



БЕЛОРУССКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

EXPERIMENTAL BIOLOGY and BIOTECHNOLOGY

Издается с января 1969 г.
(с 1969 по 2016 г. – под названием
«Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География»,
с 2017 по 2021 г. – под названием
«Журнал Белорусского государственного университета. Биология»)
Выходит три раза в год

1

2025

МИНСК
БГУ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор **ХРУСТАЛЁВ В. В.** – доктор биологических наук, доцент; декан биологического факультета Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь.
E-mail: khrustalevvv@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.
Гельтман Д. В. Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия.
Гурин А. В. Университетский колледж Лондона, Лондон, Великобритания.
Демидчик В. В. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь.
Кильчевский А. В. Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.
Костюк В. А. Белорусский государственный университет, 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.
Решетников В. Н. Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь.
Семак И. В. Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
Стржалка К. Ягеллонский университет, Краков, Польша.
Усанов С. А. Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.
Чубанов В. С. Институт фармакологии и токсикологии им. Вальтера Штрауба Мюнхенского университета им. Людвига и Максимилиана, Мюнхен, Германия.
Шабала С. Н. Университет Тасмании, Хобарт, Австралия.
Ю Мин Международный исследовательский центр экологической биологии мембран Фошаньского университета, Фошань, Китай.

EDITORIAL BOARD

Editor-in-chief	KHRUSTALEV V. V. , doctor of science (biology), docent; dean of the faculty of biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: khrustalevvv@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.
Demidchik V. V.	V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
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.
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.
Reshetnikov V. N.	Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
Semak I. V.	Belarusian State University, Minsk, Belarus.
Shabala S. N.	University of Tasmania, Hobart, Australia.
Strzalka K.	Jagiellonian University, Kraków, Poland.
Usanov S. A.	National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
Yu Min	International Research Centre for Environmental Membrane Biology, Foshan University, Foshan, China.

УДК 615.322 + 615.017

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ОСМАНТУСА ДУШИСТОГО (*OSMANTHUS FRAGRANS*) НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО АЛКОГОЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ *in vivo*

О. И. ГУБИЧ¹⁾, А. П. ШПАК¹⁾

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

Аннотация. Проанализирована возможность стабилизации препаратом османтуса душистого (*Osmanthus fragrans*) величин биохимических маркеров поражения печени и перекисного окисления липидов у крыс в экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации. Установлено, что отвар османтуса душистого оказывает антиоксидантное и гепатопротекторное действие на крыс с экспериментальным алкогольным поражением печени, превосходящее эффект препарата сравнения – аптечного гепатопротекторного фитосбора «Фитолекарь для печени». Так, введение в рацион животных с алкогольным поражением печени анализируемого отвара на 20 сут способствовало уменьшению содержания ТБК-активных продуктов в гомогенате их печени на 75,5 % и увеличению уровня SH-групп на 129,3 % по сравнению с аналогичными показателями крыс, страдавших указанной экспериментальной патологией, но не получавших препарат, и сопровождалось тенденцией к повышению активности каталазы. Снижение интенсивности перекисных процессов в печени, в свою очередь, обеспечило нормализацию величин биохимических маркеров поражения печени, таких как концентрация общего билирубина и альбумина, активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в сыворотке крови подопытных животных. Указанные эффекты могут быть обусловлены высоким содержанием в составе османтуса душистого биофлавоноидов, фенольных кислот, витаминов группы Е, ненасыщенных жирных кислот и ионов, проявляющих антиоксидантные свойства.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация; гепатопротекция; перекисное окисление липидов; османтус душистый; антиоксидантное действие.

Образец цитирования:

Губич ОИ, Шпак АП. Изучение гепатопротекторных и антиоксидантных свойств османтуса душистого (*Osmanthus fragrans*) на экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени *in vivo*. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:4–11.
EDN: XDJBMU

For citation:

Hubich AI, Shpak AP. The investigation of hepatoprotective and antioxidant properties of *Osmanthus fragrans* on experimental model of chronic alcoholic liver damage *in vivo*. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:4–11. Russian.
EDN: XDJBMU

Авторы:

Оксана Игоревна Губич – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры биохимии биологического факультета.
Антон Павлович Шпак – студент биологического факультета. Научный руководитель – О. И. Губич.

Authors:

Aksana I. Hubich, PhD (biology), docent; associate professor at the department of biochemistry, faculty of biology.
hubich_oksana@tut.by
Anton P. Shpak, student at the faculty of biology.
s_anthony_p@vk.com

THE INVESTIGATION OF HEPATOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF *OSMANTHUS FRAGRANS* ON EXPERIMENTAL MODEL OF CHRONIC ALCOHOLIC LIVER DAMAGE *in vivo*

A. I. HUBICH^a, A. P. SHPAK^a

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

Corresponding author: A. I. Hubich (hubich_oksana@tut.by)

Abstract. The possibility of *Osmanthus fragrans* decoctions to stabilise the values of biochemical markers of liver damage and lipid peroxidation in rats on an experimental model of chronic alcohol intoxication was analysed. It was found that *Osmanthus fragrans* decoction has the antioxidant and hepatoprotective effects on rats with experimental alcoholic liver damage, exceeding the effect of the comparison drug – the pharmacy hepatoprotective herbal collection «Phytolekar dlya pecheni» («Phytolekar for liver»). The introduction of the analysed decoction into the diet of animals with alcoholic liver damage for 20 days contributed to a decrease in TBA-active products content in their liver homogenate by 75.5 % and an increase in SH-groups level by 129.3 % compared to similar indicators of rats suffering from this experimental pathology but not receiving the drug and was accompanied by a tendency to an increase of catalase activity. A decrease in peroxidation processes intensity in the liver, in turn, ensured normalisation of the biochemical markers of liver damage such as concentration of total bilirubin and albumin, activity of alanine aminotransferase and alkaline phosphatase in the experimental animals serum. These effects may be due to the high content of bioflavonoids, phenolic acids, vitamins of group E, unsaturated fatty acids and ionones in the composition of *Osmanthus fragrans*, which exhibit antioxidant properties.

Keywords: chronic alcohol intoxication; hepatoprotection; lipid peroxidation; *Osmanthus fragrans*; antioxidant effect.

Введение

На сегодняшний день основным способом терапии пациентов с алкогольной болезнью печени (АБП) независимо от стадии заболевания является длительное алкогольное воздержание, которое сопровождается достоверным улучшением большинства регистрируемых клинических показателей, однако конечный результат целиком определяется стадией АБП и тяжестью ее протекания. В литературе описаны случаи достижения у некоторых пациентов состояния полной компенсации, характеризующегося нормализацией данных лабораторных тестов и уменьшением повреждения печени. Вместе с тем подавляющему числу пациентов требуется фармакологическая поддержка [1; 2].

К основным препаратам, применяемым при лечении АБП, относятся кортикостероиды (обеспечивают противовоспалительный эффект), N-ацетилцистеин (улучшает краткосрочную выживаемость пациентов с алкогольным гепатитом тяжелого течения), S-аденозилметионин (снижает интенсивность перекисных процессов, индуцируемых этанолом), эссенциальные фосфолипиды (способствуют восстановлению поврежденных мембран гепатоцитов) [3; 4].

Ряд специалистов отмечают необходимость использования поддерживающей терапии, в качестве которой может выступать применение фитопрепаратов, в том числе комбинированных. Будучи более биобезопасными и обладая единичными противопоказаниями, они полностью соответствуют стремлению многих пациентов лечиться натуральными средствами. Среди наиболее известных фитопрепаратов, уже достаточно хорошо зарекомендовавших себя и широко используемых в качестве гепатопротекторов, нельзя не упомянуть препараты на основе экстракта семян расторопши пятнистой, дымянки лекарственной, зверобоя продырявленного и др. [2]. Поиск новых эффективных гепатопротекторных средств растительного происхождения продолжается.

Настоящая работа посвящена исследованию гепатопротекторных свойств отвара османтуса душистого (*Osmanthus fragrans*) (семейство маслиновых (Oleaceae)), произрастающего преимущественно в Восточной и Юго-Восточной Азии. Цветки данного декоративного кустарника, содержащие производные теаспирана и ионона (цис-жасмон, различные γ -лактоны и γ -декалактоны), широко используются для ароматизации чая (придают ему персиково-абрикосовые ноты), а также в парфюмерии и косметологии. В китайской народной медицине отвары османтуса душистого издавна применяли в качестве антиоксидантного, противовоспалительного и отхаркивающего средства [5; 6].

Анализ химического состава цветков османтуса душистого, проведенный в 2022 г., позволил установить наличие в них биофлавоноидов (дигидрокверцетин, лютеолин, нарингенин, диосметин, астилбин), терпенов (олеозид), фенольных кислот, витаминов группы E, ненасыщенных жирных кислот, ионов

и других природных антиоксидантов. Именно с этими соединениями большинство специалистов связывают проявление отварами и экстрактами данного растения как вышеупомянутых лечебных свойств, так и недавно выявленной противораковой, противовоспалительной, антибактериальной и кардиопротекторной активности [7].

