *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;1:54–65.
EDN: KOHPSJ

For citation:

Nesterova OL, Voronova NV, Dvornikova AA. Phenetic analysis of wing venation variability in Belarusian populations of the *Altica oleracea* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae). *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024; 1:54–65. Russian.
EDN: KOHPSJ

Авторы:

Оксана Львовна Нестерова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Нина Владимировна Воронова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Александра Александровна Дворникова – студентка биологического факультета. Научный руководитель – О. Л. Нестерова.

Authors:

Oxana L. Nesterova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

oxanesterova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3226-4388>

Nina V. Voronova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

ninavvoronova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2069-7450>

Alexandra A. Dvornikova, student at the faculty of biology.

PHENETIC ANALYSIS OF WING VENATION VARIABILITY IN BELARUSIAN POPULATIONS OF THE *ALTICA OLERACEA* (LINNAEUS, 1758) (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE, GALERUCINAE)

O. L. NESTEROVA^a, N. V. VORONOVA^a, A. A. DVORNIKOVA^a

^a*Belarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus*

Corresponding author: O. L. Nesterova (oxanesterova@gmail.com)

A study of the leaf beetles *A. oleracea* venation polymorphism of the membranous wings from four Belarusian populations showed the presence of variability in the morphology of both main and secondary veins. All studied populations demonstrated the low level of intrapopulation diversity and the large proportion of rare morphs, most of which turned out to be unique for each population. A total of 28 wing venation phenes have been identified, of which 15 phenes are common to all populations, and 29 phenocomplexes, none of which are common to all populations. There was also no connection between the degree of fluctuating asymmetry of wing venation in populations and the ecological conditions of the environment in which the population lives.

Keywords: leaf beetles; flea beetles; *Altica oleracea*; Chrysomelidae; phenetics; phene; polymorphism; wing venation; population.

Acknowledgements. The work was carried out with financial support from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. B20EA-051 dated 2020 November 6).

Введение

Фенетические исследования до настоящего времени остаются удобным и простым инструментом для популяционного анализа различных групп животных. Особенно широко данный вид исследований применим для насекомых, поскольку у них легко получить выборки большого объема.

Целью работы было изучение нескольких популяций жуков-листоедов группы земляных блошек (Alticini) методами фенетики. Жуки-листоеды (Insecta, Coleoptera, Chrysomelidae) являются одним из крупнейших семейств жесткокрылых как в мировой фауне, так и в фауне Беларуси. Они играют важнейшую роль в экосистемах как консументы первого порядка; все фазы их развития – от яйца до имаго – входят в цепи питания животных разных таксонов.

Объектом исследования выбран листоед *Altica oleracea* (Linnaeus, 1758) с транспалеарктическим типом ареала. Вид строго приурочен к кормовым растениям, поэтому его биотопическое распределение связано с местами произрастания кипрея *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., 1771. Как личинки, так и имаго питаются его листьями [1–4]. Имаго также могут подгрызать листья птичьего горца, земляники, переходя на них после выхода из куколки в июле – августе и апреле – мае до начала вегетации основного кормового растения (рис. 1).



Рис. 1. Имаго *A. oleracea*
на кормовых растениях: а – кипрей; б – земляника
Fig. 1. *A. oleracea* imago on food plants: a – fireweed; b – strawberry

Вид *A. oleracea* является бивольтинным, зимует на стадии имаго. Кроме того, он интересен флуктуирующим соотношением полов в популяциях. Нередко самки численно значительно преобладают над самцами, иногда до полного отсутствия самцов в популяции. Это позволяет предполагать наличие партеногенеза у данного вида блошек.

Для того чтобы изучить популяционную структуру *A. oleracea*, авторы исследовали особенности жилкования второй пары крыльев. Изменчивость жилкования крыльев у летающих насекомых может служить хорошим маркером внутривидовых и внутрипопуляционных группировок, а также общего состояния отдельных популяций. Жилкование крыльев исследовалось у различных, как правило крупных, видов семейства Chrysomelidae [5; 6]. В данной работе изучается вид листоедов-блошек Alticini, который имеет довольно мелкие размеры (4–5 мм) и к тому же взлетает с субстрата в прыжке. Предполагается, что при этом нагрузка на крылья получается значительно ниже, чем у других активно летающих жуков. В связи с этим изменчивость и стабильность отдельных элементов жилкования крыльев представляют особый интерес.

Материалы и методы исследования

Сбор материала для исследования осуществлялся в Минском и Воложинском районах Минской области в 2021–2022 гг. (табл. 1) с использованием стандартных энтомологических методов (кошение энтомологическим сачком, сбор эксгаустером).

Таблица 1

Объем исследуемого материала

Table 1

Volume of material being studied

Номер выборки	Расположение популяций	Дата сбора	Объем выборки, экз.
1	Минская область, Воложинский район, д. Калдыки (54,136691° с. ш., 26,413188° в. д.)	Июль 2021 г.	50
2	Минская область, Минский район, д. Колядичи (53,826591° с. ш., 27,567474° в. д.)	Июль 2022 г.	33
3	Минская область, Минский район, памятник природы республиканского значения «Дубрава» (53,834787° с. ш., 27,472911° в. д.)	Май 2022 г.	94
4	Минская область, Воложинский район, д. Калдыки (54,136691° с. ш., 26,413188° в. д.)	Июль 2022 г.	70
5	Минская область, Минский район, памятник природы республиканского значения «Дубрава» (53,834787° с. ш., 27,472911° в. д.)	Июль 2022 г.	81
6	Город Минск, лесопарк «Медвежино» (53,889983° с. ш., 27,454064° в. д.)	Август 2022 г.	49
Всего			377

Для исследования жилкования крыльев изготавливались фиксированные препараты перепончатых крыльев на предметных стеклах в глицериножелатиновой среде.

Оценка фенетического разнообразия проводилась с использованием традиционных показателей популяционной изменчивости и сходства по полиморфным признакам [7–9].

Результаты и их обсуждение

Для вида *A. oleracea*, как и для всех листоедов, характерен кантароидный тип жилкования перепончатых крыльев с упрощенной кубитально-анальной системой (рис. 2).

Выделение фенов жилкования крыла проводилось по форме жилок, их расположению, редукции отдельных продольных или поперечных жилок, разветвлению, наличию добавочных жилок и других образований на крыле (табл. 2). Всего выделено 28 фенов жилкования крыла *A. oleracea*.

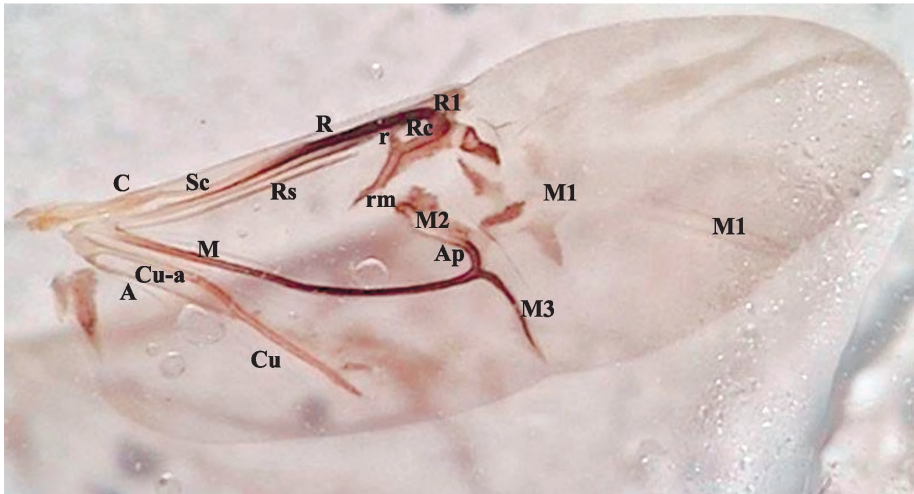


Рис. 2. Жилкование перепончатого крыла *A. oleracea*:

C – костальная жилка; Sc – субкостальная жилка; R, R1 – радиальные жилки;
Rs – сектор радиуса; M, M1, M2, M3 – медиальные жилки;
Cu – кубитальная жилка; A – анальная жилка; r – поперечная радиальная жилка;
rm – поперечная радиально-медиальная жилка;
Cu-a – кубитально-анальная ячейка; Ap – медиальная ячейка; Rc – радиальная ячейка

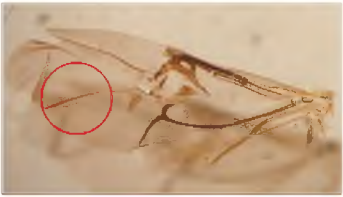
Fig. 2. Membranous wing venation of *A. oleracea*: C – costal vein; Sc – subcostal vein;
R, R1 – radial veins; Rs – sector of radius; M, M1, M2, M3 – medial veins; Cu – cubital vein;
A – anal vein; r – transverse radial vein; rm – transverse radial-medial vein;
Cu-a – cubital-anal cell; Ap – medial cell; Rc – radial cell

Таблица 2

Фены жилкования крыла *A. oleracea* и их встречаемость в выборках

Table 2

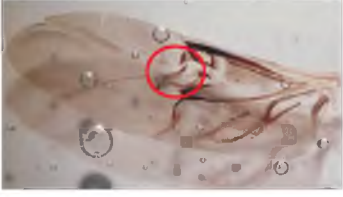
Wing venation phenes of *A. oleracea* and their frequency in samples

Фен	Расположение признака	Описание	Частота встречаемости, %, в выборке					
			№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
F1.1		Медиальная жилка M1 не выражена	8,5	1,5	18,2	18,4	21,5	12,2
F1.2		Медиальная жилка M1 хорошо склеротизирована	4,8	7,3	6,8	0,1	0	0,8
F2.1		Наличие склеротизированного участка рядом с кубитальной жилкой	0,3	8,5	0	0	0	0,3

Продолжение табл. 2
Continuation of the table 2

Фен	Расположение признака	Описание	Частота встречаемости, %, в выборке					
			№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
F2.2		Отсутствие склеротизированного участка рядом с кубитальной жилкой	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,7
F3.1		Медиальная и кубитальная жилки соприкасаются в проксимальных концах	8,8	4,2	0	2,4	0	0,8
F3.2		Медиальная и кубитальная жилки не соприкасаются в проксимальных концах	4,5	4,5	24,9	16,2	21,5	12,2
F4.1		Наличие склеротизированного участка под медиальной жилкой М3	0,3	8,5	0	0	0	0
F4.2		Отсутствие склеротизированного участка под медиальной жилкой М3	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,3
F5.1		Наличие склеротизированного участка под радиальной жилкой	0,3	8,5	0	0	0	0,5
F5.2		Отсутствие склеротизированного участка под радиальной жилкой	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5
F6.1		Наличие склеротизированного участка с наружной стороны от сектора радиуса	0	0,7	0	0	0	0,5

Продолжение табл. 2
Continuation of the table 2

Фен	Расположение признака	Описание	Частота встречаемости, %, в выборке					
			№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
F6.2		Отсутствие склеротизированного участка с наружной стороны от сектора радиуса	13,3	8,1	24,9	18,6	21,5	12,5
F7.1		Расслоение радиальной жилки	11,8	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5
F7.2		Радиальная жилка является цельной	1,5	8,5	0	0	0	0,5
F8.1		Наличие под сектором радиуса участка с сильной склеротизацией	12,1	8,1	24,9	18,6	21,5	12,5
F8.2		Наличие под сектором радиуса участка с остаточной склеротизацией	1,2	0,7	0	0	0	0,5
F9.1		Склеротизированные участки под сектором радиуса соприкасаются	0,3	8,5	0	0	0	0,5
F9.2		Склеротизированные участки под сектором радиуса не соприкасаются	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5
F10.1		Наличие выраженного отростка радиальной жилки снаружи радиальной ячейки	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5

Продолжение табл. 2
Continuation of the table 2

Фен	Расположение признака	Описание	Частота встречаемости, %, в выборке					
			№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
F10.2		Отсутствие выраженного отростка радиальной жилки снаружи радиальной ячейки	0,3	8,5	0	0	0	0,5
F11.1		Угол между медиальной жилкой и ее ответвлением M2 составляет $\approx 80^\circ$	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5
F11.2		Угол между медиальной жилкой и ее ответвлением M2 составляет $\approx 35^\circ$	0,3	8,5	0	0	0	0,5
F12.1		Наличие вытянутого отростка радиальной ячейки	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5
F12.2		Отсутствие вытянутого отростка радиальной ячейки	0,3	8,5	0	0	0	0,5
F13.1		Соотношение ширины и высоты радиальной ячейки составляет 5 : 2, соотношение длины крыла и ширины ячейки – 25 : 1	13,0	0,3	24,9	18,6	21,5	12,5
F13.2		Соотношение ширины и высоты радиальной ячейки составляет 5 : 2, соотношение длины крыла и ширины ячейки – 10 : 1	0,3	8,5	0	0	0	0,5
F14.1		Отсутствие дополнительной склеротизации рядом с кубитальной жилкой	8,4	8,5	9,8	12,2	18,0	7,7

Окончание табл. 2
Ending of the table 2

Фен	Расположение признака	Описание	Частота встречаемости, %, в выборке					
			№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
F14.2		Наличие дополнительной склеротизации рядом с кубитальной жилкой	4,9	0,3	15,1	6,4	3,5	5,3
Количество фенов в выборках			19	19	16	17	15	27

В ходе анализа частоты встречаемости фенов в исследуемых популяциях (см. табл. 2) обнаружено 15 общих фенов, из них 4 фена являются доминирующими для всех выборок, 11 фенов также обладают высокой частотой встречаемости везде, кроме выборки № 2 (д. Колядичи, Минский район). Уникальных фенов, встречающихся только в какой-либо одной популяции, не выявлено.

Анализ индивидуального сочетания фенов позволил выделить 29 фенокомплексов жилкования крыла *A. oleracea* (табл. 3).

Таблица 3

Встречаемость выделенных фенокомплексов в выборках

Table 3

The identified phenocomplexes and their frequency in the samples

Фенокомплекс	Сочетание фенов	Частота встречаемости, %, в выборке					
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Fc1	F1.2, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	6,0	1,5	0	0	0	0
Fc2	F1.2, F2.2, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	3,0	0	9,0	0,7	0	2,0
Fc3	F1.2, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	14,0	0	0	0	0	0
Fc4	F1.2, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	1,0	0	0	0	0	0
Fc5	F1.1, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	19,0	0	0	7,1	0	4,1
Fc6	F1.1, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	1,0	0	0	0	0	0
Fc7	F1.1, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	13,0	1,5	0	5,7	0	2,0
Fc8	F1.1, F2.2, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	13,0	0	30,0	58,0	84,0	47,0
Fc9	F1.1, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.2, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	2,0	0	0	0	0	0
Fc10	F1.1, F2.2, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	8,0	0	43,0	29,0	16,0	39,0
Fc11	F1.2, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	2,0	0	0	0	0	0
Fc12	F1.2, F2.2, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	4,0	0	18,0	0	0	0
Fc13	F1.2, F2.2, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	2,0	0	0	0	0	0
Fc14	F1.1, F2.2, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	2,0	0	0	0	0	0

Окончание табл. 3
Ending of the table 3

Фенокомплекс	Сочетание фенов	Частота встречаемости, %, в выборке					
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Fc15	F1.2, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.2, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	2,0	0	0	0	0	0
Fc16	F1.1, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.2, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	2,0	0	0	0	0	0
Fc17	F1.2, F2.1, F3.2, F4.1, F5.1, F6.2, F7.1, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	2,0	0	0	0	0	0
Fc18	F1.2, F2.1, F3.2, F4.1, F5.1, F6.2, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	32,0	0	0	0	0
Fc19	F1.2, F2.1, F3.1, F4.1, F5.1, F6.2, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	36,0	0	0	0	0
Fc20	F1.1, F2.1, F3.2, F4.1, F5.1, F6.1, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	1,5	0	0	0	0
Fc21	F1.1, F2.1, F3.2, F4.1, F5.1, F6.2, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	7,6	0	0	0	0
Fc22	F1.2, F2.1, F3.2, F4.1, F5.1, F6.1, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	3,0	0	0	0	0
Fc23	F1.2, F2.1, F3.2, F4.1, F5.1, F6.2, F7.2, F8.2, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	7,6	0	0	0	0
Fc24	F1.1, F2.1, F3.1, F4.1, F5.1, F6.2, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	6,1	0	0	0	0
Fc25	F1.2, F2.1, F3.1, F4.1, F5.1, F6.1, F7.2, F8.1, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	3,0	0	0	0	0
Fc26	F1.1, F2.2, F3.2, F4.2, F5.1, F6.1, F7.2, F8.2, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	0	0	0	0	2,0
Fc27	F1.2, F2.2, F3.2, F4.2, F5.1, F6.1, F7.2, F8.2, F9.1, F10.2, F11.2, F12.2, F13.2, F14.1	0	0	0	0	0	2,0
Fc28	F1.2, F2.1, F3.2, F4.2, F5.2, F6.2, F7.1, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.1	0	0	0	0	0	2,0
Fc29	F1.1, F2.2, F3.1, F4.2, F5.2, F6.2, F7.2, F8.1, F9.2, F10.1, F11.1, F12.1, F13.1, F14.2	1,0	0	0	0	0	0
Количество фенокомплексов в выборках		18	10	4	5	2	8

Анализ гетерохронных выборок, собранных в одном сезоне (выборки № 3 и 5), показал снижение изменчивости изучаемых параметров в популяции в течение сезона. Однако гетерохронные выборки одной и той же популяции второй генерации, собранные в разные годы (выборки № 1 и 4), демонстрируют также значительные различия в количестве фенокомплексов. Кроме того, популяция *A. oleracea*, вышедшая из зимовки (выборка № 3), характеризуется невысокой изменчивостью жилкования крыльев относительно таковой у остальных проанализированных популяций вида. Таким образом, на данном этапе исследования авторы не выявили какой-либо закономерности в изменении степени разнообразия жилкования крыльев в пределах популяции вида по генерациям и сезонам.

Не обнаружено ни одного общего для всех выборок фенокомплекса. Лишь 2 фенокомплекса (Fc8 и Fc10) доминируют везде, кроме выборки № 2 (д. Колядичи, Минский район), которая, в свою очередь, обладает 7 уникальными фенокомплексами.

Проанализированы гетерохронные выборки, собранные в д. Калдыки в 2021–2022 гг. (выборки № 1 и 4), а также выборки, собранные на территории памятника природы республиканского значения «Дубрава» в 2022 г. и являющиеся разными поколениями одного сезона (выборки № 3 и 5). На выборки № 1 и 4 приходится 18 фенокомплексов, из которых 5 фенокомплексов являются общими. В обеих выборках доминирует фенокомплекс Fc10. Новых фенокомплексов, не представленных в выборке предыдущего года, в выборке 2022 г. не обнаружено. На выборки № 3 и 5 приходится всего 4 фенокомплекса, из них 2 фенокомплекса являются общими, доминирующими и в большинстве остальных выборок.

Для анализируемых фенокомплексов жилкования крыла были рассчитаны показатели внутривнутрипопуляционного разнообразия (μ) и доли редких морф (h), а также ошибки показателей внутривнутрипопуляционного разнообразия ($S\mu$) и доли редких морф (Sh), позволяющие оценить степень и структуру этого разнообразия.

Самым высоким показателем внутривнутрипопуляционного разнообразия обладает выборка № 1, собранная в д. Калдыки в 2021 г., самым низким – выборка № 5, собранная на территории памятника природы республиканского значения «Дубрава». Наибольшей долей редких морф характеризуется выборка № 6 из лесопарка «Медвежино», наименьшей – выборка № 3 с территории памятника природы республиканского значения «Дубрава» (табл. 4).

Таблица 4

Значения показателей внутривнутрипопуляционного разнообразия выборок *A. oleracea* по жилкованию перепончатого крыла

Table 4

Intrapopulation diversity of *A. oleracea* samples by membranous wing venation

Номер выборки	$\mu \pm S\mu$	$h \pm Sh$
1	$14,47 \pm 0,71$	$0,20 \pm 0,04$
2	$7,17 \pm 0,55$	$0,28 \pm 0,06$
3	$3,72 \pm 0,07$	$0,07 \pm 0,02$
4	$3,57 \pm 0,19$	$0,29 \pm 0,04$
5	$1,73 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,03$
6	$4,93 \pm 0,39$	$0,38 \pm 0,05$

В целом популяции демонстрируют невысокий уровень внутривнутрипопуляционного разнообразия, но большую долю уникальных для каждой из них морф.

Исследуемые выборки популяций *A. oleracea* сравнивались между собой по частотам вариаций каждого анализируемого фенокомплекса с использованием показателя попарного сходства (r) (табл. 5).

Таблица 5

Результаты попарного сравнения популяций

Table 5

The results of pairwise comparison of populations

Сравниваемые выборки	Показатель попарного сходства (r)					
	Выборка № 1	Выборка № 2	Выборка № 3	Выборка № 4	Выборка № 5	Выборка № 6
Выборка № 1	–	0,02	0,08	0,12	0,12	0,10
Выборка № 2	0,02	–	0	0,01	0	0,000 3
Выборка № 3	0,08	0	–	0,29	0,32	0,31
Выборка № 4	0,12	0,01	0,29	–	0,53	0,39
Выборка № 5	0,12	0	0,32	0,53	–	0,46
Выборка № 6	0,10	0,000 3	0,31	0,39	0,46	–

Наибольшим сходством обладают выборки № 4 и 5, собранные в один год, но в разных локациях. Наименьшим сходством характеризуются выборки № 2 и 6 и выборки № 2 и 4, которые были собраны в разных локациях и в разные годы. Выборки № 2 и 3 и выборки № 2 и 5 вообще не имеют ничего общего. В результате попарного сравнения популяций можно заметить, что наименьшим сходством или отсутствием сходства с другими выборками обладает выборка № 2.

При анализе половой структуры популяций были определены доля самок и самцов в каждой из них, количество фенокомплексов, встречающихся отдельно у самок и самцов, а также количество общих фенокомплексов (табл. 6). В большинстве случаев численность самок значительно превосходит численность самцов. Кроме того, самки отличаются большей вариабельностью анализируемых признаков, чем самцы.

Таблица 6

Половая структура популяций и распределение фенокомплексов по полу

Table 6

The sex structure of populations and distribution of phenocomplexes by sex

Номер выборки	Доля самок, %	Доля самцов, %	Количество фенокомплексов самок	Количество фенокомплексов самцов	Количество общих фенокомплексов
1	78	22	17	9	8
2	36	64	7	7	3
3	99	1	4	1	1
4	91	9	5	3	3
5	84	16	2	2	2
6	90	10	7	2	1

Проанализировано соотношение полов в гетерохронных выборках. Так, в популяции, обитающей на территории памятника природы республиканского значения «Дубрава», в выборке зимовавшего поколения (выборка № 3) доля самцов существенно меньше, чем в выборке новой генерации (выборка № 5). Это говорит о низкой выживаемости самцов в течение зимовки. Однако при сравнении полового соотношения в выборках одной и той же генерации, но разных лет (д. Калдыки, выборки № 1 и 4) доля самцов может значительно колебаться.

В проанализированных выборках у самок имеются уникальные фенокомплексы, у самцов обнаружены единичные уникальные морфы (выборки № 1 и 6). Все остальные фенокомплексы являются общими для обоих полов в пределах каждой популяции.

Исключение составляет выборка новой генерации популяции из д. Колядичи (выборка № 2). Численность самцов здесь вдвое превышает численность самок. Кроме того, в этой популяции и у самцов, и у самок выявлены уникальные фенокомплексы.

Анализ изменчивости жилкования крыльев *A. oleracea* позволил обнаружить явление флуктуирующей асимметрии (табл. 7), характеризующееся явными отклонениями от билатеральной симметрии. Показатель асимметрии указывает на наличие в среде обитания живых организмов негативного фактора.

Таблица 7

Флуктуирующая асимметрия
жилкования крыльев *A. oleracea*

Table 7

Fluctuating asymmetry
of wing venation of *A. oleracea*

Номер выборки	Доля асимметричных особей, %
1	20,0
2	9,09
3	18,08
4	18,57
5	6,17
6	0

Самой высокой доля жуков с асимметрией жилкования крыльев была в гетерохронных выборках популяции из д. Калдыки. Сбор блошек производился в одном и том же месте, которое представляет собой густые заросли кипрея на лугу, не подверженном антропогенному воздействию. В популяции из лесопарка «Медвежино», расположенного в черте г. Минска, явление флуктуирующей асимметрии жилкования крыльев не установлено, что говорит о благоприятности среды обитания данной популяции. Сбор блошек проводился на окраине парка в нескольких метрах от автомобильной дороги. Какой-либо корреляции между уровнем морфологической асимметрии в популяциях и качеством их мест обитания выявить не удалось.

Заклучение

Таким образом, анализ особенностей жилкования перепончатых крыльев листоедов-блошек *A. ole-racea* из разных популяций показал наличие у данного вида изменчивости морфологии как главных, так и второстепенных жилок. Исследование полиморфизма вида по этому признаку позволило выделить ряд фенотипов и фенок комплексов, дающих возможность анализировать фенотипическую структуру отдельных популяций. Все изученные выборки продемонстрировали невысокий уровень внутривидового разнообразия, но значительную долю редких морф, большая часть которых оказались уникальными для каждой популяции. Связь между степенью флуктуирующей асимметрии жилкования крыльев в популяциях и экологическими условиями среды обитания популяции не обнаружена.

Библиографические ссылки

1. Нестерова ОЛ. Таксономическое разнообразие листоедов (Coleoptera, Chrysomelidae) фауны Беларуси. *Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География*. 2002;3:23–26.
2. Нестерова ОЛ. Трофическая специализация жуков-листоедов (Coleoptera, Chrysomelidae) фауны Беларуси. *Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География*. 2003;1:104–106.
3. Лопатин ИК, Нестерова ОЛ. *Насекомые Беларуси: листоеды (Coleoptera, Chrysomelidae) = Insecta of Belarus: leaf beetles (Coleoptera, Chrysomelidae)*. Минск: Технопринт; 2005. 294 с.
4. Нестерова ОЛ. Фауна листоедов-блошек (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae, Alticini) Беларуси. *Труды Белорусского государственного университета*. 2015;10(часть 1):345–358.
5. Круглова ОЮ, Ермоленко АВ. Фенетический анализ изменчивости морфометрических признаков и жилкования крыльев в популяциях лапландского листоеда (*Chrysomela lapponica*). В: Пахомов АЕ, Бригадиренко ВВ, Гайченко ВА, Гассо ВЯ, Дворецкий АН, Ивашов АВ и др., редакторы. *Биоразнообразие и роль животных в экосистемах. Материалы IV Международной научной конференции; 9–12 октября 2007 г.; Днепропетровск, Украина*. Днепропетровск: Издательство Днепропетровского национального университета; 2007. с. 267–269.
6. Милишев ОЮ. Фенетический анализ жилкования крыльев *Chrysomela populi* L. (Coleoptera, Chrysomelidae). *Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География*. 1998;3:34–39.
7. Животовский ЛА. Показатель сходства популяций по полиморфным признакам. *Журнал общей биологии*. 1979;40(4):587–602.
8. Животовский ЛА. Показатели популяционной изменчивости по полиморфным признакам. В: Яблоков АВ, редактор. *Фенетика популяций*. Москва: Наука; 1982. с. 38–44.
9. Животовский ЛА. *Популяционная биометрия*. Глотов НВ, редактор. Москва: Наука; 1991. 271 с.

References

1. Nesterova OL. The taxonomic diversity of Belarus leaf beetles (Coleoptera, Chrysomelidae) fauna. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2002;3:23–26. Russian.
2. Nesterova OL. The trophic speciality of the leaf beetles (Coleoptera, Chrysomelidae) of Belarus fauna. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2003;1:104–106. Russian.
3. Lopatin IK, Nesterova OL. *Insecta of Belarus: leaf beetles (Coleoptera, Chrysomelidae)*. Minsk: Tekhnoprint; 2005. 294 p. Russian.
4. Nesterova OL. The flea beetles fauna (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae, Alticini) of Belarus. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2015;10(part 1):345–358. Russian.
5. Kruglova OY, Ermolenko AV. Phenetic analysis of the morphometric indices and nervuration of *Chrysomela lapponica* populations. In: Pakhomov AE, Brigadirenko VV, Gaichenko VA, Gasso VYa, Dvoretzskii AN, Ivashov AV, et al., editors. *Bioraznoolibrazie i rol' zhyvotnykh v ehkosistemakh. Materialy IV Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii; 9–12 oktyabrya 2007 g.; Dnepropetrovsk, Ukraina* [Biodiversity and role of animals in ecosystems. Materials of the 4th International scientific conference; 2007 October 9–12; Dnipropetrovsk, Ukraine]. Dnipropetrovsk: Publishing House of the Dnipropetrovsk National University; 2007. p. 267–269. Russian.
6. Milyashevich OYu. [Phenetic analysis of wing venation of *Chrysomela populi* L. (Coleoptera, Chrysomelidae)]. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 1998;3:34–39. Russian.
7. Zhivotovsky LA. [Indicator of similarity of populations by polymorphic traits]. *Zhurnal obshchei biologii*. 1979;40(4):587–602. Russian.
8. Zhivotovsky LA. [Indicators of population variability based on polymorphic traits]. In: Yablokov AV, editor. *Fenetika populyatsii* [Population phonetics]. Moscow: Nauka; 1982. p. 38–44. Russian.
9. Zhivotovsky LA. *Populyatsionnaya biometriya* [Population biometry]. Glotov NV, editor. Moscow: Nauka; 1991. 271 p. Russian.

Экология и природопользование

ECOLOGY AND CONSERVANCY

УДК 574.58

БАЗА ДАННЫХ ГИДРОЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА НАРОЧАНСКИХ ОЗЕР (БЕЛАРУСЬ)

Б. В. АДАМОВИЧ¹⁾, Т. М. МИХЕЕВА¹⁾, Р. З. КОВАЛЕВСКАЯ¹⁾,
Т. В. ЖУКОВА¹⁾, Н. В. ДУБКО¹⁾, Л. В. НИКИТИНА¹⁾,
О. А. МАКАРЕВИЧ¹⁾, Т. А. МАКАРЕВИЧ¹⁾, И. В. САВИЧ¹⁾,
Ю. К. ВЕРЕС¹⁾, И. Н. СЕЛИВОНЧИК¹⁾, Д. В. КРЮК¹⁾

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

Гидроэкологические исследования Нарочанских озер занимают особое место в системе мониторинга водных объектов. С 1978 г. сотрудники научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии и Нарочанской биологической станции имени Г. Г. Винберга биологического факультета БГУ по единой программе проводят круглогодичный мониторинг озер Нарочь, Мясстро и Баторино, расположенных на северо-западе Беларуси. В статье представлено описание базы данных, составленной на основе разрозненных электронных и печатных материалов научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии и Нарочанской биологической станции имени Г. Г. Винберга в рамках выполнения серии научных проектов. База данных состоит из восьми таблиц: «Гидрохимия», «Температура и кислород», «Фитопланктон (интегральные пробы)», «Фитопланктон (вертикали)», «Зоопланктон», «Зообентос», «Бактериопланктон», «Первичная продукция». Каждая строка в базе данных имеет обязательные общие атрибуты, позволяющие совмещать значения показателей из всех таблиц по конкретному отбору проб. База данных дает возможность проводить быстрый и глубокий анализ взаимосвязей основных гидроэкологических показателей озер. Длительные ряды наблюдений, включающие большое количество параметров, позволяют изучать долговременные тенденции в изменении экосистем озер, обусловленные климатическими и антропогенными факторами.

Ключевые слова: Нарочанские озера; мониторинг; база данных; температура; гидрохимические показатели; фитопланктон; зоопланктон; бактериопланктон; макрозообентос; первичная продукция; аэробная деструкция.

Образец цитирования:

Адамович БВ, Михеева ТМ, Ковалевская РЗ, Жукова ТВ, Дубко НВ, Никитина ЛВ, Макаревич ОА, Макаревич ТА, Савич ИВ, Верес ЮК, Селивончик ИН, Крюк ДВ. База данных гидроэкологического мониторинга Нарочанских озер (Беларусь). *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024; 1:66–76.
EDN: OLRXIZ

For citation:

Adamovich BV, Mikheeva TM, Kovalevskaya RZ, Zhukova TV, Dubko NV, Nikitina LV, Makarevich OA, Makarevich TA, Savich IV, Veres YuK, Selivonchik IN, Kruk DV. The database of hydroecological monitoring of the Narochanskie lakes (Belarus). *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024; 1:66–76. Russian.
EDN: OLRXIZ

Сведения об авторах см. на с. 76

Information about the authors see p. 76

Благодарность. Финансовая поддержка некоторых стадий мониторинговых наблюдений осуществлялась в рамках грантов Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, Министерства образования Республики Беларусь, Российского научного фонда. Авторы выражают благодарность всем сотрудникам научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии и Нарочанской биологической станции имени Г. Г. Винберга биологического факультета БГУ, которые в разные годы участвовали в сборе и обработке материала, а также начальнику научного отдела Национального парка «Нарочанский» А. А. Новикову за помощь в создании карты водосбора Нарочанских озер.

THE DATABASE OF HYDROECOLOGICAL MONITORING OF THE NAROCHANSKIE LAKES (BELARUS)

*B. V. ADAMOVICH^a, T. M. MIKHEEVA^a, R. Z. KOVALEVSKAYA^a,
T. V. ZHUKOVA^a, N. V. DUBKO^a, L. V. NIKITINA^a, O. A. MAKAREVICH^a,
T. A. MAKAREVICH^a, I. V. SAVICH^a, Yu. K. VERES^a,
I. N. SELIVONCHIK^a, D. V. KRUK^a*

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

Corresponding author: B. V. Adamovich (belaqualab@gmail.com)

The hydroecological monitoring of the Narochanskies lakes hold a special place in the system of monitoring of water bodies. Since 1978, researchers from the laboratory of hydroecology and the Naroch Biological Station named after G. G. Vinberg of the faculty of biology of the Belarusian State University have been conducting year-round monitoring of the Naroch, Myastro and Batorino lakes located in northwestern Belarus. This paper presents a description of an hydroecological database compiled from scattered electronic and printed materials from the laboratory of hydroecology and the Naroch Biological Station named after G. G. Vinberg as part of a series of scientific projects. The database consists of eight tables: «Hydrochemistry», «Temperature and oxygen», «Phytoplankton (integrated samples)», «Phytoplankton (samples by layers)», «Zooplankton», «Zoobenthos», «Bacterioplankton», «Primary production». Each row in the database has the necessary attributes, allowing data from all tables to be combined for each specific sample collection. The database allows for a quick and in-depth analysis of the relationships between the main hydroecological parameters of the lakes. Long-term observation series with a large number of parameters make it possible to analyse long-term trends in changes of lake's ecosystems caused by climatic and anthropogenic factors.

Keywords: Narochanskies lakes; monitoring; database; temperature; hydrochemical parameters; phytoplankton; zooplankton; bacterioplankton; macrozoobenthos; primary production; aerobic decomposition.

Acknowledgements. Financial support for some stages of monitoring observations was provided through grants from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, the Ministry of Education of the Republic of Belarus, the Russian Science Foundation. The authors thank the staff of the laboratory of hydroecology and the Naroch Biological Station named after G. G. Vinberg of the faculty of biology of the Belarusian State University who participated in the collection and processing of material in different years, as well as the head of the scientific department of the National Park «Narochansky» A. A. Novikov for assistance in creating a watershed map of the Narochanskies lakes.