Способность отваров османтуса душистого предотвращать этанолзависимое повреждение гепатоцитов в условиях хронической алкоголизации организма ранее не изучалась. Данный факт, а также весьма перспективный химический состав этого растения послужили основанием для анализа его защитных свойств в экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени *in vivo*.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на белых крысах-самцах линии Wistar массой 180–200 г. Все эксперименты осуществлялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, а также правилами проведения работ с использованием лабораторных животных в научных исследованиях, составленными на основании рекомендаций и требований Всемирного общества защиты животных и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

В работе применялись коммерческий препарат сухих измельченных цветков османтуса душистого (ООО «Тишопбай», Беларусь) и препарат сравнения – аптечный фитосбор «Фитолекарь для печени» (ООО «Аптекарьский сад», Беларусь), в состав которого входили цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla*), цветки календулы лекарственной (*Calendula officinalis*), листья крапивы двудомной (*Urtica dioica*), листья мяты перечной (*Mentha piperita*), плоды фенхеля обыкновенного (*Foeniculum vulgare*), трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) и трава тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*). Отвар османтуса душистого готовили из расчета 1 г сухого сырья на 100 мл горячей (90 °C) воды и настаивали 10 мин с последующим процеживанием. Приготовление отвара фитосбора осуществляли в соответствии с прилагающейся инструкцией (1 фильтр-пакет (1,7 г) на 200 мл горячей (90 °C) воды, время настаивания 10 мин).

Для создания экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени лабораторным крысам, имеющим предрасположенность к алкоголизму, на протяжении 4 нед. ежедневно перорально с помощью пипетки вводили 50 % этанол в дозе 3 г на 1 кг массы тела.

По истечении указанного времени животных выводили из эксперимента путем декапитации и выполняли измерение величин основных биохимических маркеров изучаемой патологии и параметров, характеризующих интенсивность протекания перекисных процессов. Определение активности аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, концентрации общего билирубина, альбумина и триацилглицеринов проводили с помощью коммерческих наборов реагентов (научно-технический производственный кооператив «Анализ Х», Беларусь). Активность каталазы измеряли ранее описанным способом¹, содержание ТБК-активных продуктов определяли спектрофотометрическим методом [8], а уровень восстановленных SH-групп – методом Элмана [9].

Далее осуществляли статистическую обработку экспериментальных данных с вычислением среднего арифметического ($\bar{X}$), стандартной ошибки среднего арифметического ($\pm S_x$) и достоверности различий при уровне значимости $p \leq 0,05$. Для статистических расчетов использовали лицензионный пакет программ *Stadia* (версия 6.0).

Результаты и их обсуждение

Общеизвестно, что около 90 % введенного в организм этанола метаболизируется в печени. В его обезвреживании задействованы несколько биохимических путей, локализованных в гепатоцитах и предполагающих участие алкогольдегидрогеназы, цитохрома P₄₅₀2E1 и каталазной системы. Активное функционирование этих ферментов сопровождается избыточным накоплением НАДН, что приводит к усилению синтеза жирных кислот и снижению их β -окисления в митохондриях печени. В результате нарушаются структурно-функциональные характеристики клеточных мембран гепатоцитов (уменьшается их текучесть и увеличивается проницаемость, изменяются антигенные свойства), снижается функциональная активность митохондрий. Кроме того, образующийся из этанола ацетальдегид тормозит окислительное дезаминирование аминокислот, ингибирует синтез альбумина и структурных белков. Параллельно с этим наблюдается активация перекисного окисления липидов, связанная с истощением пула основного внутриклеточного антиоксиданта – глутатиона. Действие ацетальдегида и усиление продукции активных форм кислорода приводят к структурным модификациям внутриклеточных белков с изменением их антигенных

¹Биоэнергетика. Практикум : учеб.-метод. пособие для студентов учреждений высш. образования, обучающихся по специальностям 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)», 1-31 01 02 «Биохимия» / Белорус. гос. ун-т ; сост. О. И. Губич. Минск : БГУ, 2016. 87 с.

свойств, что может запускать аутоиммунные реакции, которые лежат в основе прогрессирования АБП даже в случае прекращения приема этанола. Наблюдаемая в этих условиях гиперпродукция провоспалительных цитокинов играет ключевую роль в трансформации алкогольного стеатоза в алкогольный стеатогепатит. Возможно и непосредственное воздействие ацетальдегида на звездчатые клетки печени, обуславливающее их превращение в миофибробласты, что является основным этапом активации фиброгенеза в печени. Таким образом, хроническая алкоголизация неизбежно приводит к нарушению всех структурно-функциональных параметров печени [10–12].

Вместе с тем стоит отметить, что этанол может вызывать значительное повреждение печени без проявления каких-либо симптомов или признаков заболевания этого органа. Данный факт объясняет важность проведения лабораторных тестов для диагностики степени алкогольного повреждения печени, среди которых ключевое значение имеет сывороточная активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы. Для дифференциальной диагностики АБП (алкогольный стеатоз, алкогольный гепатит, алкогольный цирроз) рекомендуется также определять концентрацию триацилглицеринов, альбумина и билирубина² [13; 14].

Все вышесказанное легло в основу количественной оценки гепатотоксического действия этанола в экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени *in vivo*.

Исходя из полученных данных (табл. 1), индуцированная хроническая алкоголизация привела к изменению всех анализируемых маркеров в сыворотке крови подопытных животных.

Таблица 1

**Влияние отваров османтуса душистого
и аптечного фитосбора «Фитолекарь для печени»
на сывороточные маркеры поражения печени интактных крыс
и животных с экспериментальной алкогольной интоксикацией**

Table 1

**The effect of *Osmanthus fragrans*
and pharmacy herbal collection «Phytolekar dlya pecheni» («Phytolekar for liver»)
decoctions on the liver damage serum markers of intact rats and animals
with experimental alcohol intoxication**

Серия	Концентрация общего билирубина, мкмоль/л	Активность аланинамино- трансферазы, МЕ/л	Активность щелочной фосфатазы, МЕ/л	Концентрация триацилглицеринов, ммоль/л	Концентрация альбумина, г/л
Интактные крысы	13,9 ± 2,3	10,5 ± 1,2	114,6 ± 12,3	2,8 ± 0,9	36,7 ± 7,8
Животные с экспериментальной АБП	28,6 ± 1,9*	32,8 ± 5,6*	175,2 ± 25,1*	2,7 ± 0,2	4,0 ± 0,4*
Интактные крысы, получавшие отвар османтуса душистого	14,1 ± 3,7	10,5 ± 2,4	132,9 ± 22,4	4,0 ± 0,9*	25,5 ± 3,6
Интактные крысы, получавшие отвар фитосбора «Фитолекарь для печени»	12,1 ± 1,1	17,5 ± 1,0*	158,4 ± 31,2*	3,2 ± 1,1	39,6 ± 1,7
Животные с экспериментальной АБП, получавшие отвар османтуса душистого	11,4 ± 0,9**	9,8 ± 0,6**	129,1 ± 9,3**	2,7 ± 0,3**	44,9 ± 6,4**
Животные с экспериментальной АБП, получавшие отвар фитосбора «Фитолекарь для печени»	11,7 ± 2,1**	27,9 ± 3,6**	206,8 ± 13,5	3,1 ± 0,5	34,7 ± 2,5**

Примечания: 1. Данные представлены в виде $X \pm S_x$. 2. Знаком * отмечены достоверные различия по отношению к контролю (интактные крысы), а знаком ** – достоверные различия по отношению к опытной группе (животные с экспериментальной АБП) при $p \leq 0,05$ ($n = 5$ для каждой серии).

²Шоломицкая И. А., Капранов Н. В. Алкогольная болезнь печени : учеб.-метод. пособие. Минск : Белорус. гос. мед. ун-т, 2015. 28 с.

Хроническое введение этанола лабораторным крысам предсказуемо привело к увеличению активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови на 212,4 % по сравнению с таковой в сыворотке крови контрольной группы животных, что согласуется с данными литературы, в соответствии с которыми оценка активности данного фермента является надежным скрининговым инструментом анализа состояния печени (синдрома цитолиза). Аланинаминотрансфераза локализуется преимущественно в цитозоле гепатоцитов, поэтому увеличение ее активности очень характерно для поражения непосредственно печеночной ткани – разрушения гепатоцитов или повышения проницаемости их плазматических мембран [15]. Концентрация общего билирубина в сыворотке крови достоверно повышалась на фоне роста активности щелочной фосфатазы (+52,9 % к контролю), что является подтверждением развития у подопытных животных холестатического синдрома [16]. Наблюдаемое значительное уменьшение содержания альбумина, согласно работам [17; 18], отражает хронизацию развивающегося в гепатоцитах патологического процесса и указывает на снижение синтетической функции печени. Отсутствие достоверных изменений концентрации триацилглицеринов в сыворотке крови животных с АБП согласуется с представленными в статьях [19; 20] данными, в соответствии с которыми на фоне хронической алкогольной интоксикации отмечаются своеобразные изменения липидного обмена, такие как увеличение содержания липопротеинов высокой плотности, уменьшение содержания липопротеинов низкой и очень низкой плотности, а также триацилглицеринов, что создает картину мнимого благополучного состояния у людей. Таким образом, полученные результаты подтверждают развитие у подопытных животных АБП.

Следующий этап работы был посвящен сравнительному анализу эффективности гепатопротекторного действия отваров османтуса душистого и аптечного фитосбора «Фитолекарь для печени» в используемой экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени. В соответствии с существующими рекомендациями по фитотерапии³ анализируемые отвары вводили в рацион лабораторных крыс с экспериментально подтвержденной АБП на 20 сут вместо питьевой воды при исключении из употребления этанола.

По истечении указанного времени оценивалось изменение значений сывороточных маркеров печеночной патологии, анализируемых в настоящей работе. Как свидетельствуют полученные данные, 20-дневная поддерживающая терапия с использованием отвара османтуса душистого позволила стабилизировать состояние печени подопытных животных. Так, активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, равно как и концентрация триацилглицеринов и общего билирубина, достигла значений, статистически неотличимых от значений аналогичных параметров интактных крыс, наблюдалось полное восстановление альбуминсинтезирующей функции печени.

Примечательно, что гепатопротекторное действие османтуса душистого по ряду показателей (активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы) превосходило аналогичный эффект аптечного препарата сравнения (см. табл. 1). Необходимо особо отметить отсутствие достоверного влияния отвара османтуса душистого на определяемые сывороточные маркеры интактных крыс (за исключением концентрации триацилглицеринов) при продолжительном приеме, что свидетельствует о его безопасности как потенциального фитопрепарата гепатопротекторного спектра.

При использовании отвара аптечного фитосбора «Фитолекарь для печени» выявлены достоверные изменения активности аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, что может быть результатом длительного воздействия на гепатоциты биологически активных компонентов входящего в состав данного сбора зверобоя продырявленного [21].

Последний этап работы был посвящен установлению механизма наблюдаемой гепатопротекции. Известно, что важнейшей причиной алкогольного повреждения печени является генерация активных форм кислорода с последующим развитием окислительного стресса [22]. Именно продукты перекисного окисления липидов, как свидетельствуют данные доступной литературы, нарушают работу электрон-транспортной цепи митохондрий, стимулируют развитие гипоксии, активируют фибробласты, которые, в свою очередь, вызывают синтез коллагена и возникновение фиброза печени. Кроме того, они потенцируют прямое воздействие этанола на фосфолипиды мембран гепатоцитов, цитокиногенез (интерлейкин-1 и интерлейкин-6, фактор некроза опухолей α), подавляют репарацию ДНК, активируют систему комплемента, индуцируя воспалительные реакции в печени. Наконец, именно продукты перекисного окисления липидов обуславливают нарушение образования НАДФН, снижая уровень глутатиона и редокс-потенциал клетки и усиливая окислительное повреждение ткани печени [23]. Ряд авторов отмечают важную роль ацетальдегида и активных форм кислорода в инициации алкогольиндуцированного канцерогенеза в печени, поскольку они способствуют образованию аддуктов ДНК, препятствуя процессам метилирования и репарации ДНК и повышая вероятность развития гепатоцеллюлярной карциномы [24].

³Фитотерапия: нормативные документы : учеб.-метод. пособие / под общ. ред. А. А. Карпеева, Т. А. Киселевой. М. : Изд-во ФНКЭЦ ТМДЛ Росздрава, 2006. С. 9–42.

С другой стороны, в настоящее время установлено, что полифенолы растений, а также некоторые их нефенольные компоненты, как и богатые антиоксидантами растительные фракции, активируют систему антиоксидантной защиты от повреждения печени, вызванного этанолом, снижая окислительный стресс и гибель клеток. Кроме того, отдельные компоненты растений влияют на функционирование цитохрома P₄₅₀2E1, с повышением активности которого сопряжены увеличение генерации активных форм кислорода, таких как пероксид водорода, супероксид-анион-радикал, гидроксид-радикал, и инициация перекисного окисления липидов [18]. Например, содержащийся в цветной капусте и брокколи сульфорафан предотвращает острое повреждение печени этанолом у лабораторных мышей за счет активации транскрипционного фактора Nrf2, регулирующего экспрессию многих антиоксидантных ферментов без влияния на экспрессию цитохрома P₄₅₀2E1 [25], а содержащийся в классическом растительном гепатопротекторе расторопше пятнистой (*Silybum marianum*) кверцетин уменьшает вызванное этанолом повреждение печени в экспериментах на животных посредством активации антиоксидантных ферментов, повышения уровня восстановленного глутатиона и снижения активности цитохрома P₄₅₀2E1 [26].

Принимая во внимание все вышеизложенные факты, а также описанное в литературе высокое содержание в препаратах османтуса душистого соединений, обладающих антиоксидантной активностью (биофлавоноиды (дигидрокверцетин, лютеолин, нарингенин, диосметин, астилбин), фенольные кислоты, витамины группы E, ненасыщенные жирные кислоты и др.) [7], была выдвинута нулевая гипотеза о возможности реализации гепатопротекторного действия отвара османтуса душистого посредством снижения интенсивности перекисного окисления липидов в гепатоцитах печени и усиления активности одного из ключевых ферментов антиоксидантной защиты клеток – каталазы.

Как свидетельствуют представленные в табл. 2 данные, ежедневное употребление этанола крысами на протяжении 4 нед. приводит к снижению уровня восстановленных SH-групп в 2,78 раза и увеличению концентрации ТБК-активных продуктов в 2,35 раза по сравнению с аналогичными показателями интактных животных, а также к достоверному повышению активности каталазы. Полученные результаты хорошо согласуются с данными литературы и подтверждают, что хроническое употребление спирта нарушает работу ферментативного звена антиоксидантной системы печени, истощает пул восстановленного глутатиона и приводит к образованию малонового диальдегида и 4-гидрокси-2-ноненаля [27].

Таблица 2

Влияние отваров османтуса душистого и аптечного фитосбора «Фитолекарь для печени» на показатели перекисного окисления липидов и активность каталазы в гомогенате печени интактных крыс и животных с экспериментальной алкогольной интоксикацией

Table 2

The effect of *Osmanthus fragrans* and pharmacy herbal collection «Phytolekar dlya pecheni» («Phytolekar for liver») decoctions on lipid peroxidation markers and catalase activity of intact rats and animals with experimental alcohol intoxication

Серия	Содержание SH-групп, мкмоль/л	Содержание ТБК-активных продуктов, мкмоль/л	Активность каталазы, ммоль H ₂ O ₂ /мин
Интактные крысы	26,7 ± 3,4	0,49 ± 0,07	1,42 ± 0,04
Животные с экспериментальной АБП	9,6 ± 2,1*	1,15 ± 0,04*	1,68 ± 0,07*
Интактные крысы, получавшие отвар османтуса душистого	32,2 ± 5,1	0,63 ± 0,12	1,50 ± 0,05
Интактные крысы, получавшие отвар фитосбора «Фитолекарь для печени»	41,6 ± 8,2*	0,82 ± 0,12*	1,98 ± 0,12*
Животные с экспериментальной АБП, получавшие отвар османтуса душистого	44,1 ± 8,3**	0,78 ± 0,18**	1,86 ± 0,24**
Животные с экспериментальной АБП, получавшие отвар фитосбора «Фитолекарь для печени»	28,7 ± 2,1**	0,88 ± 0,14**	2,21 ± 0,16**

Примечания: 1. Данные представлены в виде $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$. 2. Знаком * отмечены достоверные различия по отношению к контролю (интактные крысы), а знаком ** – достоверные различия по отношению к опытной группе (животные с экспериментальной АБП) при $p \leq 0,05$ ($n = 5$ для каждой серии).

С другой стороны, ежедневное употребление в течение 20 сут отвара османтуса душистого животными с хронической алкогольной интоксикацией обеспечивает стабилизацию анализируемых параметров: содержание SH-групп увеличилось на 129,3 %, а уровень ТБК-активных продуктов снизился на 75,5 % по сравнению с аналогичными показателями животных с АБП, не получавших данный отвар, что может быть обусловлено высокой концентрацией в этом растении биофлавоноидов, ненасыщенных жирных кислот, токоферолов, фенольных кислот и ионов, проявляющих антиоксидантные свойства. Активность каталазы оставалась высокой (на 30,0 % выше уровня интактных животных), что, как уже отмечалось ранее, может быть результатом активации данного фермента дигидрокверцетином, значительная концентрация которого в составе османтуса душистого описана в литературе [5–7].

Достоверного влияния отвара османтуса душистого на указанные характеристики интактных крыс не наблюдалось. Что касается препарата сравнения, то его продолжительный прием сопровождался повышением активности каталазы на 39,1 % по отношению к контролю, увеличением содержания SH-групп на 55,0 % при одновременном росте уровня ТБК-активных продуктов на 66,9 % в гомогенате печени интактных животных. Несмотря на кажущееся противоречие и возникающие сомнения относительно профилактической и терапевтической активности фитосбора, стоит отметить тот факт, что в настоящее время многие авторы считают сбалансированное функционирование системы перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты нормальным физиологическим процессом, жизненно важным для организма. В физиологических условиях активация регулируемых эндогенных процессов перекисного окисления липидов является необходимым механизмом обновления мембранных структур. Соотношение активности окислительных процессов и эффективности антиоксидантной защиты не только отражает, но и во многом определяет интенсивность метаболизма, адаптационные возможности организма и риск возникновения различных патологических состояний. Таким образом, можно предположить, что у данной группы животных сформировалось динамическое равновесие между процессами перекисного окисления липидов и процессами, связанными с антиоксидантной защитой [28].

Известно, что активность каталазы возрастает под влиянием кверцетина (в наибольшей мере), силибина, рутина, дигидрокверцетина при их использовании как в чистом виде, так и в составе сложных фармпрепаратов (карсил и силимар). Указанные флавоноиды, в том числе кверцетин, содержались практически во всех компонентах анализируемого фитосбора (ромашка аптечная, календула лекарственная, крапива двудомная, тысячелистник обыкновенный) [28].

Необходимо отметить, что и по таким характеристикам, как показатели перекисного окисления липидов и активность каталазы, действие османтуса душистого достоверно превосходило аналогичный эффект аптечного препарата сравнения. Антиоксидантная активность обоих отваров полностью коррелировала с выраженностью их гепатопротекторных свойств.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что отвар османтуса душистого оказывает антиоксидантное и гепатопротекторное действие на крыс с алкогольным поражением печени, по некоторым параметрам превосходящее действие отвара аптечного фитосбора «Фитолекарь для печени». Указанные эффекты могут быть обусловлены наличием в составе данного растения соединений, обладающих антиоксидантной активностью (биофлавоноиды (дигидрокверцетин, лютеолин, нарингенин, диосметин, астилбин), фенольные кислоты, витамины группы Е, ненасыщенные жирные кислоты и др.).