Введение

Гидроэкологические исследования Нарочанских озер занимают особое место как в системе мониторинга водных объектов Беларуси, так и в водной экологии в целом. Такое особое место в огромном массиве данных о состоянии водных объектов объясняется прежде всего двумя факторами:

- длительностью проведения регулярных наблюдений;
- количеством гидробиологических показателей, включенных в программу наблюдений.

Оба этих фактора связаны с организацией на берегу оз. Нарочь в 1946 г. полевого биологического стационара – Нарочанской биологической станции БГУ. Идея создания биологической станции в университете принадлежит выдающемуся океанологу Л. А. Зенкевичу. Летом 1946 г. состоялась первая, рекогносцировочная экспедиция на Нарочанские озера с участием студентов. Для дальнейшего детального изучения были выбраны три озера – Нарочь, Мястро и Баторино. Как показали последующие исследования, выбор этих озер, объединенных в одну систему, оказался чрезвычайно удачным для изучения широкого круга фундаментальных и прикладных проблем лимнологии [1]. В 1947 г. приглашение на работу в БГУ принял выдающийся советский гидробиолог, основатель школы продукционной биологии Г. Г. Винберг. С этого времени вся история гидробиологии в Беларуси (включая мониторинг Нарочанских озер) была неразрывно связана с именем Г. Г. Винберга. В 1965 г. по его инициативе организована

научно-исследовательская лаборатория (НИЛ) гидроэкологии биологического факультета БГУ. Стоит отметить, что НИЛ гидроэкологии и Нарочанская биологическая станция (в 2006 г. ей присвоено имя Г. Г. Винберга) представляют собой единый комплекс, научными исследованиями в котором в течение многих лет (с 1967 по 2012 г.) руководил член-корреспондент НАН Беларуси А. П. Остапеня.

В 1999 г. оз. Нарочь становится ключевым элементом созданного под эгидой государства Национального парка «Нарочанский», на территории которого находятся 37 сельских населенных пунктов и 2 городских поселения с общей численностью жителей около 15 тыс. человек. В настоящее время на берегах озер располагается большое количество санаториев, пансионатов, кемпингов, агроусадьб и т. п. В год Нарочанский регион посещают 100–120 тыс. туристов как из Беларуси, так и из-за рубежа. Водные объекты парка активно используются ими для занятия спортивной рыбалкой, лодочным и парусным спортом, а также других видов отдыха.

С 1978 г. по единой программе осуществляется круглогодичный мониторинг озер Нарочь, Мясстро и Баторино. Начиная с 1999 г. материалы мониторинговых наблюдений и проводимых исследований публикуются в ежегодном издании «Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино»¹. В нем отражаются современное состояние экосистем озер и наблюдаемые тенденции в его изменении. На данный момент вышло 20 выпусков издания.

При изучении и мониторинге водных экосистем можно выделить три основных блока данных, характеризующих водный объект:

- гидрологические и геоморфологические особенности водного объекта (характер подстилающих грунтов, объем водной массы, геоморфология водной чаши или русла, скорость водообмена и т. д.);
- гидрохимические и гидрофизические показатели;
- гидробиологические показатели.

Учитывая хорошую изученность геоморфологических особенностей озер Беларуси [2], а также тот факт, что изменения этих показателей во времени происходят с невысокой скоростью, можно использовать имеющиеся в литературе характеристики геоморфологии и гидрологии озер. Два других блока данных – гидробиологические показатели и гидрохимические и гидрофизические показатели – более динамичны. Кроме того, именно они отражают текущее состояние, а также тенденцию развития (включая антропогенное трансформирование) водной экосистемы.

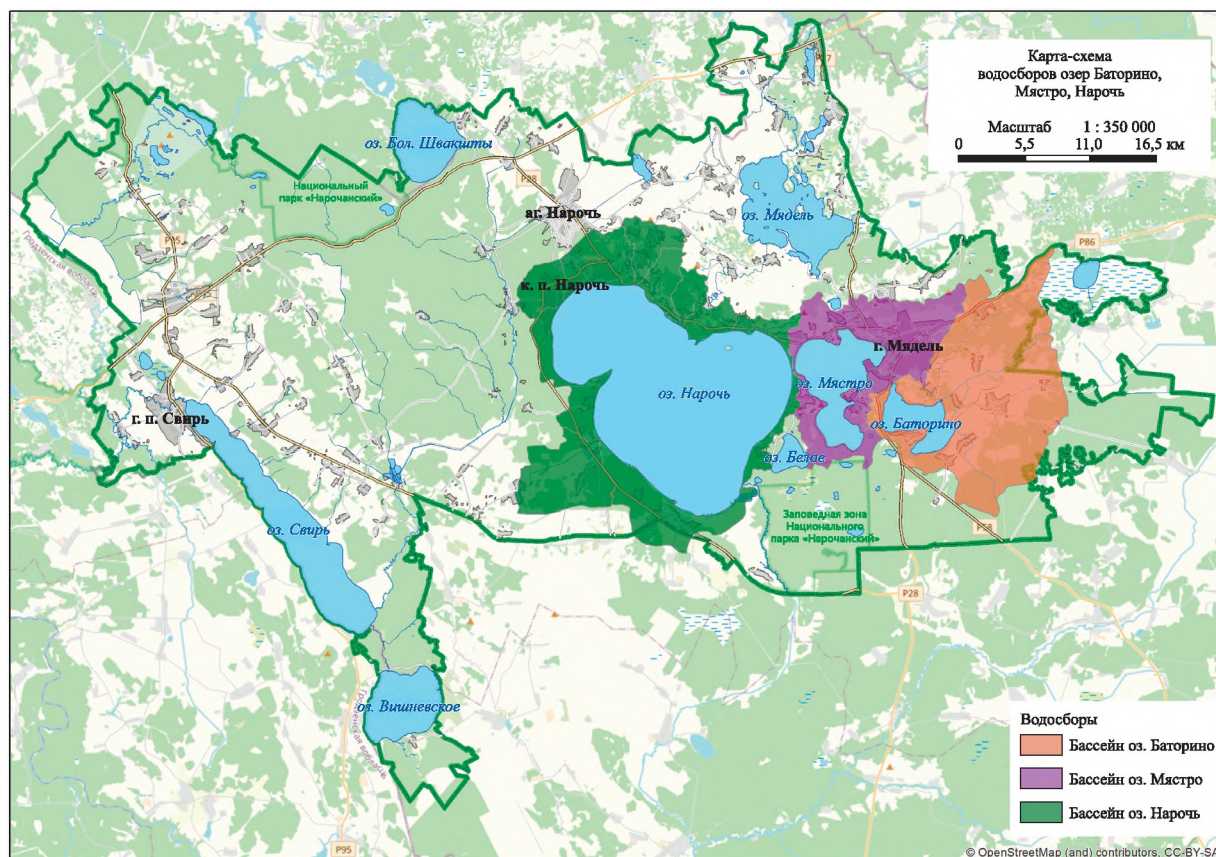
В настоящей работе представлено описание базы данных, составленной на основе разрозненных электронных и печатных материалов НИЛ гидроэкологии и Нарочанской биологической станции имени Г. Г. Винберга в рамках выполнения серии научных проектов, в том числе проекта 061/51 «Оценка гидроэкологического режима и анализ современного экологического состояния озер НП «Нарочанский»» (№ гос. регистрации 20164692), проекта 274/51 «Проведение гидроэкологических исследований в целях разработки мероприятий по устойчивому использованию биоресурсов озера Нарочь, предотвращению их деградации и повышению рекреационной привлекательности водоема» (№ гос. регистрации 20192986), проекта Б18-087 «Многолетние изменения показателей авто- и гетеротрофного бактериопланктона, их связь с трофическим статусом водного объекта и климатическими факторами» (№ гос. регистрации 20181136), проекта Б20ИЗРГ-003 «Формирование новых подходов в оценке и рациональном управлении водными социально-экологическими системами» (№ гос. регистрации 20200681), проекта Б20У-003 «Современный трофический статус водоемов и водотоков Беларуси и его связь с другими экологическими параметрами» (№ гос. регистрации 20201249), проекта 010/51 «Проведение гидроэкологических исследований в целях разработки мероприятий по устойчивому управлению рыбными ресурсами крупных хозяйственно значимых озер Нарочанского региона» (№ гос. регистрации 20220107), проекта 2.01.03 «Роль кремния в стехиометрическом балансе, формировании биологической продуктивности, трофического статуса и биоразнообразия озерных экосистем» (№ гос. регистрации 20212317), проекта 23-24-00408 «Новый подход к исследованию динамики планктонных сообществ, предполагающий непосредственное включение данных мониторинга озерной экосистемы в математическую модель» (№ гос. регистрации 123020800132-6). База регулярно пополняется новыми данными, полученными в ходе продолжающихся в настоящее время мониторинговых наблюдений.

Район исследований

Система озер Нарочь – Мясстро – Баторино расположена в Национальном парке «Нарочанский» на северо-западе Беларуси (см. рисунок). Всего на территории парка находится 48 озер, которые занимают 19 % его площади и являются структурообразующим элементом парка [3].

¹Бюллетень экологического состояния озер Нарочь, Мясстро, Баторино / Белорус. гос. ун-т [и др.]; под общ. ред. А. П. Остапени, Т. М. Михеевой. Минск : БГУ, 2003–2021.

Озеро Баторино – верхнее в цепочке озер – является водоприемником мелиоративных систем. Озеро Мястро – среднее в цепочке озер – связано протоками с озерами Баторино, Скрипово, Шестаково и Нарочь. Приток воды в оз. Нарочь осуществляется из оз. Мястро по р. Скеме, а также по 17 ручьям, наиболее крупными из которых являются ручей Неслучь (мелиоративный объект «Проньки») и ручьи без названия в районе деревень Антонинсберг, Симоны, Черевки. Сток из озера идет по р. Нарочи.



Расположение и водосборные территории Нарочанских озер
Location of the Narochanskie lakes and it's drainage area

Нарочанские озера отличаются по трофическому статусу [4] и ряду морфометрических показателей, основные из которых представлены в таблице.

Основные характеристики Нарочанских озер
Main characteristics of the Narochanskie lakes

Показатели	Нарочь	Мястро	Баторино
Площадь водного зеркала, км ²	79,6	13,1	6,3
Объем водной массы, млн м ³	710,4	70,0	18,7
Средняя глубина, м	8,9	5,4	3,0
Максимальная глубина, м	24,8	11,3	5,5
Длина береговой линии, км	40,0	20,2	15,0
Коэффициент изрезанности	1,27	1,88	—
Показатель глубинности	2,07	2,29	1,62
Показатель открытости	8,8	2,4	2,1
Условный водообмен	0,14	0,43	0,88
Тип перемешивания	Полимиктический		
Площадь общего водосбора, км ²	279,0	133,1	92,5

Окончание таблицы
Ending of the table

Показатели	Нарочь	Мястро	Баторино
Площадь частного водосбора без учета акватории, км ²	58,8	34,6	86,2
Структура водосбора, % от площади:			
леса и луга	55,5	25,0	25,0
болота	2,0	10,0	19,0
сельхозугодья и приусадебные участки	31,5	18,0	39,0
Отношение площади частного водосбора к площади озера	0,74	2,64	13,69
Приходная часть водного баланса, млн м ³ в год	95,58	30,28	16,43
В том числе:			
атмосферные осадки на акваторию, %	58,5	32,0	29,9
сток из верхнего озера, %	24,6	41,7	0
боковая приточность, %	8,8	18,1	70,1
приток подземных вод, %	8,1	8,2	–
Расходная часть водного баланса, млн м ³ в год	95,98	30,81	16,01
В том числе:			
речной сток, %	54,4	76,5	78,8
испарение, %	45,6	23,5	21,2
Невязка водного баланса, %	0,4	1,7	2,6
Время водообмена, лет	10,0–11,0	2,5	1,0
Трофический статус	Олигомезотрофный	Мезотрофный	Эвтрофный

Источники: [2; 3; 5–7].

Озера Нарочь, Мястро и Баторино объединены протоками в единую экосистему Нарочанских озер, которая принадлежит системе р. Нарочи (бассейн р. Неман). Площадь общего водосбора составляет около 279 км², из них на долю акваторий озер приходится 35 %. На побережье оз. Нарочь имеется 12 рекреационных учреждений с суммарным количеством отдыхающих 120–130 тыс. человек в год.

Отбор проб

Отбор проб воды проводят с помощью батометра Рутнера в глубоководной зоне на станциях постоянных наблюдений в малом (54° 53' 8,905" с. ш., 26° 43' 13,448" в. д.) и большом (54° 51' 9,867" с. ш., 26° 46' 45,725" в. д.) плесах оз. Нарочь, в оз. Мястро (54° 52' 0,464" с. ш., 26° 52' 50,951" в. д.) и оз. Баторино (54° 50' 47,016" с. ш., 26° 58' 4,313" в. д.). Пробы воды в оз. Нарочь отбирают на шести горизонтах (0,5; 3,0; 6,0; 8,0; 12,0 и 16,0 м), в оз. Мястро – на четырех горизонтах (0,5; 4,0; 7,0 и 9,0 м), в оз. Баторино – на трех горизонтах (0,5; 3,0 и 5,0 м). Для получения интегральной пробы воду со всех горизонтов смешивают. Объем воды каждого горизонта в интегральной пробе пропорционален доле, которую составляет слой в общем объеме озера в соответствии с данными батиметрии. На этих же глубинах измеряют температуру воды. Отбор проб проводят 1–3 раза в месяц во время вегетационного сезона. В зависимости от погодных условий первый отбор проб выполняют в апреле или мае, последний – в октябре или ноябре. Также регулярно проводят отбор воды со льда в зимний период.

Работа с данными

Первичные данные из полевых дневников и лабораторных журналов, внесенные в различные варианты цифровых документов (*Microsoft Excel, Word, Access*), были унифицированы и сведены в таблицы формата CSV. Данные, имеющиеся только на бумажных носителях, были предварительно оцифрованы и также внесены в общую базу. Унификацию данных проводили в программной среде R [8] с помощью базовых пакетов, а также пакетов *reshape2*, *doBy* и *dplyr*.

Характеристика базы данных и методика лабораторного анализа проб

База данных гидроэкологического мониторинга Нарочанских озер состоит из восьми таблиц, которым присвоены следующие названия: «Гидрохимия», «Температура и кислород», «Фитопланктон (интегральные пробы)», «Фитопланктон (вертикали)», «Зоопланктон», «Зообентос», «Бактериопланктон»,

«Первичная продукция». Каждая строка в базе данных, помимо описанных ниже атрибутов, уникальных для каждой таблицы, имеет обязательные общие атрибуты (дата, озеро и станция отбора пробы), что позволяет совмещать данные из всех таблиц по конкретному отбору проб.

Таблица «Гидрохимия». Каждая строка в таблице соответствует отдельному отбору проб и имеет следующие атрибуты: 1) прозрачность по диску Секки (SD), м; 2) содержание взвешенного вещества (сестона (S)), мг/л, на фильтрах с диаметром пор 1,5 мкм; 3) содержание сестона, мг/л, на фильтрах с диаметром пор 0,4 мкм; 4) содержание золы, %, в сестоне на фильтрах с диаметром пор 1,5 мкм; 5) биохимическое потребление кислорода за 1 сут (БПК₁), мг/л; 5) биохимическое потребление кислорода за 5 сут (БПК₅), мг/л; 6) содержание общего органического углерода, мг/л; 7) содержание растворенного органического углерода, мг/л; 8) содержание взвешенного органического углерода, мг/л; 9) содержание общего азота, мг/л; 10) содержание суммарного минерального азота, мг/л; 10) содержание аммонийного азота, мг/л; 11) содержание нитратного азота, мг/л; 12) содержание нитритного азота, мг/л; 13) содержание общего фосфора, мг/л; 14) содержание фосфора фосфатов, мг/л; 15) содержание хлорофилла *a*, мкг/л, на фильтрах с диаметром пор 1,5 мкм; 16) содержание хлорофилла *a*, мкг/л, на фильтрах с диаметром пор 0,4 мкм; 17) значение водородного показателя (pH); 18) электропроводность, мкСм/см; 19) содержание растворенного кремния, мг/л.

Прозрачность воды определяют по белому диску Секки диаметром 30 см. Содержание взвешенного вещества измеряют гравиметрическим методом на мембранных фильтрах. На этих же фильтрах во взвеси определяют содержание хлорофилла *a* без поправки на присутствие феопигментов. Анализ проводят спектрофотометрическим методом с экстракцией пигментов в 90 % ацетоне [9; 10]. Зольность устанавливают по потере массы при прокаливании фильтров при температуре 600 °С. Скорость биохимического потребления кислорода определяют по убыли растворенного в воде кислорода при инкубации озерной воды в темноте при температуре 20 °С. Общее содержание органического углерода измеряют методом бихроматной окисляемости выпаренных на водяной бане проб воды с применением пересчетного коэффициента на углерод, равного 0,375 [11; 12]. Растворенную фракцию органического углерода определяют в фильтрованной воде (используется фильтрат от мембранных фильтров с диаметром пор 1,5 мкм). Взвешенный органический углерод рассчитывают по зольности сестона, принимая, что содержание углерода в органическом веществе составляет 50 % [13]. В случае определения только одной фракции органического углерода вторую фракцию рассчитывают как разницу между его общим содержанием и другой фракцией. Общее содержание азота измеряют после минерализации нефильтрированной воды по методу Кьельдаля или окисления проб с персульфатом калия в автоклаве. Минеральные формы азота определяют в фильтрованной воде фотоколориметрическими методами (аммонийный азот с реактивом Несслера, нитратный азот с салицилатом натрия либо реактивом Грисса после восстановления на медно-кадмиевой колонке, нитритный азот с реактивом Грисса). Общее содержание фосфора измеряют после минерализации нефильтрированной воды с персульфатом калия в кислой среде на водяной бане. Содержание фосфора фосфатов определяют со смешанным молибденовым реактивом и аскорбиновой кислотой в качестве восстановителя [14–16]. Активную реакцию среды (показатель pH) и электропроводность измеряют иономером и кондуктометром. Содержание растворенного кремния определяют методом, основанным на образовании желтого кремнемолибденового комплекса при взаимодействии молибденовокислого аммония и растворенных кремниевых соединений в кислой среде [17]. Данные о содержании взвешенного вещества и хлорофилла *a* в воде добавлены в таблицу «Гидрохимия», несмотря на то что эти показатели, по сути, являются гидробиологическими. Однако при их определении применяются инструментальные методики, и, следовательно, эти данные хорошо вписываются в таблицу гидрохимических показателей.

В таблице приводятся результаты анализа интегральных проб (см. раздел «Отбор проб»). В ней присутствуют отдельные данные с 1948 г., однако основной массив наблюдений представлен данными с 1978 г. С этого года проводятся регулярные (не реже 1 раза в месяц) наблюдения в течение вегетационного сезона (май – октябрь) и в подледный период. В отдельные годы присутствуют данные за другие месяцы. В данных есть незначительные промежутки, если по каким-либо причинам отбор или обработка проб не были проведены. Данные о содержании сестона на фильтрах с диаметром пор 0,4 мкм имеются с 2010 г., данные об электропроводности – с 2008 г. Данные о содержании в воде кремния впервые были внесены в базу в 2020 г.

Таблица «Температура и кислород». Каждая строка в таблице соответствует отдельному отбору проб. В таблице имеются следующие атрибуты: 1) температура воды, °С; 2) содержание кислорода, мг/л; 3) насыщение воды кислородом, %.

Температуру воды измеряют с использованием глубоководного термометра. Содержание растворенного в воде кислорода определяют методом Винклера [14; 15] либо с помощью оптического оксиметра

Orion Star (*Thermo Scientific*, США). Насыщение воды кислородом рассчитывают исходя из его концентрации и температуры воды. В таблицу включен атрибут глубины, так как температуру воды и содержание кислорода измеряют отдельно на каждом горизонте.

В таблице присутствуют данные с 1955 г. Начиная с 1978 г. проводятся регулярные наблюдения в течение вегетационного сезона и в подледный период. В данных имеются незначительные промежутки, если по каким-либо причинам отбор или обработка проб не были проведены.

Таблица «Фитопланктон (интегральные пробы)». Каждая строка в таблице представляет собой регистрацию вида (или таксона, до которого удалось определить представителя фитопланктона). В таблице имеются следующие атрибуты: 1) название вида; 2) вес одной клетки, 10^{-10} г; 3) длина, ширина и высота клетки, мкм; 4) отдел водорослей в соответствии с систематикой, представленной в издании «Альгофлора Беларуси. Таксономический каталог» [18]; 5) численность клеток вида в пробе, млн/л; 6) численность организмов вида в пробе, млн/л; 7) биомасса вида в пробе, мг/л; 8) общая численность клеток фитопланктона в пробе, млн/л; 9) общая численность организмов фитопланктона в пробе, млн/л; 10) общая биомасса фитопланктона в пробе, мг/л; 11) вклад вида в общую численность клеток фитопланктона в пробе, %; 12) вклад вида в общую численность организмов фитопланктона в пробе, %; 13) вклад вида в общую биомассу фитопланктона в пробе, %.

Фиксацию проб фитопланктона проводят раствором Утермея в модификации Михеевой [19]. В лабораторных условиях пробы отстаивают в затемненном месте не менее 7 сут. Затем их концентрируют до 100–150 мл, аккуратно сливая верхний слой с использованием резинового сифона, затянутого на конце двухслойным мельничным шелковым ситом со стороной ячей 55–60 мкм, и переливают в планктонные склянки, в которых продолжают отстаивание в течение 2–3 сут. После этого с помощью медицинского шприца с тонкой виниловой трубкой на конце отсасывают воду, доводя объем пробы до 15–30 мл (в зависимости от густоты осадка). Качественный и количественный анализ фитопланктонных проб проводят с применением светового микроскопа. Для подсчета мелких представителей фитопланктона используют камеру Фукса – Розенталя объемом 3,2 мм³. Подсчет крупных представителей фитопланктона (роды *Ceratium*, *Asterionella*, *Melosira*, *Aulacoseira*, *Tabellaria*, *Fragilaria*, *Microcystis*, *Coelosphaerium*, *Anabaena* и др.) проводят в камере объемом 1 мл. Такие крупные колониальные организмы, как *Gloeotrichia echinulata* и *Volvox*, считают в камере Богорова, просматривая весь объем сконцентрированной пробы. Оценку биомассы организмов проводят методом истинных объемов [20], приравнивая клетку или организм к определенным геометрическим фигурам [18; 21]. Размеры клеток и организмов измеряют под микроскопом с помощью окуляр-микрометра. Удельный вес клеток принимают равным единице. Биомасса приводится в расчете на сырое вещество. Общую биомассу фитопланктона находят суммированием биомасс отдельных представителей. Общая численность клеток включает численность одноклеточных водорослей, клеток в нитях и колониях, а общая численность организмов – численность одноклеточных и многоклеточных водорослей.

В таблице присутствуют данные с 1978 г. С этого года проводятся регулярные (не реже 1 раза в месяц) наблюдения в течение вегетационного сезона (май – октябрь) и в подледный период. В отдельные годы имеются данные за другие месяцы. В данных есть промежутки (до нескольких лет), когда отбор или обработка проб не были проведены.

Таблица «Фитопланктон (вертикали)». Строки имеют такие же атрибуты, как и в предыдущей таблице. Методика обработки проб также идентична. Помимо этого, в таблицу включен атрибут глубины, на которой была отобрана проба фитопланктона. В таблице присутствуют данные для оз. Нарочь с 1977 г. за отдельные месяцы или целый вегетационный сезон и некоторые зимние месяцы. Для оз. Мястро имеются данные за 3 года, для оз. Баторино – за 1 год.

Таблица «Зоопланктон». Каждая строка в таблице соответствует отдельному отбору проб. В таблице имеются следующие атрибуты: 1) численность зоопланктона в пробе, экз./л; 2) биомасса зоопланктона в пробе, мг/л; 3) численность ветвистоусых ракообразных в пробе, экз./л; 4) биомасса ветвистоусых ракообразных в пробе, мг/л; 5) численность веслоногих ракообразных в пробе, экз./л; 6) биомасса веслоногих ракообразных в пробе, мг/л; 7) численность коловраток в пробе, экз./л; 8) биомасса коловраток в пробе, мг/л.

Воду объемом 10 л процеживают через планктонную сеть Апштейна со стороной ячейки 64 мкм. Полученный осадок объемом 100–150 мл сливают в пластиковые бутылки, фиксируют в 4 % растворе формалина и отстаивают не менее 10 сут. С использованием сифона, затянутого синтетическим ситом со стороной ячей 55 мкм, декантируют верхний слой, не взмучивая осадок, и доводят объем пробы до 10–20 мл (в зависимости от обилия организмов в пробе). Далее пробу тщательно перемешивают, после чего с помощью пипет-дозатора отбирают 1–2 мл, переносят на счетную пластинку или в чашку Петри с нанесенным на дно рисунком в виде счетной сетки и проводят качественный и количественный анализ с применением микроскопа. Оставшуюся часть пробы переносят в чашку Петри и просматривают для учета редких видов. При малой концентрации зоопланктона подсчитывают и определяют всех организмов в пробе. Размеры организмов измеряют с помощью окуляр-микрометра. Массу тела рачков

определяют расчетным методом в соответствии со степенными уравнениями зависимости массы тела от его длины. Массу коловраток находят, приравнявая форму их тела к определенным геометрическим фигурам [22; 23]. Удельный вес представителей зоопланктона принимают равным единице. Общую биомассу зоопланктона вычисляют суммированием биомасс отдельных представителей.

В таблице присутствуют данные по всем атрибутам начиная с 1980 г. с небольшими пробелами. Также для всех озер имеются среднесезонные (май – октябрь) данные о численности зоопланктона и (или) его групп для отдельных лет с 1947 по 1979 г.

Таблица «Зообентос». Каждая строка в таблице представляет собой регистрацию вида (или таксона, до которого удалось определить представителя зообентоса). В таблице имеются следующие атрибуты: 1) параметр, обозначающий единицу измерения (N – численность или B – биомасса); 2) изобата глубин, на которых была отобрана проба; 3) таксономическая группа макрозообентоса; 4) жизненная стадия организма; 5) трофическая принадлежность (хищный или нехищный); 6) название вида; 7) численность, экз./м², или биомасса, г/м², вида; 8) численность, экз./м², или биомасса, г/м², макрозообентоса в пробе; 9) площадь под изобатой, где отобрана проба, км²; 10) площадь дна озера, км²; 10) средневзвешенная численность, экз./м², или биомасса, г/м², вида в озере с учетом относительной площади изобат; 11) средневзвешенная численность, экз./м², или биомасса, г/м², макрозообентоса в озере с учетом относительной площади изобат.

Пробы макрозообентоса отбирают 2–4 раза в год с июня по октябрь в каждом озере с глубоких участков по трансектам, пересекающим литоральную и глубоководную зоны перпендикулярно берегу. В оз. Нарочь отбор проводят на глубине от 1 до 16 м, в оз. Мястро – от 1 до 10 м, а в оз. Баторино – от 1 до 5 м. В озерах Нарочь (9 станций) и Мястро (6 станций) образцы собирают через каждые 2 м глубины, а в оз. Баторино (6 станций) – через каждый 1 м. Пробы отбирают с использованием дночерпателя Петерсена на твердых грунтах и дночерпателя Экмана – Берджа в модификации Боруцкого на мягких грунтах (площадь захвата 0,025 м²). Образцы грунта пропускают через сито с размером ячеек 265 мкм. К макрозообентосу относят животных размером 2 мм и более. Все собранные организмы фиксируют в 10 % растворе формалина.

В лаборатории организмы идентифицируют до самого низкого таксономического уровня (обычно до вида, рода или семейства). Массу определяют после высушивания на фильтровальной бумаге с точностью до 0,0001 г через 3 мес. после фиксации [24]. Личинки крупных форм ручейников взвешивают без панцирей, моллюсков размером менее 10 мм – без вскрытия или прокалывания раковин. Крупных моллюсков, включая дрейсену, учитывают отдельно.

В таблице присутствуют данные по всем атрибутам с 1997 г. Кроме того, в ней имеются данные о средней за сезон численности и биомассе зообентоса для отдельных лет с 1947 по 1992 г.

Таблица «Бактериопланктон». Строка в таблице содержит результаты одного наблюдения показателей бактериопланктонного сообщества. Помимо общих атрибутов, в таблице имеются следующие атрибуты: 1) численность свободноживущих бактерий, млн клеток в 1 мл; 2) биомасса свободноживущих бактерий, мкг/мл.

Для количественного учета бактериопланктона используют мембранные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм. Для гашения собственной люминесценции фильтры помещают в раствор судана черного Б на 12–24 ч (и более), после чего промывают дистиллированной водой и высушивают. Бактерии окрашивают с использованием акридинового оранжевого [25]. С 2008 г. применяют автоматический анализ изображения для подсчета числа клеток. Пробу воды объемом 1 мл отстаивают с 0,1 % акридиновым оранжевым 1 мин. Затем пробу фильтруют через окрашенный суданом черным Б мембранный фильтр под умеренным вакуумом (не допускающим разрушения клеток). Фильтры с осажденными на них бактериями помещают на предметное стекло с вазелиновым маслом и обрабатывают с применением метода эпифлуоресцентной микроскопии. Плотность и размеры бактериальных клеток измеряют с использованием программного обеспечения *Image-Pro Plus*. Изображения получают с помощью камеры AxioCam MRc (*Carl Zeiss*, Германия), установленной на микроскоп Axiovert-25 (*Carl Zeiss*) с осветителем HBO-50 (*Carl Zeiss*) для возбуждения флуоресценции при увеличении $\times 1600$. Пороговое значение размера бактериальной клетки для измерения составляет 0,06 мкм². Случайным образом отбирают до 20 изображений. Все изображения предварительно просматривают, чтобы исключить содержание артефактов. Индивидуальный объем бактериальной клетки рассчитывают исходя из параметров клетки (длина, ширина и т. д.) [26].

В таблице присутствуют ежемесячные данные с 1995 г. Кроме того, в ней имеются данные о средней за сезон численности бактерий для отдельных лет с 1956 по 1994 г.

Таблица «Первичная продукция». Строка в таблице содержит результаты измерения продукционно-деструкционных процессов на определенной глубине в столбе воды. Помимо общих атрибутов, в таблице имеются следующие атрибуты: 1) даты постановки и окончания опыта; 2) валовая первичная продукция

планктона, мг O_2 на 1 л в сутки; 3) аэробная деструкция планктона, мг O_2 на 1 л в сутки; 4) чистая продукция планктона, мг O_2 на 1 л в сутки, представляющая собой разницу между валовой первичной продукцией и аэробной деструкцией; 5) слой воды (глубина), в котором проведены измерения, м; 6) объем этого слоя в озере, млн m^3 ; 7) объем воды в озере, млн m^3 .

Измерение уровня валовой первичной продукции и аэробной деструкции планктона проводили в пелагических зонах озер в течение вегетационного сезона (май – октябрь). Продукционные показатели в оз. Нарочь измеряли на станции глубиной 16 м, в оз. Мястро – на станции глубиной 9 м, в оз. Баторино – на станции глубиной 5 м. Для определения первичной продукции и деструкции планктона применяли скляночный метод в кислородной модификации [11; 27]. По две параллельных светлых и затемненных склянки объемом 150 мл заполняли водой и устанавливали на различных глубинах от поверхности до придонного слоя на 1–2 сут.

В таблице присутствуют ежемесячные данные для оз. Нарочь за 1995–2018 гг. и для озер Мястро и Баторино за 2013 г., а также данные за отдельные месяцы с 1970 по 1980 г.

Формирование электронной базы данных основных гидрофизических, гидрохимических и гидробиологических показателей, отражающих состояние озерных экосистем, позволяет проводить оценку их текущего состояния, а также вариантов дальнейшего развития экосистем в целях сохранения уникальных черт и природного богатства водоемов Национального парка «Нарочанский». В настоящее время по такой же схеме идет составление баз данных для других озер Нарочанского региона (Свирь, Вишневское, Мядель, Большие Швакшты, Малые Швакшты, Белое, Ходосы, Рудаково). В том случае, если пробы в озерах отбирались на отдельных горизонтах, в таблице присутствуют коэффициенты, с помощью которых можно пересчитать показатели для интегральной пробы.

База данных размещена на рабочих компьютерах НИЛ гидроэкологии (г. Минск) и Нарочанской биологической станции имени Г. Г. Винберга (к. п. Нарочь) биологического факультета БГУ и доступна научным сотрудникам этих подразделений, что позволяет им анализировать многолетние ряды наблюдений. Доступ к данным также может быть предоставлен коллегам из других организаций при проведении совместных исследований.

Заключение

База данных гидроэкологического мониторинга Нарочанских озер позволяет проводить быстрый и глубокий анализ взаимосвязей основных гидроэкологических показателей озер с использованием различного статистического и математического инструментария. Длительные ряды наблюдений, включающие большое количество параметров, делают возможным изучение долговременных тенденций в изменении экосистем озер, обусловленных климатическими и антропогенными факторами.

Библиографические ссылки

1. Макаревич ТА, Жукова ТВ, Ковалевская РЗ, Михеева ТМ. Нарочанская биологическая станция в истории гидробиологии и судьбах гидробиологов. *Историко-биологические исследования*. 2022;14(1):87–109. DOI: 10.24412/2076-8176-2022-1-87-109.
2. Власов БП, Якушко ОФ, Гигевич ГС, Рачевский АН, Логинова ЕВ. *Озера Беларуси*. Минск: Минсктиппроект; 2004. 284 с.
3. Аронов АГ, Аронова ТИ, Власов БП, Ежова ОС, Жукова ТВ, Ковалевская РЗ и др. *Водные ресурсы Национального парка «Нарочанский»*. Люштык ВС, Жукова ТВ, редакторы. Минск: Рифтур принт; 2012. 128 с.
4. Adamovich BV, Zhukova TV, Mikheeva TM, Kovalevskaya RZ, Luk'yanova EV. Long-term variations of the trophic state index in the Narochansk lakes and its relation with the major hydroecological parameters. *Water Resources*. 2016;43(5):809–817. DOI: 10.1134/s009780781605002x.
5. Остапеня АП, Ковалев АА, Жукова ТВ, Михеева ТМ, Бабицкий ВА, Крючкова НМ и др. *Экологический паспорт озера Нарочь*. Минск: Экомир-пресс; 1993. 95 с.
6. Остапеня АП, Ковалев АА, Михеева ТМ, Бабицкий ВА, Жукова ТВ, Крючкова НМ и др. *Экологический паспорт озера Мястро*. Минск: Экомир-пресс; 1994. 44 с.
7. Остапеня АП, Ковалевская РЗ, Михеева ТМ, Бабицкий ВА, Жукова ТВ, Крючкова НМ и др. *Экологический паспорт озера Баторино*. Минск: Экомир-пресс; 1994. 43 с.
8. R Core Team. *R: a language and environment for statistical computing* [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2020 [cited 2020 October 22]. Available from: <https://www.r-project.org/>.
9. Determination of photosynthetic pigments: report of SCOR-UNESCO working group No. 17 which met from 4 to 6 June 1964, UNESCO, Paris. In: *Determination of photosynthetic pigments in sea-water*. Paris: UNESCO; 1966. p. 9–18 (Monographs on oceanographic methodology; volume 1).
10. Kovalevskaya RZ, Zhukava HA, Adamovich BV. Modification of the method of spectrophotometric determination of chlorophyll *a* in the suspended matter of water bodies. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2020;87(1):72–78. DOI: 10.1007/s10812-020-00965-9.
11. Винберг ГГ. *Первичная продукция водоемов*. Турбин НВ, редактор. Минск: Издательство Академии наук БССР; 1960. 329 с.
12. Остапеня АП. Полнота окисления органического вещества водных беспозвоночных методом бихроматного окисления. *Доклады Академии наук Белорусской ССР*. 1965;9(4):273–276. EDN: QAIAUN.