Библиографические ссылки

1. Xie Y-D, Feng B, Gao Y. Effect of abstinence from alcohol on survival of patients with alcoholic cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Hepatology Research*. 2014;44(4):436–449. DOI: 10.1111/hepr.12131.
2. Скворцов ВВ, Луньков МВ, Левитан БН. Комбинированная фитотерапия при хронической алкогольной болезни печени. *Медицинский совет*. 2020;15:97–103. DOI: 10.21518/2079-701X-2020-15-97-103.
3. Ивашкин ВТ, Маевская МВ, Павлов ЧС, Сиволап ЮП, Луньков ВД, Жаркова МС и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2017;27(6):20–40. EDN: YQEEDK.
4. Маевская МВ, Морозова МА, Ивашкин ВТ. Алгоритм ведения пациентов с алкогольной болезнью печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2011;21(1):4–10. EDN: NUQDEX.
5. Wang B, Luan F, Bao Y, Peng X, Rao Z, Tang Q, et al. Traditional uses, phytochemical constituents and pharmacological properties of *Osmanthus fragrans*: a review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;293:115273. DOI: 10.1016/j.jep.2022.115273.
6. Yan X, Zhang T. Review of *Osmanthus fragrans* planting and utilizations in China. *Journal of Agriculture and Social Research*. 2006;6(2):40–46. DOI: 10.4314/jasr.v6i2.47015.
7. Fu C-C, Xu F-Y, Qian Y-C, Koo H-L, Duan Y-F, Weng G-M, et al. Secondary metabolites of *Osmanthus fragrans*: metabolism and medicinal value. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:922204. DOI: 10.3389/fphar.2022.922204.

8. Aebi H. Catalase *in vitro*. In: Packer L, editor. *Oxygen radicals in biological systems*. Orlando: Academic Press; 1984. p. 121–126 (Colowick SP, Kaplan NO, editors. *Methods in enzymology*; volume 105). DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
9. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1959;82(1):70–77. DOI: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
10. Хомерики СГ, Хомерики НМ. Алкогольная болезнь печени: механизмы развития, морфологические проявления, дифференциальная диагностика и патогенетические подходы к терапии. *Гастроэнтерология. Приложение к журналу «Consilium Medicum»*. 2012;1:27–34. EDN: RXDZLZ.
11. Seitz HK, Bataller R, Cortez-Pinto H, Gao B, Gual A, Lackner C, et al. Alcoholic liver disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4:16. DOI: 10.1038/s41572-018-0014-7.
12. Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2015;12(4):231–242. DOI: 10.1038/nrgastro.2015.35.
13. Губич ОИ, Дашкова ЯЮ, Кривленя ИИ. Сравнительная оценка гепатопротекторных свойств растительных адаптогенов на экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени *in vivo*. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;1:54–62. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-54-62.
14. Лазебник ЛБ, Голованова ЕВ, Тарасова ЛВ, Кривошеев АБ, Сас ЕИ, Еремина ЕЮ и др. Алкогольная болезнь печени (АБП) у взрослых. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020;174(2):4–28. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-174-2-4-28.
15. Терещенко ЮА, Терещенко СЮ. Бессимптомное повышение активности сывороточных аминотрансфераз: этапы диагностического поиска. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2014;24(1):29–38. EDN: SENTMN.
16. Звенигородская ЛА. Патогенетические и клинические особенности алкогольной и неалкогольной болезни печени. *Медицинский совет*. 2014;13:40–45. EDN: SWKXGP.
17. Ливзан МА, Лялюкова ЕА, Лаптева ИВ. Алкогольная болезнь печени: современные аспекты диагностики и лечения. *Медицинский совет*. 2014;13:49–53. EDN: SWKXNJ.
18. Маев ИВ, Андреев ДН, Дичева ДТ, Абдурахманов ДТ. Алкогольная болезнь печени: современное состояние проблемы. *Терапевтический архив*. 2014;86(4):108–116. EDN: SVPGYF.
19. Соловьева НВ, Лейхтер СН, Соловьева ВА, Бичкаева ФА, Ишеков НС, Карякина ОЕ и др. Алкогольассоциированные нарушения липидного обмена. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022;67(12):705–709. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-12-705-709.
20. Jeon S, Carr R. Alcohol effects on hepatic lipid metabolism. *Journal of Lipid Research*. 2020;61(4):470–479. DOI: 10.1194/jlr.R119000547.
21. Grases F, Melero G, Costa-Bauzá A, Prieto R, March JC. Urolithiasis and phytotherapy. *International Urology and Nephrology*. 1994;26(5):507–511. DOI: 10.1007/BF02767650.
22. Han K-H, Hashimoto N, Fukushima M. Relationships among alcoholic liver disease, antioxidants, and antioxidant enzymes. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(1):37–49. DOI: 10.3748/wjg.v22.i1.37.
23. Michalak A, Lack T, Cichoż-Lach H. Oxidative stress – a key player in the course of alcohol-related liver disease. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(14):3011. DOI: 10.3390/jcm10143011.
24. Ceni E, Mello T, Galli A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(47):17756–17772. DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17756.
25. Zhou R, Lin J, Wu D. Sulforaphane induces Nrf2 and protects against CYP2E1-dependent binge alcohol-induced liver steatosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. 2014;1840(1):209–218. DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.09.018.
26. Tang Y, Li Y, Yu H, Gao C, Liu L, Xing M, et al. Quercetin attenuates chronic ethanol hepatotoxicity: implication of «free» iron uptake and release. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;67:131–138. DOI: 10.1016/j.fct.2014.02.022.
27. Tan HK, Yates E, Lilly K, Dhanda AD. Oxidative stress in alcohol-related liver disease. *World Journal of Hepatology*. 2020;12(7):332–349. DOI: 10.4254/wjh.v12.i7.332.
28. Куркин ВА, Авдеева ЕВ, Правдивцева ОЕ, Куркина АВ, Рыжов ВМ, Росихин ДВ и др. Сравнительное исследование антиоксидантной активности некоторых флавоноидов и гепатопротекторных лекарственных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой. *Современные проблемы науки и образования* [Интернет]. 2016 [проектировано 10 декабря 2024 г.];6:15–27. Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25833>.

Получена 13.12.2024 / исправлена 28.01.2025 / принята 13.02.2025.
Received 13.12.2024 / revised 28.01.2025 / accepted 13.02.2025.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ БЕЛКОВ АДГЕЗИИ БИОПЛЕНКИ *CANDIDA TROPICALIS* ДЛЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ *HUMULUS LUPULUS* И *ARTEMISIA ABSINTHIUM*

И. С. ЧЕРНЕЙ¹⁾, Я. В. ДИЧЕНКО²⁾, В. Т. ЧЕЩЕВИК¹⁾

¹⁾Полесский государственный университет,
ул. Днепровской флотилии, 23, 225710, г. Пинск, Беларусь

²⁾Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
ул. Академика Купревича, 5, корп. 2, 220084, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Методом молекулярного докинга определены потенциальные молекулярные мишени белков адгезии биопленки *Candida tropicalis* при действии компонентов эфирных масел *Humulus lupulus* и *Artemisia absinthium*. Наиболее высокой аффинностью к белкам адгезии биопленки *C. tropicalis* обладали следующие компоненты: мирцен, линалоол, гумуленоксид, 4-деценвая кислота, изоамилбутират, метил-6-гептеноат, 2-нонанон, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, геранилизобутират (*H. lupulus*), а также α - и β -гуйон, сабинен, 2,4-гуйондиен, геранилпропионат, терпинен-4-ол, *транс*-соберол, формиат геранила (*A. absinthium*). Выявленные соединения демонстрировали сходные с флуконазолом типы взаимодействий с белками адгезии биопленки, но отличались вовлечением разных ключевых аминокислотных остатков, специфичных для каждого белка. Физико-химические параметры и ADME-свойства этих соединений, в сравнении с таковыми флуконазола, указывают на их перспективность в качестве основы для разработки новых противогрибковых препаратов с антибиопленочной активностью в отношении клеток *C. tropicalis*.

Ключевые слова: белки адгезии; биопленка; *Candida*; эфирное масло; *Humulus lupulus*; *Artemisia absinthium*; молекулярный докинг; ADME-свойства.

Образец цитирования:

Черней ИС, Диченко ЯВ, Чещевик ВТ. Молекулярные мишени белков адгезии биопленки *Candida tropicalis* для эфирных масел *Humulus lupulus* и *Artemisia absinthium*. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:12–23. EDN: YPNXDO

For citation:

Chernei IS, Dzichenka YU, Cheshchevik VT. Molecular targets of *Candida tropicalis* biofilm adhesion proteins for *Humulus lupulus* and *Artemisia absinthium* essential oils. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:12–23. Russian. EDN: YPNXDO

Авторы:

Ирина Сергеевна Черней – ассистент кафедры биохимии и биоинформатики биотехнологического факультета.

Ярослав Владимирович Диченко – кандидат химических наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории белковой инженерии.

Виталий Тадеушевич Чещевик – кандидат биологических наук, доцент; декан биотехнологического факультета.

Authors:

Iryna S. Chernei, assistant at the department of biochemistry and bioinformatics, faculty of biotechnology.

semitko.i@polessu.by

<https://orcid.org/0000-0002-6626-7651>

Yaroslav U. Dzichenka, PhD (chemistry), docent; leading researcher at the laboratory of protein engineering.

dichenko@iboch.by

<https://orcid.org/0000-0002-8655-8704>

Vitali T. Cheshchevik, PhD (biology), docent; dean of the faculty of biotechnology.

cheshchevik.v@polessu.by

<https://orcid.org/0000-0002-1457-8570>

MOLECULAR TARGETS OF *CANDIDA TROPICALIS* BIOFILM ADHESION PROTEINS FOR *HUMULUS LUPULUS* AND *ARTEMISIA ABSINTHIUM* ESSENTIAL OILS

I. S. CHERNEI^a, Y. U. DZICHENKA^b, V. T. CHESHCHJEVIK^a

^aPolessky State University, 23 Dniaprowskaj flacilii Street, Pinsk 225710, Belarus

^bInstitute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
5 Akademika Kuprevicha Street, 2 building, Minsk 220084, Belarus

Corresponding author: I. S. Chernei (semitko.i@polessu.by)

Abstract. Molecular docking was employed to identify potential molecular targets of *Candida tropicalis* biofilm adhesion proteins interacting with essential oil components from *Humulus lupulus* and *Artemisia absinthium*. The following components exhibited the highest affinity for *C. tropicalis* biofilm adhesion proteins: myrcene, linalool, humulene oxide, 4-decenoic acid, isoamyl butyrate, methyl-6-heptenoate, 2-nonanone, methyl isooctanoate, methyl octanoate, methyl nonanoate, geranyl isobutyrate (*H. lupulus*), as well as α - and β -thujone, sabinene, 2,4-thujadiene, geranyl propionate, terpinene-4-ol, *trans*-sobrerol, geranyl formate (*A. absinthium*). The identified compounds demonstrated interaction types with biofilm adhesion proteins similar to those of fluconazole but differed in the involvement of various key amino acid residues specific to each protein. Comparison of physico-chemical parameters and ADME properties of these compounds with those of fluconazole suggests their potential as a basis for developing novel antifungal agents with antibiofilm activity against *C. tropicalis*.

Keywords: adhesion proteins; biofilm; *Candida*; essential oil; *Humulus lupulus*; *Artemisia absinthium*; molecular docking; ADME properties.

Введение

Виды рода *Candida* принадлежат к нормальной микрофлоре человека. В основном они колонизируют полость рта, желудочно-кишечный и мочеполовой тракты здоровых людей. Однако чрезмерное использование антибиотиков широкого спектра действия и иммуносупрессивной терапии часто приводит к иммунному дисбалансу, что, в свою очередь, обуславливает изменение в нормальной микрофлоре человека и способствует избыточному росту *Candida* spp., вызывая широкий спектр инфекций – от поверхностных слизистых до гематогенно-диссеминированных кандидозов [1].

Опубликованный в 2022 г. документ Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) содержит список важных патогенных грибов, которые представляют угрозу для здоровья людей. Среди 19 видов грибов, упомянутых в документе, *Candida albicans* и *C. tropicalis* выделены как патогены критического и высокого приоритета из-за риска высокой противогрибковой устойчивости и смертности. Также в документе ВОЗ отмечается положительная тенденция к росту заболеваний, вызванных *C. tropicalis*, в течение последних 10 лет [2]. Недавние исследования различных групп ученых и публикация ВОЗ свидетельствуют о повышении устойчивости представителей рода *Candida* (в особенности *C. tropicalis*) к стандартным противогрибковым препаратам, при этом следует отметить, что некоторые виды (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) способны образовывать биопленки, клетки которых по свойствам отличаются от планктонных форм [3; 4].

Биопленки *Candida* spp. являются сложноструктурированными, пространственно ориентированными и состоят из различных морфологических форм (дрожжей, псевдогиф и гиф), которые заключены во внеклеточный матрикс и прикреплены к субстрату. Образование биопленок усиливает патогенность грибов рода *Candida* за счет снижения их чувствительности к противогрибковым препаратам и защиты клеток биопленки от иммунной системы организма-хозяина. Исследования показывают, что устойчивость клеток биопленки к флуконазолу в 4000 раз выше, чем устойчивость к нему планктонных форм *Candida* spp. [5]. Снижение эффективности противогрибковых препаратов и, следовательно, противогрибковой терапии в отношении биопленки связано с развитием резистентности в результате сверхэкспрессии генов *ERG11*, *UPC2*, *CDR1* и *MDR1* [6], а также со слабым проникновением лекарственных средств в структуру биопленки за счет образования внеклеточного матрикса. В итоге возникают нежелательные побочные эффекты противогрибковой терапии из-за применения повышенных доз препаратов [7].

Процесс образования биопленки условно разделяют на три этапа: адгезию, созревание и диссеминацию (рассеивание) [8; 9]. В каждом из этапов участвуют определенные регуляторы транскрипции и задействуются различные белки. На этапе адгезии происходит прикрепление клеток к субстрату за счет работы белков-адгезинов. Данный этап имеет решающее значение для образования биопленки

Candida spp., так как от начального прикрепления клеток к субстрату зависят дальнейшие рост и развитие биопленки. Эта стадия необходима для персистенции и выживания клеток *Candida* spp., что определяет их патогенность и вирулентность. Эффективная адгезия способствует последующим этапам развития биопленки, таким как созревание и диссеминация, что важно для патогенеза инфекции и ее устойчивости к внешним стрессорам и противогрибковой терапии [3; 10]. Среди белков, индуцирующих адгезию клеток к субстрату, наиболее часто встречаются представители семейства ALS. У *C. tropicalis* было идентифицировано 16 видов белков ALS, роль которых в развитии биопленки еще не установлена [10]. Помимо белков семейства ALS, прикреплению клеток *Candida* spp. к субстрату способствует белок HWP1 (белок гиальной стенки) – маннопротеин клеточной стенки грибов, обнаруженный в биопленках *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* [11]. Белки SAP2 и SAP5, выявленные у *C. albicans* и *C. tropicalis*, отвечают за правильное формирование биопленки и играют важную роль в проникновении гиф клеток в более глубокие слои ткани. Они относятся к секретируемым аспарагиновым пептидазам (SAP), которые считаются ключевыми факторами вирулентности. Эти ферменты обеспечивают клетки биопленки аминокислотами, а также могут разрушать белки организма-хозяина, участвующие в иммунной защите [12]. Белок EFG1 играет важную роль в регулировании образования биопленки *C. tropicalis* путем изменения морфологии клеток и стимуляции их филаментации [13; 14]. Белок RON1 определяет способность клеток *C. tropicalis* переходить от дрожжевой к гиальной форме. Этот процесс имеет решающее значение для инвазии тканей и распространения инфекции в организме-хозяине. Отсутствие белка RON1 приводит к нарушению роста гифы, что указывает на его регулирующую роль в морфологических изменениях [15]. Таким образом, способность грибов рода *Candida* образовывать биопленки и гифы напрямую коррелирует с вирулентностью микроорганизма, что делает белки адгезии критическим фактором патогенного профиля.

Растущая резистентность биопленок *Candida* spp. к противогрибковым препаратам требует поиска новых терапевтических подходов. Природные соединения, в частности эфирные масла лекарственных растений, представляют собой перспективный источник противогрибковых средств благодаря биологической активности их вторичных метаболитов. Отсутствие долгосрочной генотоксичности является значительным преимуществом использования эфирных масел [9].

Несмотря на известное противогрибковое действие эфирных масел и описание его механизмов (инактивация факторов персистенции грибов рода *Candida*, повреждение цитоплазматической мембраны клеток, увеличение ее проницаемости, повреждение мембранных белков, что приводит к утечке содержимого клетки, снижению синтеза АТФ с уменьшением внутриклеточного пула АТФ), данных для полного объяснения их биологического действия пока недостаточно [16]. Эфирное масло *Humulus lupulus* содержит противогрибковые компоненты, такие как десметилксантогумол, когумулон и терпены, оказывающие влияние на метаболизм клеток. Эфирное масло *Artemisia absinthium* также демонстрирует противогрибковое действие в отношении *Candida* spp. и, кроме того, антибиопленочную активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis* [17; 18]. Взаимодействие компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* с белками биопленки *C. tropicalis* ранее не исследовалось. В основном это обусловлено многокомпонентностью эфирных масел и, как следствие, трудоемкостью экспериментальной проверки на биологическую активность всех входящих в их состав соединений. В связи с этим более эффективным подходом к изучению взаимодействия компонентов эфирных масел с белками биопленки является применение современных методов *in silico*, в частности метода молекулярного докинга. Молекулярный докинг в исследованиях эфирных масел предполагает использование специальных программ и параметров, разработанных для анализа взаимодействия между компонентами эфирного масла и белковыми молекулами-мишенями клетки. Данный метод значительно упрощает поиск новых этно-медицинских лекарств на основе идентификации, выделения и характеристики молекул-мишеней [16].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы было определение потенциальных сайтов-мишеней в молекулах белков адгезии биопленки *C. tropicalis* при воздействии компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* методом молекулярного докинга.

Материалы и методы исследования

Для оценки фармакокинетических свойств потенциальных лигандов использовали веб-ресурс *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>), который на основе молекулярной структуры исследуемых соединений предсказывает их ADME-свойства (абсорбцию, распределение, метаболизм, экскрецию).

Составление базы лигандов осуществляли исходя из ранее проведенных исследований компонентного состава эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium*, культивируемых на территории Беларуси [19; 20]. Для получения молекулярной структуры лигандов – компонентов исследуемых эфирных масел использовали базу данных химических соединений и смесей PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Конвертацию молекулярной структуры лигандов в формат 3D осуществляли с помощью веб-сервиса *OpenBabel*

(<https://www.cheminfo.org/chemistry/cheminformatics/formatconverter/index.html>). Для минимизации энергии молекул лигандов применяли программный пакет *UCSF Chimera* (версия 1.11).