13. Винберг ГТ, редактор. *Экологическая система Нарочанских озер*. Минск: Издательство «Университетское»; 1985. 302 с.
14. Лурье ЮЮ, редактор. *Унифицированные методы анализа вод*. 2-е издание. Москва: Химия; 1973. 376 с.
15. Семенов АД, редактор. *Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши*. Ленинград: Гидрометеиздат; 1977. 541 с.
16. Романкевич ЕА, редактор. *Методы исследования органического вещества в океане*. Москва: Наука; 1980. 343 с.
17. Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M, editors. *Methods of seawater analysis*. 3rd edition. Weinheim: Wiley-VCH; 1999. XXXII, 600 p. DOI: 10.1002/9783527613984.
18. Михеева ТМ. *Альгофлора Беларуси. Таксономический каталог*. Минск: Издательство БГУ; 1999. 396 с.
19. Михеева ТМ. Методы количественного учета нанофитопланктона (обзор). *Гидробиологический журнал*. 1989;25(4): 3–21. EDN: ZILLOH.
20. Киселев ИА. *Планктон морей и континентальных водоемов. Том 1, Вводные и общие вопросы планктологии = Plankton of the seas and continental waters. Volume 1, Introductory and general problems of the planktology*. Ленинград: Наука; 1969. 658 с.
21. Hillebrand H, Dürselen C-D, Kirschtel D, Pollinger U, Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*. 1999;35(2):403–424. DOI: 10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x.
22. Балушкина ЕВ, Винберг ГТ. Зависимость между массой и длиной тела у планктонных животных. В: Винберг ГТ, редактор. *Общие основы изучения водных экосистем*. Ленинград: Наука; 1979. с. 169–172.
23. Кононова ОН, Феофилова ЕБ. *Методическое руководство по определению размерно-весовых характеристик организмов зоопланктона европейского севера России*. Татаринов АГ, редактор. Сыктывкар: [б. и.]; 2018. 152 с.
24. Винберг ГТ, редактор. *Методы определения продукции водных животных*. Минск: Вышэйшая школа; 1968. 245 с.
25. Hobbie JE, Daley RJ, Jasper S. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*. 1977;33(5):1225–1228. DOI: 10.1128/aem.33.5.1225-1228.1977.
26. Massana R, Murray AE, Preston CM, DeLong EF. Vertical distribution and phylogenetic characterization of marine planktonic Archaea in the Santa Barbara Channel. *Applied and Environmental Microbiology*. 1997;63(1):50–56. DOI: 10.1128/aem.63.1.50-56.1997.
27. Алимов АФ. *Введение в продукционную гидробиологию*. Ленинград: Гидрометеиздат; 1989. 152 с.

References

1. Makarevich TA, Zhukova TV, Kovalevskaya RZ, Mikhayeva TM. Naroch biological station in the history of hydrobiology and in the fates of hydrobiologists. *Studies in the History of Biology*. 2022;14(1):87–109. Russian. DOI: 10.24412/2076-8176-2022-1-87-109.
2. Vlasov BP, Yakushko OF, Gigevich GS, Rachevskii AN, Loginova EV. *Ozera Belarusi* [Lakes of Belarus]. Minsk: Minsktip-proekt; 2004. 284 p. Russian.
3. Aronov AG, Aronova TI, Vlasov BP, Ezhova OS, Zhukova TV, Kovalevskaya RZ, et al. *Vodnye resursy Natsional'nogo parka «Narochanskii»* [Water resources of the National Park «Narochansky»]. Lyushtyk VS, Zhukova TV, editors. Minsk: Riftur print; 2012. 128 p. Russian.
4. Adamovich BV, Zhukova TV, Mikheeva TM, Kovalevskaya RZ, Luk'yanova EV. Long-term variations of the trophic state index in the Narochanskies lakes and its relation with the major hydroecological parameters. *Water Resources*. 2016;43(5):809–817. DOI: 10.1134/s009780781605002x.
5. Ostapenya AP, Kovalev AA, Zhukova TV, Mikheeva TM, Babitskii VA, Kryuchkova NM, et al. *Ekologicheskii pasport ozera Naroch'* [Ecological passport of Naroch Lake]. Minsk: Ekomir-press; 1993. 95 p. Russian.
6. Ostapenya AP, Kovalev AA, Mikheeva TM, Babitskii VA, Zhukova TV, Kryuchkova NM, et al. *Ekologicheskii pasport ozera Myastro* [Ecological passport of Myastro Lake]. Minsk: Ekomir-press; 1994. 44 p. Russian.
7. Ostapenya AP, Kovalevskaya RZ, Mikheeva TM, Babitskii VA, Zhukova TV, Kryuchkova NM, et al. *Ekologicheskii pasport ozera Batorino* [Ecological passport of Batorino Lake]. Minsk: Ekomir-press; 1994. 43 p. Russian.
8. R Core Team. *R: a language and environment for statistical computing* [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2020 [cited 2020 October 22]. Available from: <https://www.r-project.org/>.
9. Determination of photosynthetic pigments: report of SCOR-UNESCO working group No. 17 which met from 4 to 6 June 1964, UNESCO, Paris. In: *Determination of photosynthetic pigments in sea-water*. Paris: UNESCO; 1966. p. 9–18 (Monographs on oceanographic methodology; volume 1).
10. Kovalevskaya RZ, Zhukava HA, Adamovich BV. Modification of the method of spectrophotometric determination of chlorophyll *a* in the suspended matter of water bodies. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2020;87(1):72–78. DOI: 10.1007/s10812-020-00965-9.
11. Vinberg GG. *Pervichnaya produktiya vodoemov* [Primary production of reservoirs]. Turbin NV, editor. Minsk: Izdatel'stvo Akademii nauk BSSR; 1960. 329 p. Russian.
12. Ostapenya AP. [Completeness of oxidation of an organic substance of aqueous invertebrates by the bichromated oxidation method]. *Doklady Akademii nauk Belorusskoi SSR*. 1965;9(4):273–276. Russian. EDN: QAIAUN.
13. Vinberg GG, editor. *Ekologicheskaya sistema Narochanskikh ozer* [Ecological system of the Narochanskies lakes]. Minsk: Izdatel'stvo «Universitetskoe»; 1985. 302 p. Russian.
14. Lur'e YuYu, editor. *Unifitsirovannyye metody analiza vod* [Unified methods of water analysis]. 2nd edition. Moscow: Khimiya; 1973. 376 p. Russian.
15. Semenov AD, editor. *Rukovodstvo po khimicheskomu analizu poverkhnostnykh vod sushi* [Guide to the chemical analysis of surface waters of land]. Leningrad: Gidrometeoizdat; 1977. 541 p. Russian.
16. Romankevich EA, editor. *Metody issledovaniya organicheskogo veshchestva v okeane* [Methods for studying organic matter in the ocean]. Moscow: Nauka; 1980. 343 p. Russian.
17. Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M, editors. *Methods of seawater analysis*. 3rd edition. Weinheim: Wiley-VCH; 1999. XXXII, 600 p. DOI: 10.1002/9783527613984.
18. Mikheeva TM. *Al'goflora Belarusi. Taksonomicheskii katalog* [Algal flora of Belarus. Taxonomic catalogue]. Minsk: Publishing House of the Belarusian State University; 1999. 396 p. Russian.
19. Mikheeva TM. [Methods for quantitative accounting of nanophytoplankton (review)]. *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 1989;25(4): 3–21. Russian. EDN: ZILLOH.
20. Kiselev IA. *Plankton of the seas and continental waters. Volume 1, Introductory and general problems of the planktology*. Leningrad: Nauka; 1969. 658 p. Russian.

21. Hillebrand H, Dürselen C-D, Kirschtel D, Pollinger U, Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*. 1999;35(2):403–424. DOI: 10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x.
22. Balushkina EV, Vinberg GG. [The relationship between mass and body length in planktonic animals]. In: Vinberg GG, editor. *Obshchie osnovy izucheniya vodnykh ekosistem* [General principles of studying aquatic ecosystems]. Leningrad: Nauka; 1979. p. 169–172. Russian.
23. Kononova ON, Fefilova EB. *Metodicheskoe rukovodstvo po opredeleniyu razmerno-vesovykh kharakteristik organizmov zooplanktona evropeiskogo severa Rossii* [Methodological guideline for the determination of dimensional and weight characteristics of zooplankton organisms in the European north of Russia]. Tatarinov AG, editor. Syktyvkar: [s. n.]; 2018. 152 p. Russian.
24. Vinberg GG, editor. *Metody opredeleniya produktii vodnykh zhivotnykh* [Methods for determining the production of aquatic animals]. Minsk: Vyshhejschaja shkola; 1968. 245 p. Russian.
25. Hobbie JE, Daley RJ, Jasper S. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*. 1977;33(5):1225–1228. DOI: 10.1128/aem.33.5.1225-1228.1977.
26. Massana R, Murray AE, Preston CM, DeLong EF. Vertical distribution and phylogenetic characterization of marine planktonic Archaea in the Santa Barbara Channel. *Applied and Environmental Microbiology*. 1997;63(1):50–56. DOI: 10.1128/aem.63.1.50-56.1997.
27. Alimov AF. *Vvedenie v produkcionnyy gidrobiologiyu* [Introduction to production hydrobiology]. Leningrad: Gidrometeoizdat; 1989. 152 p. Russian.

Получена 31.10.2023 / исправлена 12.12.2023 / принята 13.12.2023.
Received 31.10.2023 / revised 12.12.2023 / accepted 13.12.2023.

Авторы:

Борис Владиславович Адамович – кандидат биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательской лабораторией гидроэкологии биологического факультета.

Тамара Михайловна Михеева – доктор биологических наук, профессор; главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Раиса Зеноновна Ковалевская – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Татьяна Васильевна Жукова – доктор биологических наук; ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Наталья Владимировна Дубко – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Людмила Владимировна Никитина – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Олег Анатольевич Макаревич – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Тамара Александровна Макаревич – кандидат биологических наук; доцент кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Ирина Васильевна Савич – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Юлия Константиновна Верес – кандидат биологических наук; начальник Нарочанской биологической станции имени Г. Г. Винберга биологического факультета.

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

Дарья Вячеславовна Крюк – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии биологического факультета.

Authors:

Boris V. Adamovich, PhD (biology), docent; head of the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

belaqualab@gmail.com

Tamara M. Mikheeva, doctor of science (biology), full professor; chief researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Raisa Z. Kovalevskaya, senior researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Tatiana V. Zhukova, doctor of science (biology); leading researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Natalia V. Dubko, researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Ludmila V. Nikitina, researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Oleg A. Makarevich, senior researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Tamara A. Makarevich, PhD (biology); associate professor at the department of general ecology and methods of teaching biology, faculty of biology.

Iryna V. Savich, researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Yulia K. Veres, PhD (biology); head of the Naroch Biological Station named after G. G. Vinberg, faculty of biology.

Iryna N. Selivonchik, researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

Daria V. Kruk, junior researcher at the laboratory of hydroecology, faculty of biology.

УДК 577.352.4

РОЛЬ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ОСИ МИКРОБИОТА – КИШЕЧНИК – ГОЛОВНОЙ МОЗГ

А. С. ЛЮЛЯ¹⁾, С. В. ФЕДОРОВИЧ¹⁾

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

Нарушение работы оси микробиота – кишечник – головной мозг может влиять на патогенез различных заболеваний центральной нервной системы, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, депрессия, расстройства аутистического спектра и др. Существует несколько механизмов коммуникации между кишечником и головным мозгом. Одним из них является синтез бактериальных метаболитов, которые могут оказывать прямое воздействие на клетки головного мозга. К ключевым метаболитам, обладающим такими свойствами, относятся короткоцепочечные жирные кислоты. Они синтезируются микробиотой прежде всего из пищевых волокон. Основными короткоцепочечными жирными кислотами в оси микробиота – кишечник – головной мозг являются пропионовая и масляная кислоты. В целом на данный момент сложилось мнение, что пропионовая кислота оказывает главным образом нейротоксичное действие, а масляная кислота – нейропротекторное. Однако подобное разделение достаточно условно. Оба вещества способны проникать через гематоэнцефалический барьер. Их концентрация в цереброспинальной жидкости и плазме крови, согласно большинству исследований, варьируется в диапазоне 2–20 мкмоль/л, но при некоторых патологиях может повышаться до 5 ммоль/л. Действие короткоцепочечных жирных кислот на клетки центральной нервной системы опосредовано главным образом специфическими G-белок-связанными рецепторами и эпигенетическими механизмами. В то же время нельзя исключать, что в действие короткоцепочечных жирных кислот на нейроны вовлечены и другие потенциальные сигнальные пути. Расшифровка механизмов регуляции работы нейронов с помощью пропионовой и масляной кислот позволит выявить новые фармакологические мишени для лечения различных заболеваний центральной нервной системы.

Ключевые слова: ось микробиота – кишечник – головной мозг; короткоцепочечные жирные кислоты; бактериальные метаболиты; пропионовая кислота; масляная кислота; головной мозг.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке гранта ректора БГУ (на имя С. В. Федоровича).

Образец цитирования:

Люля АС, Федорович СВ. Роль короткоцепочечных жирных кислот в функционировании оси микробиота – кишечник – головной мозг. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;1:77–85.
EDN: SEDJYQ

For citation:

Lyulya AS, Fedorovich SV. The short-chain fatty acids and their role in the microbiota – gut – brain axis. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024;1:77–85. Russian.
EDN: SEDJYQ

Авторы:

Анастасия Станиславовна Люля – аспирантка кафедры биохимии биологического факультета. Научный руководитель – С. В. Федорович.

Сергей Викторович Федорович – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биохимии биологического факультета.

Authors:

Anastasiya S. Lyulya, postgraduate student at the department of biochemistry, faculty of biology.

nastyia.lyulya@mail.com

Sergei V. Fedorovich, PhD (biology), docent; associate professor at the department of biochemistry, faculty of biology.

fedorovich@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0003-4474-1954>

THE SHORT-CHAIN FATTY ACIDS AND THEIR ROLE IN THE MICROBIOTA – GUT – BRAIN AXIS

A. S. LYULYA^a, S. V. FEDOROVICH^a

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

Corresponding author: A. S. Lyulya (nastya.lyulya@mail.com)

Disruption of the microbiota – gut – brain axis may contribute to the pathogenesis of various diseases of the central nervous system, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, depression, autism spectrum disorders and etc. There are several way of communication between the gut and the brain. One of them is the synthesis of bacterial metabolites, which cause a directly influence brain cells. Key metabolites with such properties include short-chain fatty acids. They is synthesised by the microbiome primarily from dietary fiber. The main short-chain fatty acids in the microbiota – gut – brain axis are propionic and butyric acids. In general, it is believed that propionic acid has a mainly neurotoxic effect, and butyric acid is neuroprotective. But at the same time, such a division is rather conditional. Both compounds are able to penetrate the blood-brain barrier. Their concentration in cerebrospinal fluid and blood plasma, according to most studies, varies in the range of 2–20 $\mu\text{mol/L}$, but in some pathologies it can rise up to 5 mmol/L . The action of short-chain fatty acids on the cells in nervous system is mediated generally by specific G-protein coupled receptors and epigenetic mechanisms. However, it cannot be ruled out that other potential signaling pathways are involved in the action of short-chain fatty acids on neurons. Deciphering the mechanisms of neuron regulation by propionic and butyric acids provides possibility to identify new pharmacological targets for the treatment of various brain diseases.

Keywords: microbiota – gut – brain axis; short-chain fatty acids; bacterial metabolites; propionic acid; butyric acid; brain.

Acknowledgements. This work was supported by Belarusian State University rector's grant (S. V. Fedorovich).

Введение

В 2008 г. был запущен проект по изучению микробиоты человека, целью которого являлось установление связи между кишечной микробиотой и патогенезом ряда заболеваний [1]. Несмотря на значительный прогресс в данной области, многие вопросы остаются нерешенными.

Кишечная микробиота – это уникальная сложная экосистема, состоящая из бактерий, грибов, вирусов и простейших. Именно кишечник наиболее густо заселен бактериями (в нем представлены около 1800 различных родов и примерно 40 000 видов бактерий) [2].

В настоящее время особый интерес у ученых вызывает модель взаимодействия в оси микробиота – кишечник – головной мозг, поскольку ее регуляция имеет важное значение в патогенезе различных заболеваний центральной нервной системы [3].

Ось микробиота – кишечник – головной мозг

Ось микробиота – кишечник – головной мозг обеспечивает двунаправленную связь между энтеральной и центральной нервными системами [4]. Дисбиоз кишечника, обусловленный воспалением либо повышенной проницаемостью кишечника, выявляется при многочисленных неврологических, психологических и поведенческих нарушениях, таких как ишемия головного мозга, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, депрессия, расстройства аутистического спектра [5].

На сегодняшний день существуют четыре основных механизма коммуникации между кишечником и головным мозгом [6; 7]:

- продуцирование гормонов кишечника (гуморальный механизм);
- образование про- и противовоспалительных цитокинов (иммунный механизм);
- опосредованная блуждающим нервом и спинномозговыми афферентными нейронами коммуникация (нейронный механизм);
- синтез бактериальных метаболитов, которые проникают непосредственно в кровоток и оказывают прямое воздействие на головной мозг либо опосредованное влияние на вышеперечисленные механизмы.

К числу ключевых бактериальных метаболитов в кишечнике, связывающих изменения в составе микробиоты и нарушение работы головного мозга [5], относят короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) [8], которые могут регулировать передачу сигналов через рецепторы свободных жирных кислот, расположенных на колоноцитах энтероэндокринных клеток, а также иммунных клетках, внутренних и внешних нейронах [9–11].

Известно, что КЦЖК – это алифатические монокарбоновые кислоты с длиной цепи от 1 до 6 атомов углерода [5]. Основным путем образования КЦЖК [3; 12–14] является анаэробное сахаролитическое ферментативное расщепление пищевых волокон [15] бактериями. В кишечнике преобладают две основные группы бактерий – Bacteroidetes (грамотрицательные) и Firmicutes (грамположительные). Бактерии Bacteroidetes в основном продуцируют уксусную и пропионовую кислоты, а бактерии Firmicutes – масляную кислоту [16; 17].

В синтезе КЦЖК принимают участие такие виды, как *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium leptum* [18; 19], *C. butyricum* [8] и др. Бактерий, которые продуцируют масляную кислоту, значительно больше, так как бактерии Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes и Thermotogae являются потенциальными производителями бутирата, экспрессируя бутирил-КоА-дегидрогеназу, бутирил-КоА-трансферазу и бутираткиназу [16].

К числу основных субстратов для продуцирования КЦЖК бактериями относят резистентный крахмал, инулин, овсяные отруби, пшеничные отруби, целлюлозу, гуаровую камедь и пектин [20]. Показано, что высокое содержание клетчатки в рационе питания может повысить уровень КЦЖК и способствовать не только улучшению когнитивных функций, но и профилактике деменции [21]. Синтез КЦЖК начинается с расщепления пищевых волокон микроорганизмами. Далее следует образование масляной и пропионовой кислот в кишечнике, которое происходит в основном при гликолизе, но иногда может являться результатом метаболизма органических кислот и аминокислот [22]. Кроме того, уксусная кислота, образующаяся из ацетил-КоА, полученного в ходе гликолиза, также может быть преобразована в бутират при участии ферментов бутирил-КоА, ацетил-КоА-трансферазы [23–26]. Схема синтеза пропионовой и масляной кислот бактериями кишечной микрофлоры представлена на рисунке.

Существуют эндогенные источники ацетата – катаболизм белков и длинноцепочечных жирных кислот, расщепление этанола и пирувата [21]. Незначительное количество КЦЖК может быть получено при употреблении ферментированных продуктов [27]. Пропионовая кислота добавляется в пищевые продукты в качестве консерванта. Мясные изделия, различные пудинги, джемы, желе могут содержать 0,1–0,4 % пропионата [28]. Важным источником масляной кислоты являются молочные продукты. Так, 5–10 % триацилглицеридов коровьего молока содержат масляную кислоту [16].

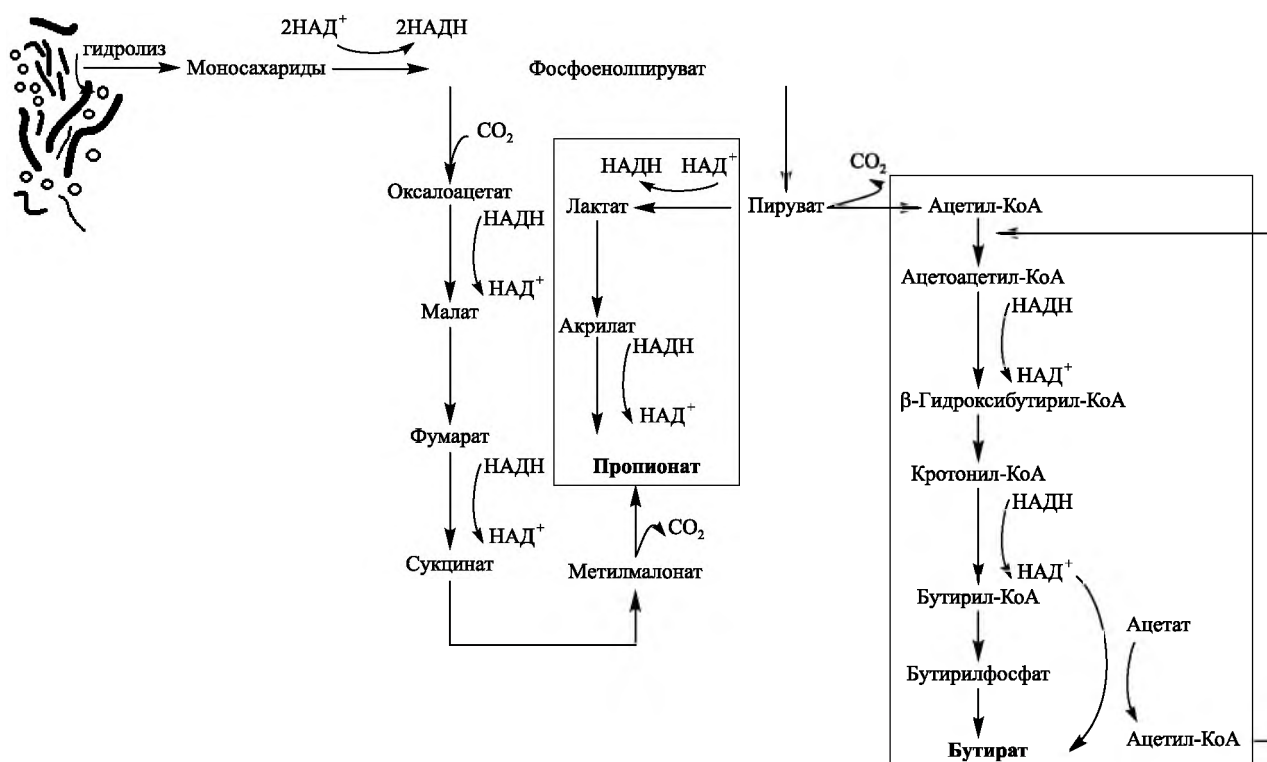


Схема синтеза пропионовой и масляной кислот бактериями кишечной микрофлоры
(составлена на основе работы [14])

Scheme for the synthesis of acids by bacteria of the intestinal microflora
(compiled based on work [14])

Основными КЦЖК являются ацетат, пропионат и бутират [8], на их долю приходится 95 % всех КЦЖК [29]. После образования КЦЖК диффундируют через плазматическую мембрану колоноцитов и выступают в роли энергетических субстратов в митохондриях [8]. Но колоноциты не являются исключением. Гепатоциты также могут использовать пропионовую и масляную кислоты как источник энергии [16]. Однако вопрос о том, могут ли эти соединения быть энергетическими субстратами для нейронов, остается неизученным. Неметаболизированные КЦЖК попадают в портальную венозную систему, откуда проникают в легкие, головной мозг и печень (в печени они также дополнительно метаболизируются) [5].

Относительное молярное соотношение ацетата, пропионата и бутирата, синтезируемых микробиотой, составляет 60 : 20 : 20 соответственно [8; 17]. Самая высокая концентрация КЦЖК у человека наблюдается в проксимальном отделе толстого кишечника [27], где она может варьироваться от 50 до 150 ммоль/л [30]. В среднем в кишечнике вырабатывается 500–600 ммоль/л КЦЖК в сутки [31]. В плазме крови ацетат, пропионат и бутират находятся в микромолярном количестве (19–150 мкмоль/л (ацетат), 4–20 мкмоль/л (бутират), 2–6 мкмоль/л (пропионат)). При этом в плазме мышей количество ацетата значительно ниже, чем в плазме человека (3–25 мкмоль/л) [5]. В цереброспинальной жидкости концентрация КЦЖК близка к их концентрации в плазме. Уровень пропионовой кислоты может достигать 6 мкмоль/л, уровень масляной кислоты – 2,8 мкмоль/л [32]. Этот факт говорит о том, что гематоэнцефалический барьер проницаем для КЦЖК. Более подробно данный процесс будет рассмотрен в следующем разделе. В 1970-х гг. было показано, что головной мозг содержит 18,5 нмоль/г пропионовой кислоты и 17 нмоль/г масляной кислоты. Если пересчитать эти значения в более привычных единицах (мкмоль/л), то получим около 20 мкмоль/л, что достаточно близко к современным данным о содержании КЦЖК в цереброспинальной жидкости. В то же время в работе [33] показано, что в головном мозге мышей может быть более 600 мкмоль/л масляной кислоты, но, вероятно, эти результаты можно объяснить какой-то методической ошибкой. В некоторых патологических случаях уровень пропионовой кислоты может достигать очень высоких значений. Примером является пропионовая ацидурия – наследственное заболевание, связанное с дефицитом фермента пропионил-КоА-карбоксилазы [34]. Уровень пропионата в крови при этом заболевании достигает 5 ммоль/л [35; 36]. Пропионовая ацидурия сопровождается повреждениями головного мозга, патогенез которых не очень понятен [34].

В целом на данный момент в литературе сложилось мнение, что пропионовая кислота оказывает главным образом нейротоксичное действие [28], а масляная кислота – нейропротекторное [35]. Однако такое разделение достаточно условно. Так, недавно было показано, что пропионат обладает нейропротекторными свойствами и способствует регенерации тканей в периферической нервной системе [37]. В целом конкретная КЦЖК выполняет нейропротекторную или нейротоксичную функцию в конкретной концентрации, которая зависит от экспериментальной модели и других сопутствующих факторов [38]. Это объясняется чрезвычайным многообразием воздействий КЦЖК на живые системы [21; 28; 36].

Биологическим действием могут обладать и метаболиты КЦЖК, также синтезируемые микробиотой. Примером является индол-3-пропионовая кислота, которая имеет достаточно сильно выраженный нейрорегенеративный эффект [39].

КЦЖК и гематоэнцефалический барьер

Коррекция микробиоты кишечника, обусловленная применением антибиотиков, пробиотиков, трансплантацией фекальной микробиоты, необходима для поддержания целостности гематоэнцефалического барьера [5]. В ряде доклинических испытаний было установлено, что пероральное введение КЦЖК способствует восстановлению целостности гематоэнцефалического барьера при ее нарушениях в случае различных патологий центральной нервной системы [30]. Гематоэнцефалический барьер функционирует как регулятор молекулярного транспорта между спинномозговой жидкостью и системой кровообращения [40]. Нейродегенеративные и нейровоспалительные расстройства сопровождаются повреждением гематоэнцефалического барьера [41; 42]. Это обусловлено в первую очередь окислительным стрессом и воспалением, вызванным многочисленными медиаторами воспаления, которые действуют как из просвета капилляров, так и из паренхимы головного мозга. Микробиота кишечника может модулировать проницаемость гематоэнцефалического барьера [30]. Активация экспрессии таких белков, как клаудин-5 и окклюдин, снижает проницаемость гематоэнцефалического барьера. Механизмы защитного действия КЦЖК на целостность гематоэнцефалического барьера, как правило, основаны на их антиоксидантном и противовоспалительном действии, опосредованном ингибированием транскрипционного фактора NF- κ B и активацией редокс-чувствительного транскрипционного фактора Nrf2 [43; 44].

Способность КЦЖК преодолевать гематоэнцефалический барьер была установлена при введении радиоактивно меченых КЦЖК в сонную артерию крысам, после чего они обнаруживались в головном мозге [29; 45]. Известно, что КЦЖК проникают в эндотелиальные клетки с помощью транспортеров

монокарбоксилатов (МСТ). Следует отметить, что МСТ являются достаточно универсальными переносчиками. Различные изоформы этого белка обеспечивают транспорт таких веществ, как пируват, лактат, β -гидроксibuтират, через плазматическую мембрану нейронов и других клеток [46]. В эндотелии сосудов головного мозга человека и грызунов МСТ1 (известный также как SLC16A1), который действует как протонзависимый котранспортер (обменник), играет ключевую роль во входе этих веществ в паренхиму головного мозга [5].

Молекулярные механизмы воздействия КЦЖК на клетки центральной нервной системы

Бутират, пропионат и ацетат активируют несколько рецепторов, связанных с G-белками (GPCR). Наиболее изученными из них являются GPR43 и GPR41, впоследствии переименованные в рецепторы свободных жирных кислот (FFAR2 и FFAR3) [29; 47]. Селективность данных рецепторов определяется длиной углеродной цепи КЦЖК. Известно, что FFAR2 имеет высокое сродство к ацетату и пропионату, т. е. КЦЖК с более короткой углеродной цепью, в то время как FFAR3 предпочитает более длинные молекулы жирных кислот, такие как бутират [47].

Рецептор FFAR3 экспрессируется в самых разных органах, в том числе в головном мозге. Вероятно, он способствует сохранению структурной целостности гематоэнцефалического барьера за счет повышения эпителиальной проницаемости и подавления экспрессии окклюдина, клаудина-5 и белка ZO-1 [29]. К слову, КЦЖК являются единственными известными лигандами для рецептора FFAR2, который участвует в регуляции воспаления посредством ингибирования аденилатциклазы и активации фосфолипазы C [36]. В головном мозге FFAR2 опосредует противовоспалительный эффект КЦЖК, что было показано на мышинных нейропатологических моделях, таких как сепсис-ассоциированная энцефалопатия, периоперационное нейрокогнитивное расстройство и болезнь Альцгеймера [29]. В дополнение к FFAR2 и FFAR3 были обнаружены другие GPCR, модулируемые КЦЖК, а именно Olfr78 (OR51E2) и GPR109a (HCAR2) [31; 48]. По сравнению с рецепторами FFAR2 и FFAR3 рецепторы Olfr78 и GPR109a недостаточно изучены [49]. Известно, что рецептор GPR109a связывается с бутиратом и индуцирует продукцию регуляторных T-клеток, секретирующих интерлейкин-10 [50].

В настоящее время особое внимание уделяется рецепторам, активируемым пролифератором пероксисом (PPARs). Эти рецепторы являются ядерными факторами транскрипции, которые регулируют экспрессию генов, участвующих как в липидном, так и углеводном обмене. В зависимости от места локализации, специфичности и физиологической роли данное семейство включает в себя три основные группы – PPAR α , PPAR β/δ и PPAR γ . Экспрессия рецепторов PPARs выявлена в различных органах, включая кишечник и головной мозг [51].

Одним из важных способов регуляции функционирования живой клетки является эпигенетическая модификация [52]. К основным эпигенетическим механизмам относят метилирование и деметилирование ДНК и ацетилирование и деацетилирование гистонов [51; 53]. Как оказалось, КЦЖК способны снижать активность гистондеацетилазы (HDAC) [21]. Изменение ацетилирования гистонов приводит к тому, что хроматин складывается по-другому и изменяется экспрессия многих генов (в частности, при воздействии КЦЖК увеличивается экспрессия антиоксидантных ферментов) [54]. При этом бутират является наиболее мощным ингибитором HDAC классов I, IIa и IV. В ходе ряда исследований было установлено, что влияние КЦЖК на HDAC зависит от их дозы [47].

Повышенная экспрессия HDAC и гипoaцетилирование гистонов могут привести к повреждению гематоэнцефалического барьера. Установлено, что ингибирование HDAC3 или HDAC9 специфическими ингибиторами либо посредством подавления активности генов защищало гематоэнцефалический барьер от повреждений, вызванных увеличением его проницаемости [29].

Недавно было показано, что очень высокие концентрации пропионата (10 ммоль/л) обуславливают закисление цитозоля пресинаптических окончаний нейронов в нервно-мышечном соединении диафрагмы и последующее ингибирование экзоцитоза [55; 56]. Насколько универсальным является механизм воздействия КЦЖК, опосредованный внутриклеточным закислением, остается неизвестным.

Заключение

Показано, что КЦЖК, главным образом пропионат и бутират, представляют собой очень важный компонент оси микробиота – кишечник – головной мозг. В зависимости от конкретной ситуации они могут опосредовать нейротоксичные или нейропротекторные эффекты кишечной микробиоты, выполняя регуляторную и сигнальную функции.

Модифицировать кишечную микробиоту можно различными способами. К ним относятся использование пребиотиков, специфических диет и даже пересадка кала [55]. Однако часто эти методы могут

дать достаточно непредсказуемые результаты. Расшифровка биохимических механизмов воздействия КЦЖК на клетки головного мозга и идентификация их молекулярных мишеней позволят достичь тех же самых целей в лечении различных заболеваний центральной нервной системы, используя стандартные фармакологические подходы.