Поиск белковых молекул-мишеней проводили на основании литературных данных с использованием веб-сервера для анализа сети функциональных белковых ассоциаций *STRING* (<https://string-db.org/>) и открытой базы данных последовательностей белков UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Кристаллические структуры белка ALS3 в комплексе с гептатреонином (ID: 4LEB) и белка SAP5 в комплексе с пепстатином A (ID: 2QZX), классическим ингибитором аспарагиновой протеиназы, загружены из базы данных Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) в формате PDB. Разрешение, с которым были получены структуры, составило 1,4 и 2,5 Å. Далее из этих структур были удалены молекулы воды и сокристаллизованные лиганды, а вместо них добавлены атомы водорода. Другие белки-мишени (ALS1, ALS2, SAP2, HWP1, EFG1, RON1) сконструированы с использованием веб-ресурса *Swiss-Model* (<https://swissmodel.expasy.org/>) и программы *AlphaFold* (<https://www.alphafold.com/>).

Для проведения молекулярного докинга белковых молекул-мишеней с лигандами – компонентами исследуемых эфирных масел применяли расширение AutoDock Vina программы *UCSF Chimera* (версия 1.11). В процессе молекулярного докинга было сгенерировано 20 различных положений лиганда в активном центре соответствующего белка-мишени, при этом заданный параметр разницы в величине энергии связывания составлял –5 ккал/моль. Остальные параметры молекулярного докинга использовались по умолчанию.

По результатам молекулярного докинга выбиралось положение лиганда с наименьшей энергией связывания. Оно использовалось для дальнейшего анализа. Визуализация после докинга проводилась с помощью программного пакета *UCSF Chimera* (версия 1.11). Для каждого белка-мишени подбирался свой размер области докинга с учетом положения активного центра связывания, рассчитанного программным обеспечением *AutoDockTools* (версия 1.5.7) (табл. 1).

Таблица 1
Размер области молекулярного докинга

Table 1

Molecular docking space size

Белок-мишень	Центр связывания (x; y; z)
ALS1	21,357; 0,705; 51,536
ALS2	–3,11; 17,844; –16,053
ALS3	–5,869; 2,932; –14,114
SAP2	–19,354; 6,194; –18,920
SAP5	10,764; 25,463; 25,401
HWP1	133,899; 20,653; 40,298
EFG1	12,386; –8,373; 9,727
RON1	2,874; 17,081; 65,154

Результаты и их обсуждение

Определение биодоступности изучаемых соединений является начальным и крайне важным этапом их скрининга, позволяющим выбрать для дальнейшего исследования только те соединения, которые будут обладать оптимальными ADME-свойствами [21]. Для отбора перспективных кандидатов с оптимальными ADME-свойствами применялось правило пяти Липинского, учитывающее ключевые физико-химические параметры: липофильность ($\log P$), число доноров и акцепторов водородных связей, молекулярную массу (M_r), топологическую площадь полярной поверхности (TPSA) и растворимость ($\log S$) (табл. 2).

Липофильность – одна из ключевых характеристик биологически активных веществ. Зная ее, можно успешно предсказывать фармакокинетику и фармакодинамику поведения вещества в организме, его способность проникать в клетки через фосфолипидные мембранные барьеры. По этой причине, чтобы лучше понять поведение биологически активных соединений, важно определить логарифм коэффициента распределения незаряженных форм субстрата, обозначаемый как $\log P$. Молекула обычно является липофильной, если $\log P > 0$. Значение $\log P$ от 1 до 3 считается оптимальным для обеспечения свойств, подобных свойствам лекарственных препаратов, поскольку оно предполагает баланс между гидрофильностью и липофильностью, что важно для абсорбции препарата и его распределения в организме [22].

Из данных табл. 2 следует, что все молекулы, входящие в состав исследованных эфирных масел, являются липофильными. На основе установленного критерия отбора (значение $\log P$ составляет от 1 до 3) в качестве перспективных соединений были выбраны формиат геранила ($\log P = 3,06$), 2,4-туйондиен ($\log P = 2,89$), 2-нонанон ($\log P = 2,75$), метилоктаноат ($\log P = 2,70$), 4-деценвая кислота ($\log P = 2,69$), линалоол ($\log P = 2,66$), терпинен-4-ол ($\log P = 2,60$), метилизооктаноат ($\log P = 2,59$), изоамилбутират ($\log P = 2,41$), β -туйон ($\log P = 2,35$), диэтилфталат ($\log P = 2,30$), метил-6-гептеноат ($\log P = 2,14$), *транс*-соберол ($\log P = 1,63$). Липофильные вещества, как правило, легче проникают через клеточные мембраны и мигрируют в богатые липидами ткани, что может влиять на их распределение в организме.

В молекулах гумулена, β -пинена, мирцена, кариофиллена, фарнезена, δ -, γ - и α -кадинена, β -фарнезена, α - и β -селинена, α -оцимена, α -копанена, гермакрена, аромадендрена, азулена, валентена, α -бисаболен, сабинена, α -туйона, 2,4-туйондиена не было групп, которые могут являться донорами или акцепторами водородных связей. У остальных молекул число акцепторов водородных связей (в частности, атомов кислорода и азота) и число доноров водородных связей соответствовали правилу пяти Липинского (меньше 10 доноров и 5 акцепторов водородных связей) [22].

Молекулярная масса всех исследованных соединений не превышала 300 г/моль (находилась в диапазоне 130–300 г/моль), т. е. удовлетворяла принятому критерию (<450 г/моль). Соединения с более низкой молекулярной массой обычно лучше проникают через клеточные мембраны, а соединения с более высокой молекулярной массой не только обладают плохой проницаемостью, но и могут быть сильнее подвержены метаболическому распаду, что влияет на их стабильность и период полувыведения из организма [23].

Такой параметр, как топологическая площадь полярной поверхности, используется для прогнозирования способности препарата проникать через биологические мембраны, что имеет решающее значение для его абсорбции и биодоступности. Данный показатель отражает сумму площадей поверхности всех полярных атомов, в первую очередь кислорода и азота, включая присоединенные к ним атомы водорода. В связи с этим молекулы, которые имеют атомы – доноры и акцепторы водородных связей, обладают разными значениями параметра TPSA. Более низкие значения параметра TPSA обычно указывают на лучшую проницаемость, а более высокие – на потенциальные трудности при пересечении клеточных мембран. Считается, что молекулы с показателем TPSA от 20 до 130 Å² обладают хорошей биодоступностью при пероральном приеме, поскольку они легче проникают через клеточные мембраны [24]. Для большинства исследованных компонентов (линалоол, 4-деценвая кислота, изоамилбутират, метил-6-гептеноат, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, метиллиноленат, геранилизобутират, диэтилфталат, геранилпропионат, терпинен-4-ол, *транс*-соберол, формиат геранила, линалилизвалерат) значения параметра TPSA находятся в оптимальном диапазоне. Исключение составляют гумуленоксид, кариофилленоксид, 2-ундеканон, 2-нонанон, 2-тридеканон и β -туйон, для которых параметр TPSA меньше 20 Å². Для остальных исследованных соединений он равен 0 Å².

Параметр растворимости выступает важным фактором при оценке биодоступности молекул. Плохая растворимость может привести к недостаточной абсорбции и снижению терапевтической эффективности препаратов [22]. Все исследованные молекулы являются растворимыми в разной степени. Наибольшей растворимостью в воде характеризуются метил-6-гептеноат ($\log S = -1,92$) и *транс*-соберол ($\log S = -1,97$), а наименьшей – α -бисаболен ($\log S = -4,92$), гермакрен ($\log S = -4,74$), метиллиноленат ($\log S = -4,69$), фарнезен ($\log S = -4,57$), β -селинен ($\log S = -4,47$), β -фарнезен ($\log S = -4,44$), азулен ($\log S = -4,36$), валентен ($\log S = -4,34$), α -селинен ($\log S = -4,32$), аромадендрен ($\log S = -4,07$) и линалилизвалерат ($\log S = -4,06$).

Таблица 2

Физико-химические параметры компонентов эфирных масел *H. lupulus*
и *A. absinthium*, определяющие ADME-свойства молекул

Table 2

Physico-chemical parameters of *H. lupulus*
and *A. absinthium* essential oil components, determining ADME properties of molecules

Компонент	Липофильность ($\log P$)	Число доноров/акцепторов водородных связей	Молекулярная масса (M_r), г/моль	Топологическая площадь полярной поверхности (TPSA), Å ²	Растворимость ($\log S$)*
Гумулен	4,26	0	204,35	0	–3,97
β -Пинен	3,42	0	136,23	0	–3,31
Мирцен	3,43	0	136,23	0	–3,05
Кариофиллен	4,24	0	204,35	0	–3,87