Библиографические ссылки

1. Черневская ЕА, Белобородова НВ. Микробиота кишечника при критических состояниях (обзор) = Gut microbiome in critical illness (review). *Общая реаниматология*. 2018;14(5):96–119 (на рус., англ.). DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-96-119.
2. Kandsperger S, Brunner R, Rupprecht R, Baghai TC. Depressive Störungen in der Adoleszenz: aktuelle Studienlage zur Mikrobiota-Darm-Hirn-Achse. *Zeitschrift für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie*. 2023;51(6):419–428. DOI: 10.1024/1422-4917/a000917.
3. Derrien M, Collado MC, Ben-Amor K, Salminen S, de Vos WM. The mucin degrader *Akkermansia muciniphila* is an abundant resident of the human intestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(5):1646–1648. DOI: 10.1128/AEM.01226-07.
4. Barki N, Bolognini D, Börjesson U, Jenkins L, Riddell J, Hughes D, et al. Chemogenetics defines a short-chain fatty acid receptor gut – brain axis. *eLife*. 2022;11:e73777. DOI: 10.7554/eLife.73777.
5. Fock E, Parnova R. Mechanisms of blood – brain barrier protection by microbiota-derived short-chain fatty acids. *Cells*. 2023;12(4):657. DOI: 10.3390/cells12040657.
6. Горлова ЕА. Микробиота кишечника и интеллект человека. *Университетский терапевтический вестник*. 2021;3(2):39–47.
7. Kim Y-K, Shin C. The microbiota – gut – brain axis in neuropsychiatric disorders: pathophysiological mechanisms and novel treatments. *Current Neuropharmacology*. 2018;16(5):559–573. DOI: 10.2174/1570159X15666170915141036.
8. Ney L-M, Wipplinger M, Grossmann M, Engert N, Wegner VD, Mosig AS. Short chain fatty acids: key regulators of the local and systemic immune response in inflammatory diseases and infections. *Open Biology*. 2023;13(3):230014. DOI: 10.1098/rsob.230014.
9. Del Colle A, Israelyan N, Gross Margolis K. Novel aspects of enteric serotonergic signaling in health and brain – gut disease. *Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2020;318(1):G130–G143. DOI: 10.1152/ajpgi.00173.2019.
10. Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey JF 3rd, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *The FASEB Journal*. 2015;29(4):1395–1403. DOI: 10.1096/fj.14-259598.
11. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*. 2015;161(2):264–276. DOI: 10.1016/j.cell.2015.02.047.
12. Chen T, Long W, Zhang C, Liu S, Zhao L, Hamaker BR. Fiber-utilizing capacity varies in *Prevotella*-versus *Bacteroides*-dominated gut microbiota. *Scientific Reports*. 2017;7:2594. DOI: 10.1038/s41598-017-02995-4.
13. Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de los Reyes-Gavilán CG, Salazar N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:185. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00185.
14. Venegas DP, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:277. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00277.
15. Blaak EE, Canfora EE, Theis S, Frost G, Groen AK, Mithieux G, et al. Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Beneficial Microbes*. 2020;11(5):411–455. DOI: 10.3920/BM2020.0057.
16. Chevalier AC, Rosenberger TA. Increasing acetyl-CoA metabolism attenuates injury and alters spinal cord lipid content in mice subjected to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neurochemistry*. 2017;141(5):721–737. DOI: 10.1111/jnc.14032.
17. Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiology Letters*. 2009;294(1):1–8. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01514.x.
18. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology*. 2017;19(1):29–41. DOI: 10.1111/1462-2920.13589.
19. Vital M, Howe AC, Tiedje JM. Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. *mBio*. 2014;5(2):e00889-14. DOI: 10.1128/mBio.00889-14.
20. Champ MMJ. Physiological aspects of resistant starch and *in vivo* measurements. *Journal of AOAC International*. 2004;87(3):749–755. PMID: 15287675.
21. Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K. The role of short-chain fatty acids in microbiota – gut – brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2019;16(8):461–478. DOI: 10.1038/s41575-019-0157-3.
22. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*. 2013;54(9):2325–2340. DOI: 10.1194/jlr.R036012.
23. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*. 1987;28(10):1221–1227. DOI: 10.1136/gut.28.10.1221.
24. Duncan SH, Barcenilla A, Stewart CS, Pryde SE, Flint HJ. Acetate utilization and butyryl coenzyme A (CoA):acetate-CoA transferase in butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002;68(10):5186–5190. DOI: 10.1128/AEM.68.10.5186-5190.2002.
25. Duncan SH, Holtrop G, Lobley GE, Calder AG, Stewart CS, Flint HJ. Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria. *British Journal of Nutrition*. 2004;91(6):915–923. DOI: 10.1079/BJN20041150.
26. Miller TL, Wolin MJ. Pathways of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996;62(5):1589–1592. DOI: 10.1128/aem.62.5.1589-1592.1996.
27. Buey B, Forcén A, Grasa L, Layunta E, Mesonero JE, Latorre E. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids: novel regulators of intestinal serotonin transporter. *Life*. 2023;13(5):1085. DOI: 10.3390/life13051085.
28. Killingsworth J, Sawmiller D, Shytile RD. Propionate and Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020;12:580001. DOI: 10.3389/fnagi.2020.580001.

29. O'Riordan KJ, Collins MK, Moloney GM, Knox EG, Aburto MR, Fülling C, et al. Short chain fatty acids: microbial metabolites for gut – brain axis signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2022;546:111572. DOI: 10.1016/j.mce.2022.111572.
30. Alruways MW. Impact of the exercise on the gut microbiota and short-chain fatty acids (SCFAs) production. *Progress in Nutrition*. 2023;25(1):e2023010. DOI: 10.23751/pn.v25i1.13614.
31. Silva YP, Bernardi A, Frozza RL. The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut – brain communication. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:25. DOI: 10.3389/fendo.2020.00025.
32. Mirzaei R, Bouzari B, Hosseini-Fard SR, Mazaheri M, Ahmadyousefi Y, Abdi M, et al. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in nervous system disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;139:111661. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111661.
33. Sun J, Ling Z, Wang F, Chen W, Li H, Jin J, et al. *Clostridium butyricum* pretreatment attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in mice via anti-oxidation and anti-apoptosis. *Neuroscience Letters*. 2016;613:30–35. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.12.047.
34. Haijes HA, Jans JJM, Tas SY, Verhoeven-Duif NM, van Hasselt PM. Pathophysiology of propionic and methylmalonic acidemias. Part 1, Complications. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2019;42(5):730–744. DOI: 10.1002/jimd.12129.
35. Scholl-Bürgi S, Sass JO, Zschocke J, Karall D. Amino acid metabolism in patients with propionic acidemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2012;35(1):65–70. DOI: 10.1007/s10545-010-9245-9.
36. 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.
37. Grüter T, Mohamad N, Rilke N, Blusch A, Sgodzai M, Demir S, et al. Propionate exerts neuroprotective and neuroregenerative effects in the peripheral nervous system. *PNAS*. 2023;120(4):e2216941120. DOI: 10.1073/pnas.2216941120.
38. 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.
39. Serger E, Luengo-Gutierrez L, Chadwick JS, Kong G, Zhou L, Crawford G, et al. The gut metabolite indole-3 propionate promotes nerve regeneration and repair. *Nature*. 2022;607(7919):585–592. DOI: 10.1038/s41586-022-04884-x.
40. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, et al. The gut microbiota influences blood – brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine*. 2014;6(263):263ra158. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009759.
41. Dinan TG, Cryan JF. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *The Journal of Physiology*. 2017;595(2):489–503. DOI: 10.1113/JP273106.
42. Hoyles L, Snelling T, Umlai U-K, Nicholson JK, Carding SR, Glen RC, et al. Microbiome – host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood – brain barrier. *Microbiome*. 2018;6:55. DOI: 10.1186/s40168-018-0439-y.
43. Ahmed SMU, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2017;1863(2):585–597. DOI: 10.1016/j.bbdis.2016.11.005.
44. Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, Donato R. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2018;1865(5):721–733. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2018.02.010.
45. Bachmann C, Colombo J-P, Berüter J. Short chain fatty acids in plasma and brain: quantitative determination by gas chromatography. *Clinica Chimica Acta*. 1979;92(2):153–159. DOI: 10.1016/0009-8981(79)90109-8.
46. Halestrap AP, Wilson MC. The monocarboxylate transporter family – role and regulation. *IUBMB Life*. 2012;64(2):109–119. DOI: 10.1002/iub.572.
47. Guo C, Huo Y-J, Li Y, Han Y, Zhou D. Gut – brain axis: focus on gut metabolites short-chain fatty acids. *World Journal of Clinical Cases*. 2022;10(6):1754–1763. DOI: 10.12998/wjcc.v10.i6.1754.
48. Thangaraju M, Cresci GA, Liu K, Ananth S, Gnanaprakasam JP, Browning DD, et al. GPR109a is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer Research*. 2009;69(7):2826–2832. DOI: 10.1158/0008-5472.can-08-4466.
49. Priyadarshini M, Kotlo KU, Dudeja PK, Layden BT. Role of short chain fatty acid receptors in intestinal physiology and pathophysiology. *Comprehensive Physiology*. 2018;8(3):1091–1115. DOI: 10.1002/cphy.c170050.
50. Emy D, Jaitin D, Hrabě de Angelis AL, Jaitin D, Wieghofer P, Staszewski O, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*. 2015;18(7):965–977. DOI: 10.1038/nn.4030.
51. Зубарева ОЕ, Мелик-Касумов ТБ. Ось кишечник – мозг и рецепторы, активируемые перекисными пролифераторами как факторы регуляции эпилептогенеза. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2021;57(4):273–288. DOI: 10.31857/s0044452921040070.
52. Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*. 2010;330(6004):622–627. DOI: 10.1126/science.1190614.
53. Gupta R, Ambasta RK, Kumar P. Pharmacological intervention of histone deacetylase enzymes in the neurodegenerative disorders. *Life Sciences*. 2020;243:117278. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117278.
54. González-Bosch C, Boorman E, Zunszain 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.
55. 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.
56. 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.

References

1. Черневская ЕА, Белобородова НВ. Микробиота кишечника при критических состояниях (обзор) = Gut microbiome in critical illness (review). *General Reanimatology*. 2018;14(5):96–119. Russian, English. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-96-119.
2. Kandsperger S, Brunner R, Rupprecht R, Baghai TC. Depressive Störungen in der Adoleszenz: aktuelle Studienlage zur Mikrobiota-Darm-Hirn-Achse. *Zeitschrift für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie*. 2023;51(6):419–428. DOI: 10.1024/1422-4917/a000917.
3. Derrien M, Collado MC, Ben-Amor K, Salminen S, de Vos WM. The mucin degrader *Akkermansia muciniphila* is an abundant resident of the human intestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(5):1646–1648. DOI: 10.1128/AEM.01226-07.

4. Barki N, Bolognini D, Börjesson U, Jenkins L, Riddell J, Hughes D, et al. Chemogenetics defines a short-chain fatty acid receptor gut – brain axis. *eLife*. 2022;11:e73777. DOI: 10.7554/eLife.73777.
5. Fock E, Parnova R. Mechanisms of blood – brain barrier protection by microbiota-derived short-chain fatty acids. *Cells*. 2023;12(4):657. DOI: 10.3390/cells12040657.
6. Gorlova EA. Microbiota and intellect. *University Therapeutic Journal*. 2021;3(2):39–47. Russian.
7. Kim Y-K, Shin C. The microbiota – gut – brain axis in neuropsychiatric disorders: pathophysiological mechanisms and novel treatments. *Current Neuropharmacology*. 2018;16(5):559–573. DOI: 10.2174/1570159X15666170915141036.
8. Ney L-M, Wipplinger M, Grossmann M, Engert N, Wegner VD, Mosig AS. Short chain fatty acids: key regulators of the local and systemic immune response in inflammatory diseases and infections. *Open Biology*. 2023;13(3):230014. DOI: 10.1098/rsob.230014.
9. Del Colle A, Israelyan N, Gross Margolis K. Novel aspects of enteric serotonergic signaling in health and brain – gut disease. *Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2020;318(1):G130–G143. DOI: 10.1152/ajpgi.00173.2019.
10. Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey JF 3rd, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *The FASEB Journal*. 2015;29(4):1395–1403. DOI: 10.1096/fj.14-259598.
11. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*. 2015;161(2):264–276. DOI: 10.1016/j.cell.2015.02.047.
12. Chen T, Long W, Zhang C, Liu S, Zhao L, Hamaker BR. Fiber-utilizing capacity varies in *Prevotella*-versus *Bacteroides*-dominated gut microbiota. *Scientific Reports*. 2017;7:2594. DOI: 10.1038/s41598-017-02995-4.
13. Rios-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de los Reyes-Gavilán CG, Salazar N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:185. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00185.
14. Venegas DP, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:277. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00277.
15. Blaak EE, Canfora EE, Theis S, Frost G, Groen AK, Mithieux G, et al. Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Beneficial Microbes*. 2020;11(5):411–455. DOI: 10.3920/BM2020.0057.
16. Chevalier AC, Rosenberger TA. Increasing acetyl-CoA metabolism attenuates injury and alters spinal cord lipid content in mice subjected to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neurochemistry*. 2017;141(5):721–737. DOI: 10.1111/jnc.14032.
17. Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiology Letters*. 2009;294(1):1–8. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01514.x.
18. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology*. 2017;19(1):29–41. DOI: 10.1111/1462-2920.13589.
19. Vital M, Howe AC, Tiedje JM. Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. *mBio*. 2014;5(2):e00889-14. DOI: 10.1128/mBio.00889-14.
20. Champ MMJ. Physiological aspects of resistant starch and *in vivo* measurements. *Journal of AOAC International*. 2004;87(3):749–755. PMID: 15287675.
21. Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K. The role of short-chain fatty acids in microbiota – gut – brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2019;16(8):461–478. DOI: 10.1038/s41575-019-0157-3.
22. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*. 2013;54(9):2325–2340. DOI: 10.1194/jlr.R036012.
23. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*. 1987;28(10):1221–1227. DOI: 10.1136/gut.28.10.1221.
24. Duncan SH, Barcenilla A, Stewart CS, Pryde SE, Flint HJ. Acetate utilization and butyryl coenzyme A (CoA):acetate-CoA transferase in butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002;68(10):5186–5190. DOI: 10.1128/AEM.68.10.5186-5190.2002.
25. Duncan SH, Holtrop G, Lobley GE, Calder AG, Stewart CS, Flint HJ. Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria. *British Journal of Nutrition*. 2004;91(6):915–923. DOI: 10.1079/BJN20041150.
26. Miller TL, Wolin MJ. Pathways of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996;62(5):1589–1592. DOI: 10.1128/aem.62.5.1589-1592.1996.
27. Buey B, Forcén A, Grasa L, Layunta E, Mesonero JE, Latorre E. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids: novel regulators of intestinal serotonin transporter. *Life*. 2023;13(5):1085. DOI: 10.3390/life13051085.
28. Killingsworth J, Sawmiller D, Shytle RD. Propionate and Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020;12:580001. DOI: 10.3389/fnagi.2020.580001.
29. O'Riordan KJ, Collins MK, Moloney GM, Knox EG, Aburto MR, Fülling C, et al. Short chain fatty acids: microbial metabolites for gut – brain axis signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2022;546:111572. DOI: 10.1016/j.mce.2022.111572.
30. Alruways MW. Impact of the exercise on the gut microbiota and short-chain fatty acids (SCFAs) production. *Progress in Nutrition*. 2023;25(1):e2023010. DOI: 10.23751/pn.v25i1.13614.
31. Silva YP, Bernardi A, Frozza RL. The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut – brain communication. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:25. DOI: 10.3389/fendo.2020.00025.
32. Mirzaei R, Bouzari B, Hosseini-Fard SR, Mazaheri M, Ahmadyousefi Y, Abdi M, et al. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in nervous system disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;139:111661. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111661.
33. Sun J, Ling Z, Wang F, Chen W, Li H, Jin J, et al. *Clostridium butyricum* pretreatment attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in mice via anti-oxidation and anti-apoptosis. *Neuroscience Letters*. 2016;613:30–35. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.12.047.
34. Haijes HA, Jans JJM, Tas SY, Verhoeven-Duif NM, van Hasselt PM. Pathophysiology of propionic and methylmalonic acidemias. Part I, Complications. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2019;42(5):730–744. DOI: 10.1002/jimd.12129.
35. Scholl-Bürgi S, Sass JO, Zschocke J, Karall D. Amino acid metabolism in patients with propionic acidemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2012;35(1):65–70. DOI: 10.1007/s10545-010-9245-9.
36. 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.

37. Grüter T, Mohamad N, Rilke N, Blusch A, Sgodzai M, Demir S, et al. Propionate exerts neuroprotective and neuroregenerative effects in the peripheral nervous system. *PNAS*. 2023;120(4):e2216941120. DOI: 10.1073/pnas.2216941120.
38. 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.
39. Serger E, Luengo-Gutierrez L, Chadwick JS, Kong G, Zhou L, Crawford G, et al. The gut metabolite indole-3 propionate promotes nerve regeneration and repair. *Nature*. 2022;607(7919):585–592. DOI: 10.1038/s41586-022-04884-x.
40. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, et al. The gut microbiota influences blood – brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine*. 2014;6(263):263ra158. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009759.
41. Dinan TG, Cryan JF. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *The Journal of Physiology*. 2017;595(2):489–503. DOI: 10.1113/JP273106.
42. Hoyles L, Snelling T, Umlai U-K, Nicholson JK, Carding SR, Glen RC, et al. Microbiome – host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood – brain barrier. *Microbiome*. 2018;6:55. DOI: 10.1186/s40168-018-0439-y.
43. Ahmed SMU, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2017;1863(2):585–597. DOI: 10.1016/j.bbdis.2016.11.005.
44. Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, Donato R. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2018;1865(5):721–733. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2018.02.010.
45. Bachmann C, Colombo J-P, Berüter J. Short chain fatty acids in plasma and brain: quantitative determination by gas chromatography. *Clinica Chimica Acta*. 1979;92(2):153–159. DOI: 10.1016/0009-8981(79)90109-8.
46. Halestrap AP, Wilson MC. The monocarboxylate transporter family – role and regulation. *IUBMB Life*. 2012;64(2):109–119. DOI: 10.1002/iub.572.
47. Guo C, Huo Y-J, Li Y, Han Y, Zhou D. Gut – brain axis: focus on gut metabolites short-chain fatty acids. *World Journal of Clinical Cases*. 2022;10(6):1754–1763. DOI: 10.12998/wjcc.v10.i6.1754.
48. Thangaraju M, Cresci GA, Liu K, Ananth S, Gnanaprakasam JP, Browning DD, et al. GPR109a is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer Research*. 2009;69(7):2826–2832. DOI: 10.1158/0008-5472.can-08-4466.
49. Priyadarshini M, Kotlo KU, Dudeja PK, Layden BT. Role of short chain fatty acid receptors in intestinal physiology and pathophysiology. *Comprehensive Physiology*. 2018;8(3):1091–1115. DOI: 10.1002/cphy.c170050.
50. Emy D, Jaitin D, Hrabě de Angelis AL, Jaitin D, Wieghofer P, Staszewski O, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*. 2015;18(7):965–977. DOI: 10.1038/nn.4030.
51. Zubareva OE, Melik-Kasumov TB. The gut – brain axis and peroxisome proliferator-activated receptors in the regulation of epileptogenesis. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii*. 2021;57(4):273–288. Russian. DOI: 10.31857/s0044452921040070.
52. Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*. 2010;330(6004):622–627. DOI: 10.1126/science.1190614.
53. Gupta R, Ambasta RK, Kumar P. Pharmacological intervention of histone deacetylase enzymes in the neurodegenerative disorders. *Life Sciences*. 2020;243:117278. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117278.
54. González-Bosch C, Boorman E, Zunszain 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.
55. 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.
56. 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.

Получена 31.08.2023 / исправлена 28.11.2023 / принята 22.12.2023.
Received 31.08.2023 / revised 28.11.2023 / accepted 22.12.2023.

ПЕРВАЯ НАХОДКА ПЧЕЛЫ-КОЛЛЕТИДЫ *HYLAEUS CORNUTUS* (CURTIS, 1831) НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

Д. О. КОРОТЕЕВА¹⁾

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

Приводится информация о первой регистрации пчелы *Hylaeus cornutus* (Curtis, 1831) семейства Colletidae (Hymenoptera, Apoidea) на территории Беларуси.

Ключевые слова: антофильные насекомые; Apoidea; Беларусь.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Природные ресурсы и окружающая среда» (подпрограмма 10.2 «Биоразнообразие, биоресурсы, экология», задание 10.2.02 «Проблемы биологических инвазий и паразитарных угроз в природных и антропогенно трансформированных экосистемах», подзадание 10.2.02.3 «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика»).

FIRST RECORD OF POLYESTER BEE *HYLAEUS CORNUTUS* (CURTIS, 1831) IN BELARUS

D. O. KOROTEEVA^a

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

The first record of the bee *Hylaeus cornutus* (Curtis, 1831) of the family Colletidae (Hymenoptera, Apoidea) in Belarus is given.

Keywords: anthophilous insects; Apoidea; Belarus.

Acknowledgements. The research was carried out within the framework of the state programme of scientific research «Natural resources and environment» (subprogramme 10.2 «Biodiversity, bioresources, ecology», assignment 10.2.02 «Problems of biological invasions and parasitic threats in natural and anthropogenically transformed ecosystems», sub-assignment 10.2.02.3 «Invasive phytopathogenic fungi, fungus-like organisms and invertebrate animals on cultivated and closely related wild plants: status in communities, distribution, diagnostics»).

Introduction

Hylaeus Fabricius, 1793 is a worldwide genus of small bees from the family Colletidae with almost non-existent pubescence and limited pale integumental markings on the head and thorax; females don't have a scopa, therefore pollen is carried internally in the crop along with liquid, which is considered to be a primitive fea-

Образец цитирования:

Коротеева Д.О. Первая находка пчелы-коллетиды *Hylaeus cornutus* (Curtis, 1831) на территории Беларуси. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;1:86–88 (на англ.).
EDN: WZZJLW

For citation:

Koroteeva DO. First record of polyester bee *Hylaeus cornutus* (Curtis, 1831) in Belarus. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024;1:86–88.
EDN: WZZJLW

Автор:

Дарья Олеговна Коротеева – старший преподаватель, младший научный сотрудник кафедры зоологии биологического факультета.

Author:

Daria O. Koroteeva, senior lecturer and junior researcher at the department of zoology, faculty of biology.
daryakoroteeva1996@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3010-6573>

ture [1, p. 192–200; 2]. The majority of species of the subfamily Hylaeinae are polylectic: they visit a variety of flowers to feed and collect pollen. Some species also show signs of oligo- and monolectism [1, p. 192–200; 3, p. 20–99].

Previously, 19 species of the genus *Hylaeus* were registered in Belarus¹.

Results

Hylaeus cornutus (Curtis, 1831) specimen was collected on *Solidago canadensis* L. inflorescence near Republican natural monument «Dubrava» (fig. 1) and put into entomological collection stored in the department of zoology of the faculty of biology of the Belarusian State University (Minsk, Belarus).

Hymenoptera

Colletidae: Hylaeinae

Hylaeus Fabricius, 1793

Hylaeus cornutus (Curtis, 1831)

Material. Belarus: Minsk, near Republican natural monument «Dubrava», 53°50'7.7" N, 27°28'39.2" E, 03.08.2021, 1♂, leg. R. O. Aleinik, det. D. O. Koroteeva.

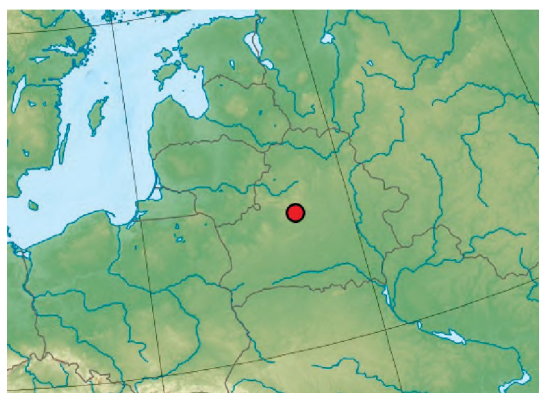


Fig. 1. Geographical location of *H. cornutus* registration in Belarus

Affiliation of collected specimen as species *H. cornutus* was confirmed due to a number of distinctive features described in different diagnostic keys [4, s. 40; 5]. Specifically, the most important diagnostic features for *H. cornutus* males include:

- 1) the 1st segment of the tarsus of the middle leg dilated at base (fig. 2);
- 2) face entirely black without any yellow areas (fig. 3);
- 3) scape is conically swollen, white or yellow (see fig. 3).



Fig. 2. The shape of the 1st segment of the tarsus of the middle leg



Fig. 3. Coloring of the face and antennae

¹Прищепчик О. В. Фауна и экология пчелиных (Hymenoptera, Apoidea) Минской возвышенности : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.09. Прилуки, 2000. 20 с.

Distribution. Europe (from Denmark, Great Britain and Spain on the west to Caucasus and Bashkortostan on the east; Eastern Europe to northern parts of Poland and Udmurtia), Northern Africa (from Morocco to Tunisia), Asia (Turkey, Palestine, Caucasus, Armenia, Azerbaijan, Northern Iran) [6; 7].

Библиографические ссылки

1. Michener CD. *The bees of the world*. 2nd edition. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 2007. XVI, 953 p.
2. Игнатенко ЕВ. Фауна и биология пчел рода *Hylaeus* Fabricius, 1793 (Hymenoptera: Colletidae) в Амурской области. *Амурский зоологический журнал*. 2012;4(1):61–68.
3. Радченко ВГ, Песенко ЮА. *Биология пчел (Hymenoptera, Apoidea) = Biology of bees (Hymenoptera, Apoidea)*. Медведев ГС, редактор. Санкт-Петербург: [б. и.]; 1994. 350 с.
4. Pawlikowski T, Celary W. *Klucze do oznaczania owadów Polski. Część XXIV, Blonkówki – Hymenoptera. Zeszyt 68a, Pszczolowate – Apidae*. Toruń: Polskie Towarzystwo Entomologiczne; 2003. 65 s.
5. Осычнюк АЗ, Панфилов ДВ, Пономарева АА, составители. Надсем. Apoidea – пчелиные. В: Медведев ГС, редактор. *Определитель насекомых европейской части СССР. Том 3, Перепончатокрылые. Часть 1*. Ленинград: Наука; 1978. с. 279–519 (Определители по фауне СССР, издаваемые Зоологическим институтом АН СССР; выпуск 119).
6. Левченко ТВ. Материалы по фауне пчел (Hymenoptera: Apoidea) Московской области. 1. Семейства Melittidae и Colletidae. В: Аникин ВВ, Арзанов ЮГ, Большаков ЛВ, Данилевский МЛ, Золотухин ВВ, Свиридов АВ и др., редакторы. *Эверсманния. Энтомологические исследования в России и соседних регионах. Выпуск 17–18 = Eversmannia. Entomological research in Russia and adjacent regions. Number 17–18*. Тула: Гриф и К; 2009. с. 27–43.
7. Belokobylskij SA, Lelej AS, editors. *Annotated catalogue of the Hymenoptera of Russia. Volume 1, Symphyta and Apocrita: Aculeata*. Saint Petersburg: Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences; 2017. 475 p. (Proceedings of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences; volume 321, supplement 6). DOI: 10.31610/trudyzin/2017.supl.6.5.

References

1. Michener CD. *The bees of the world*. 2nd edition. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 2007. XVI, 953 p.
2. Ignatenko EV. Fauna and natural history of bees from the genus *Hylaeus* Fabricius, 1793 (Hymenoptera: Colletidae) in Amurskaya oblast. *Amurian Zoological Journal*. 2012;4(1):61–68. Russian.
3. Radchenko VG, Pesenko YuA. *Biology of bees (Hymenoptera, Apoidea)*. Medvedev GS, editor. Saint Petersburg: [s. n.]; 1994. 350 p. Russian.
4. Pawlikowski T, Celary W. *Klucze do oznaczania owadów Polski. Część XXIV, Blonkówki – Hymenoptera. Zeszyt 68a, Pszczolowate – Apidae*. Toruń: Polskie Towarzystwo Entomologiczne; 2003. 65 s.
5. Osychnyuk AZ, Panfilov DV, Ponomareva AA, compilers. [Superfamily Apoidea – bees]. In: Medvedev GS, editor. *Opredeletel' nasekomykh evropeiskoi chasti SSSR. Tom 3, Pereponchatokrylye. Chast' 1* [Identification key for insects of the European part of the USSR. Volume 3, Hymenoptera. Part 1]. Leningrad: Nauka; 1978. p. 279–519 (Opredeleteli po faune SSSR, izdavaemye Zoologicheskim institutom AN SSSR; issue 119). Russian.
6. Levchenko TV. [Contributions to the fauna of bees (Hymenoptera: Apoidea) of Moscow Province. 1. Families Melittidae and Colletidae]. In: Anikin VV, Arzanov YuG, Bol'shakov LV, Danilevskii ML, Zolotukhin VV, Sviridov AV, et al., editors. *Eversmannia. Entomological research in Russia and adjacent regions. Number 17–18*. Tula: Grif i K; 2009. p. 27–43. Russian.
7. Belokobylskij SA, Lelej AS, editors. *Annotated catalogue of the Hymenoptera of Russia. Volume 1, Symphyta and Apocrita: Aculeata*. Saint Petersburg: Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences; 2017. 475 p. (Proceedings of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences; volume 321, supplement 6). DOI: 10.31610/trudyzin/2017.supl.6.5.

Received 29.12.2023 / revised 17.01.2024 / accepted 18.01.2024.

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

УДК 502.171:502.211:582(075.8) + 502.171:502.211:592/599(075.8)

Нестерова О. Л. Растительные и животные ресурсы, рациональное использование, охрана [Электронный ресурс] : электрон. учеб.-метод. комплекс с креативным компонентом для спец. 1-33 01 01 «Биоэкология» / О. Л. Нестерова, А. В. Кручонок ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2023. 179 с. Библиогр.: с. 176–179. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/303685>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 24.10.2023, № 009124102023.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК), предназначенный для студентов специальности 1-33 01 01 «Биоэкология», включает в себя разделы: теоретический, контроля знаний и вспомогательный, содержащий учебно-программные материалы и список рекомендованной литературы. Курс «Растительные и животные ресурсы, рациональное использование, охрана» предполагает изучение общих вопросов, касающихся ресурсной базы в нашей стране, использования растений и животных в хозяйстве человека, законодательной базы промысла и охраны. Специальные разделы ЭУМК посвящены характеристике важнейших сельскохозяйственных и промысловых видов живых организмов Беларуси.

УДК 57.08(075.8)

Мацкевич В. С. Флуоресцентный и люминесцентный биоимиджинг [Электронный ресурс] : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 1-31 80 01 «Биология», профилизация «Функциональная биология» / В. С. Мацкевич, С. Н. Звонарёв ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2023. 42 с. : ил. Библиогр.: с. 42. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/304495>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 13.11.2023, № 009813112023.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов 2-й ступени высшего образования специальности 1-31 80 01 «Биология» (профилизация «Функциональная биология»). Содержание ЭУМК посвящено формированию у студентов целостной системы знаний о биоимиджинге, современных подходах к визуализации живых систем *in vitro* и *in vivo*, основанных на явлениях флуоресценции и биолюминесценции.

УДК 57.08(075.8)

Безопасность жизнедеятельности человека [Электронный ресурс] : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец.: 7-07-0533-01 «Фундаментальная физика», 7-07-0533-02 «Ядерная физика и технологии», 6-05-0533-02 «Прикладная физика», 6-05-0533-04 «Компьютерная физика» / БГУ ; сост.: О. Д. Бичан, Л. К. Герасимова. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2023. 192 с. : ил. Библиогр.: с. 185–192. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/306891>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 19.12.2023, № 011519122023.

Электронный учебно-методический комплекс содержит набор материалов, которые используются в учебном процессе: учебную программу, учебные пособия, включающие лекционный и практический материал по дисциплине, тематику и планы семинарских и практических занятий, теоретические вопросы и тесты для контроля знаний, темы для написания рефератов, вопросы для подготовки к зачету, список рекомендуемой литературы.

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Гапеева Т. А. Искусственные клетки как биотехнологические устройства, имитирующие параметры природных клеток.....	4
---	---

ФИЗИОЛОГИЯ И КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ

Гаврилова-Максимчик С. О. Комплексная оценка диагностической значимости определения уровня сывороточного цистатина С у спортсменов циклических видов спорта в тренировочном процессе.....	19
---	----

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Мандрик М. И., Охремчук А. Э., Валентович Л. Н., Трушилс Э. В., Ларченко А. Ю., Василенко С. Л. Характеристика генетических локусов, определяющих деградацию фенола, в геноме бактерий штамма <i>Rhodococcus pyridinivorans</i> 5Ar	27
---	----

БИОРАЗНООБРАЗИЕ

Федюшко И. А., Храпцов А. К. Морфолого-биологическая характеристика и распространение мучнисторосяного гриба <i>Erysiphe circaeae</i> L. Junell в Беларуси.....	41
---	----

ЗООЛОГИЯ

Нестерова О. Л., Воронова Н. В., Дворникова А. А. Фенетический анализ изменчивости жилкования крыльев в белорусских популяциях <i>Altica oleracea</i> (Linnaeus, 1758) (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae).....	54
--	----

ЭКОЛОГИЯ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЕ

Адамович Б. В., Михеева Т. М., Ковалевская Р. З., Жукова Т. В., Дубко Н. В., Никитина Л. В., Макаревич О. А., Макаревич Т. А., Савич И. В., Верес Ю. К., Селивончик И. Н., Крюк Д. В. База данных гидроэкологического мониторинга Нарочанских озер (Беларусь).....	66
--	----

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Люля А. С., Федорович С. В. Роль короткоцепочечных жирных кислот в функционировании оси микробиота – кишечник – головной мозг	77
---	----

Коротеева Д. О. Первая находка пчелы-коллетиды <i>Hylaeus cornutus</i> (Curtis, 1831) на территории Беларуси.....	86
---	----

Аннотации депонированных в БГУ работ.....	89
---	----

CONTENTS

REVIEWS

<i>Gapeeva T. A.</i> Artificial cells as biotechnological devices that mimic the parameters of natural cells	4
--	---

PHYSIOLOGY AND CELL BIOLOGY

<i>Gavrilova-Maksimchik S. O.</i> Comprehensive assessment of the diagnostic significance of determining serum cystatin C level in athletes of cyclic sports during the training process	19
--	----

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

<i>Mandryk M. I., Akhremchuk A. E., Valentovich L. N., Trushlis E. V., Larchenka A. Yu., Vasylenko S. L.</i> Characteristics of phenol degradation genetic loci in the genome of bacteria <i>Rhodococcus pyridinivorans</i> strain 5Ap	27
--	----

BIODIVERSITY

<i>Fiadziushka I. A., Khramtsov A. K.</i> Morphological and biological characteristics and distribution of the powdery mildew fungus <i>Erysiphe circaeae</i> L. Junell in Belarus	41
--	----

ZOOLOGY

<i>Nesterova O. L., Voronova N. V., Dvornikova A. A.</i> Phenetic analysis of wing venation variability in Belarusian populations of the <i>Altica oleracea</i> (Linnaeus, 1758) (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae)	54
---	----

ECOLOGY AND CONSERVANCY

<i>Adamovich B. V., Mikheeva T. M., Kovalevskaya R. Z., Zhukova T. V., Dubko N. V., Nikitina L. V., Makarevich O. A., Makarevich T. A., Savich I. V., Veres Yu. K., Selivonchik I. N., Kruk D. V.</i> The database of hydroecological monitoring of the Narochanskies lakes (Belarus)	66
---	----

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Lyulya A. S., Fedorovich S. V.</i> The short-chain fatty acids and their role in the microbiota – gut – brain axis	77
<i>Koroteeva D. O.</i> First record of polyester bee <i>Hylaeus cornutus</i> (Curtis, 1831) in Belarus	86
Indicative abstracts of the papers deposited in BSU	89

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. 2024**

Учредитель:
Белорусский государственный университет

Юридический адрес: пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск, Республика Беларусь.
Почтовый адрес: пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск, Республика Беларусь.
Тел. (017) 259-70-74, (017) 259-70-75.
E-mail: 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. Пшикова*
Корректор *Л. А. Меркуль*

Подписано в печать 29.02.2024.
Тираж 70 экз. Заказ 252.

Республиканское унитарное предприятие
«СтройМедиаПроект».
ЛП № 02330/71 от 23.01.2014.
Ул. В. Хоружей, 13/61, 220123,
г. Минск, Республика Беларусь.

© БГУ, 2024

**Experimental Biology
and Biotechnology.
No. 1. 2024**

Founder:
Belarusian State University

Registered address: 4 Niezaliezhnasci Ave.,
Minsk 220030, Republic of Belarus.
Correspondence address: 4 Niezaliezhnasci Ave.,
Minsk 220030, Republic of Belarus.
Tel. (017) 259-70-74, (017) 259-70-75.
E-mail: 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 29.02.2024.
Edition 70 copies. Order number 252.

Republic Unitary Enterprise
«StroiMediaProekt».
License for publishing No. 02330/71, 23 January, 2014.
13/61 V. Haruzhaj Str.,
Minsk 220123, Republic of Belarus.

© BSU, 2024