Окончание табл. 2
Ending of the table 2

Компонент	Липофильность (log P)	Число доноров/акцепторов водородных связей	Молекулярная масса (M_r), г/моль	Топологическая площадь полярной поверхности (TPSA), Å ²	Растворимость (log S)*
Фарнезен	4,96	0	204,35	0	–4,57
δ-Кадинен	4,12	0	204,35	0	–3,43
γ-Кадинен	4,18	0	204,35	0	–3,76
α-Кадинен	4,08	0	204,35	0	–3,61
Линалоол	2,66	1/1	154,25	20,23	–2,40
Гумуленоксид	3,71	0/1	220,35	12,53	–3,63
Кариофилленоксид	3,68	0/1	220,35	12,53	–3,45
β-Фарнезен	4,97	0	204,35	0	–4,44
2-Ундеканон	3,48	0/1	170,29	17,07	–2,94
4-Деценная кислота	2,69	1/2	170,25	37,30	–2,40
α-Селинен	4,40	0	204,35	0	–4,32
β-Селинен	4,51	0	204,35	0	–4,47
Изоамилбутират	2,41	0/2	158,24	26,30	–2,29
Метил-6-гептеноат	2,14	0/2	142,2	26,30	–1,92
α-Оцимен	3,45	0	136,23	0	–3,15
2-Нонанон	2,75	0/1	142,24	17,07	–2,30
Метилизооктаноат	2,59	0/2	158,24	26,30	–2,50
Метилоктаноат	2,70	0/2	158,24	26,30	–2,74
Метилнонаноат	3,13	0/2	172,26	26,30	–3,10
Метиллиноленат	5,55	0/2	292,46	26,30	–4,69
α-Копанен	4,30	0	204,35	0	–3,86
Гермакрен	4,60	0	204,35	0	–4,74
Аромадендрен	4,34	0	204,35	0	–4,07
Азулен	4,33	0	204,35	0	–4,36
2-Тридеканон	4,25	0/1	198,34	17,07	–3,67
Геранилизобутират	3,97	0/2	224,34	26,30	–3,97
Валентен	4,41	0	204,35	0	–4,34
Диэтилфталат	2,30	0/4	222,24	52,60	–2,62
α-Бисаболен	4,77	0	204,35	0	–4,92
Сабинен	3,25	0	136,23	0	–2,57
α-Туйон	3,15	0	136,23	0	–2,41
β-Туйон	2,35	0/1	152,23	17,07	–2,15
2,4-Туйондиен	2,89	0	134,22	0	–2,51
Геранилпропионат	3,67	0/2	210,31	26,30	–3,52
Терпинен-4-ол	2,60	1/1	154,25	20,23	–2,78
транс-Собрерол	1,63	2/2	170,25	40,46	–1,97
Формиат геранила	3,06	0/2	182,26	26,30	–3,19
Линалилизовалерат	4,23	0/2	238,37	26,30	–4,06

*Шкала растворимости компонентов: до 0 (высокорастворимые), от 0 до –2 (хорошо растворимые), от –2 до –4 (растворимые), от –4 до –6 (умеренно растворимые), от –6 до –10 (слаборастворимые), от –10 (нерастворимые).

Помимо физико-химических свойств, были изучены фармакодинамические свойства компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium*. Фармакодинамический анализ включал в себя оценку следующих параметров: коэффициента проницаемости кожи (K_p), взаимодействия молекул с цитохромами P450 (CYP), абсорбции в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), взаимодействия с Р-гликопротеином (белком лекарственной устойчивости), проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и синтетической доступности (SA). Результаты этого исследования представлены в табл. 3.

Параметр $\log K_p$, который представляет собой логарифм коэффициента проницаемости кожи, используется для оценки способности молекулы проходить через кожные барьеры. Чем более отрицательное значение имеет параметр $\log K_p$, тем меньшей проницаемостью кожи обладает молекула. Исследование проницаемости кожи для различных молекул показало, что наименьшей проницаемостью характеризуется *транс*-соберол ($\log K_p = -6,05$). Близки по этому показателю диэтилфталат ($\log K_p = -5,94$) и β -гуйон ($\log K_p = -5,62$). Наибольшую проницаемость кожи демонстрируют α -бисаболен ($\log K_p = -3,03$), фарнезен ($\log K_p = -3,20$), β -фарнезен ($\log K_p = -3,27$) и гермакрен ($\log K_p = -3,45$). Данные значения параметра $\log K_p$ свидетельствуют о существенных различиях в способности этих молекул проходить через кожные барьеры.

Далее было проанализировано взаимодействие исследуемых молекул с CYP, которые играют ключевую роль в элиминации лекарств посредством метаболической биотрансформации. Ингибирование этих изоферментов приводит к токсическим и нежелательным побочным эффектам из-за накопления лекарственного средства или его метаболитов. По этой причине для разработки лекарств очень важно предсказать степень их влияния на организм в результате ингибирования CYP и определить, какие изоформы CYP затронуты [22]. В исследованных эфирных маслах 45,2 % компонентов не являются ингибиторами изоформ CYP, а 19,0 % компонентов ингибируют только одну изоформу. Ни один из выбранных компонентов не является ингибитором CYP2D6 и CYP3A4 – ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, но многие из них ингибируют CYP2C9 и CYP2C19, которые также участвуют в метаболизме лекарств (см. табл. 3).

Такие параметры, как абсорбция в ЖКТ, взаимодействие с Р-гликопротеином и проницаемость ГЭБ, необходимы для понимания того, как лекарство всасывается, распределяется, метаболизируется и выводится из организма [25]. Основываясь на данных параметрах, можно оценить воздействие исследуемых соединений и потенциальную эффективность их попадания в целевую зону в организме. Все изученные компоненты эфирных масел не являются субстратами Р-гликопротеина. Результаты анализа показали, что 50 % исследованных молекул демонстрируют высокую степень абсорбции в ЖКТ. Помимо этого, 69 % молекул обладают проницаемостью ГЭБ (см. табл. 3).

Синтетическая доступность является основным параметром при выборе наиболее перспективных виртуальных молекул, которые будут синтезированы и подвергнуты биологическим анализам. Оценка данного параметра варьируется от 1 до 10 (от очень легкой до очень сложной синтетической доступности) [10]. Из 42 исследованных молекул 9 молекул демонстрируют легкую синтетическую доступность. К ним относятся изоамилбутират (SA = 1,51), 2-нонанон (SA = 1,52), метил-6-гептеноат (SA = 1,59), метилизооктаноат (SA = 1,68), метилоктаноат (SA = 1,68), 2-ундеканон (SA = 1,72), метилнонаноат (SA = 1,78), 2-тридеканон (SA = 1,93) и диэтилфталат (SA = 1,93). Остальные молекулы характеризуются нижесредней синтетической доступностью (см. табл. 3).

Таблица 3

**Фармакодинамические свойства
компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium***

Table 3

**Pharmacodynamic properties
of *H. lupulus* and *A. absinthium* essential oil components**

Компонент	Логарифм коэффициента проницаемости кожи ($\log K_p$)	Ингибирование CYP	Абсорбция в ЖКТ	Проницаемость ГЭБ	Синтетическая доступность (SA)
Гумулен	–4,32	2C9	Низкая	–	3,66
β -Пинен	–4,18	2C9	Низкая	+	3,73
Мирцен	–4,17	–	Низкая	+	2,85
Кариофиллен	–4,44	2C19, 2C9	Низкая	–	4,51
Фарнезен	–3,20	1A2, 2C9	Низкая	–	3,72

Окончание табл. 3
Ending of the table 3

Компонент	Логарифм коэффициента проницаемости кожи ($\log K_p$)	Ингибирование СУР	Абсорбция в ЖКТ	Проницаемость ГЭБ	Синтетическая доступность (SA)
δ -Кадинен	-4,85	2C19, 2C9	Низкая	—	4,14
γ -Кадинен	-4,49	2C19, 2C9	Низкая	—	4,35
α -Кадинен	-4,65	2C19, 2C9	Низкая	—	4,35
Линалоол	-5,13	—	Высокая	+	2,74
Гумуленоксид	-4,91	2C9	Высокая	+	4,44
Кариофилленоксид	-5,12	2C19, 2C9	Высокая	+	4,35
β -Фарнезен	-3,27	1A2, 2C9	Низкая	—	3,42
2-Ундеканон	-4,43	1A2	Высокая	+	1,72
4-Деценная кислота	-5,12	—	Высокая	+	2,45
α -Селинен	-3,85	2C19, 2C9	Низкая	—	4,22
β -Селинен	-3,68	2C19, 2C9	Низкая	—	3,42
Изоамилбутират	-5,24	—	Высокая	+	1,51
Метил-6-гептеноат	-5,37	—	Высокая	+	1,59
α -Оцимен	-4,06	—	Низкая	+	3,17
2-Нонанон	-4,94	—	Высокая	+	1,52
Метилизооктаноат	-4,92	—	Высокая	+	1,68
Метилоктаноат	-4,58	—	Высокая	+	1,68
Метилнонаноат	-4,28	—	Высокая	+	1,78
Метиллиноленат	-3,62	1A2, 2C9	Высокая	+	3,10
α -Копанен	-4,37	1A2, 2C19, 2C9	Низкая	+	4,62
Гермакрен	-3,45	2C9	Низкая	—	3,65
Аромандендрен	-4,20	1A2, 2C19, 2C9	Низкая	+	3,70
Азулен	-3,80	2C19, 2C9	Низкая	—	4,53
2-Тридеканон	-3,84	1A2	Высокая	+	1,93
Геранилизобутират	-4,06	—	Высокая	+	2,91
Валентен	-3,83	2C19, 2C9	Низкая	—	4,22
Диэтилфталат	-5,94	1A2	Высокая	+	1,93
α -Бисаболен	-3,03	2C9	Низкая	—	3,90
Сабинен	-4,94	—	Низкая	+	2,87
α -Туйон	-5,11	—	Низкая	+	3,99
β -Туйон	-5,62	—	Высокая	+	2,79
2,4-Туйондиен	-4,97	—	Низкая	+	4,28
Геранилпропионат	-4,38	—	Высокая	+	2,80
Терпинен-4-ол	-4,93	—	Высокая	+	3,28
<i>транс</i> -Собрерол	-6,05	—	Высокая	+	3,68
Формиат геранила	-4,47	—	Высокая	+	2,58
Линалилизовалерат	-4,07	2C19, 2C9	Высокая	+	3,16

Таким образом, исследование фармакокинетики и фармакодинамики компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* с использованием правила пяти Липинского показало, что большая часть изученных соединений характеризуются высокой биодоступностью. Все молекулы демонстрируют высокую липофильность, что позволяет им легко проникать через клеточные мембраны и мигрировать в богатые липидами ткани. Большинство молекул соответствуют требованиям вышеупомянутого правила к количеству акцепторов и доноров водородных связей, а также к молекулярной массе. Это указывает на их потенциально высокую проницаемость мембран и минимизирует риск метаболического распада. Однако анализ растворимости в воде показал значительные различия между молекулами. Так, наибольшей растворимостью обладают метил-6-гептеноат и *транс*-соберерол, что может указывать на их высокую биодоступность при пероральном приеме. В то же время α -бисаболен, гермакрен, метиллиноленат, фарнезен, β -селинен, β -фарнезен, азулен, валентен, α -селинен, аромадендрен и линалилизовалерат демонстрируют низкую растворимость, что может затруднять их всасывание в организме. При оценке фармакодинамических свойств молекул определено, что *транс*-соберерол, диэтилфталат и β -туйон отличаются низкой проницаемостью кожи, тогда как α -бисаболен, фарнезен, β -фарнезен и гермакрен обладают высокой проницаемостью. Большинство исследованных компонентов не являются ингибиторами CYP, что положительно сказывается на безопасности их потенциального применения. Результаты анализа абсорбции в ЖКТ, взаимодействия с Р-гликопротеином и проницаемости ГЭБ показали, что значительная часть молекул характеризуются высокой абсорбцией в ЖКТ и проницаемостью ГЭБ (50 и 69 % молекул соответственно). Важно отметить, что ни одна из исследованных молекул не продемонстрировала субстратной активности к Р-гликопротеину. Также установлено, что все молекулы имеют легкую и низесреднюю синтетическую доступность.

Поскольку все изученные соединения соответствовали требованиям к фармакокинетическим и фармакодинамическим свойствам, они использовались для дальнейшего исследования потенциальных молекулярных мишеней белков адгезии (ALS1, ALS2, ALS3, SAP2, SAP5, HWP1, EFG1, RON1), участвующих в формировании биопленки *C. tropicalis*. В результате проведенного молекулярного докинга было установлено, что рассчитанная с помощью оценочной функции расширения AutoDock Vina программы UCSF Chimera (версия 1.11) энергия связывания всех исследованных компонентов эфирных масел с белками адгезии биопленки *C. tropicalis* имеет отрицательные значения. Это свидетельствует о возможности образования данными соединениями стабильных комплексов с белками. Для сравнения полученных результатов была проведена аналогичная оценка энергии связывания флуконазола, известного противогрибкового средства, с теми же белками.

Молекулярный докинг показал, что флуконазол обладает хорошей способностью связываться с белками семейства ALS. Энергия связывания флуконазола с белками ALS1, ALS2 и ALS3 составила –6,3; –7,2 и –6,4 ккал/моль соответственно. Кроме того, было установлено, что высокой энергией связывания характеризуются взаимодействия следующих компонентов эфирных масел с белками семейства ALS: α -кадинена и аромадендрена с белком ALS1 (–6,9 ккал/моль); гумуленоксида и азулена с белком ALS2 (–6,8 ккал/моль); гумулена, кариофилленоксида, аромадендрена и валентена с белком ALS3 (–6,4 ккал/моль). Отличия энергии связывания изученных соединений с белками семейства ALS от энергии связывания с ними флуконазола незначительны, так как разница <2,75 ккал/моль является граничной ошибкой для скоринговой функции расширения AutoDock Vina программы UCSF Chimera (версия 1.11). Основным типом связи исследованных компонентов эфирных масел с белками семейства ALS выступают гидрофобные взаимодействия. Аминокислоты тирозин и аланин, располагающиеся в различных участках белков семейства ALS, взаимодействуют с компонентами эфирных масел.

Помимо соединений, обладающих способностью к гидрофобным взаимодействиям, были выявлены компоненты эфирных масел, имеющие либо донорные, либо акцепторные свойства и формирующие водородные связи с белками семейства ALS. В зависимости от структуры молекулы компоненты эфирных масел, способные образовывать водородные связи, разделены на следующие группы:

- терпены – гумуленоксид, кариофилленоксид, β -туйон, терпинен-4-ол, *транс*-соберерол и линалоол;
- кетоны – 2-ундеканон, 2-нонанон, 2-тридеканон;
- сложные эфиры – изоамилбутират, метил-6-гептеноат, геранилизобутират, метилизооктаноат, метилоктаноат, метиллиноленат, геранилпропионат, линалилизовалерат, формиат геранила, диэтилфталат.

Для каждой из групп были выявлены общие свойства при образовании водородных связей с белками-мишенями биопленки *C. tropicalis* (табл. 4).

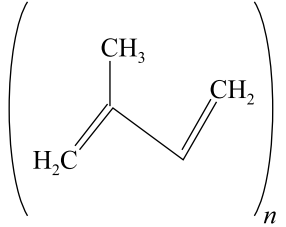
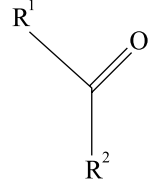
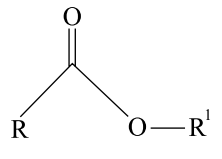
Установлено, что для компонентов эфирных масел, входящих в группу терпенов, ключевой аминокислотой для образования водородных связей в составе белков ALS1 и ALS2 является SER100, а в составе белка ALS3 – SER170.

Таблица 4

Водородные связи между ключевыми аминокислотами
белков адгезии биопленки *C. tropicalis* и компонентами эфирных масел

Table 4

Hydrogen bonds between key amino acids
of *C. tropicalis* biofilm adhesin proteins and essential oil components

Группа компонентов	Структура молекулы	Белок/аминокислота
Терпены		ALS1/SER100 ALS2/SER100 ALS3/SER170 SAP2/THR64 SAP5/ASN304 HWP1/THR216, THR220 EFG1, RON1/LYS
Кетоны		ALS1/THR313 ALS2/ARG312, SER187 ALS3/ALA83, SER230 SAP2/THR130, THR222 SAP5/GLY85, ASP86, ARG120 HWP1/THR211 RON1/LYS229
Сложные эфиры		ALS1/THR313 ALS2/SER187, LEU189, ARG312 ALS3/ALA83 SAP2/ASP120, THR222, LYS129 SAP5/ASP86 HWP1/THR232 EFG1/SER228, ARG264 RON1/LEU149, LYS229

Для группы соединений эфирных масел, относящихся к кетонам, ключевой аминокислотой для формирования водородных связей в активном центре белка ALS1 выступает THR313, в случае с белком ALS2 таковыми выступают аминокислоты ARG312 и SER187, а в случае с белком ALS3 – ALA83 и SER230.

В центре связывания белка ALS1 ключевой аминокислотой для группы сложных эфиров, как и для группы кетонов, является THR313. При анализе сложных эфиров, взаимодействующих с белком ALS2, ключевые аминокислоты варьировались в зависимости от природы спирта, входящего в состав эфира. Для подгруппы эфиров с гераниолом (геранилизобутират, геранилпропионат, формиат геранила) ключевыми аминокислотами оказались SER187 и LEU189. Остальные подгруппы сложных эфиров взаимодействовали с SER187, LEU189 и ARG312. В составе белка ALS3 для всех молекул независимо от подгруппы ключевой аминокислотой была ALA83.

Установлено, что для флуконазола ключевыми аминокислотами для образования водородных связей в случае с белками ALS1 и ALS2 являются THR313, SER100, LEU189, SER187 и ARG312, а в случае с белком ALS3 – VAL172 и SER170. Они частично совпадают с ключевыми аминокислотами для исследованных групп компонентов эфирных масел.

Результаты молекулярного докинга показывают высокое сродство флуконазола к остальным белкам адгезии биопленки *C. tropicalis* (HWP1, EFG1, RON1, SAP2 и SAP5). Энергия связывания флуконазола с ними составила –4,5 ккал/моль (для HWP1), –5,4 ккал/моль (для EFG1), –6,5 ккал/моль (для RON1 и SAP2) и –6,7 ккал/моль (для SAP5). В составе исследованных эфирных масел также были определены компоненты, которые обладают высокой энергией связывания с этими белками. Гумуленоксид продемонстрировал энергию связывания –5,7 и –7,1 ккал/моль с белками HWP1 и SAP5 соответственно. Валентен и азулен связались с белком EFG1 с энергией –5,7 ккал/моль, а валентен взаимодействовал с белком SAP2 с энергией –6,8 ккал/моль. Наиболее сильное связывание продемонстрировал α -копанен с белком RON1 (–7,7 ккал/моль). Сравнение энергии связывания флуконазола и энергии связывания компонентов эфирных

масел показало незначительные различия для белков EFG1, SAP2 и SAP5. Однако в случае с белком HWP1 энергия связывания флуконазола была в 1,3 раза меньше, а в случае с белком RON1 – в 1,2 раза меньше, чем энергия связывания более активных соединений эфирных масел.

Анализ взаимодействия изученных молекул с белками HWP1, EFG1, RON1, SAP2, SAP5 биопленки *C. tropicalis* выявил преобладание гидрофобных связей. Была установлена избирательность взаимодействия: все исследованные молекулы преимущественно связывались с тирозинами TYR84 (в белках семейства SAP) и TYR261 (в белках HWP1 и EFG1). В случае с белком RON1 гидрофобные связи отсутствовали, однако наблюдались нековалентные взаимодействия ионного типа (солевые мостики). В частности, метил-6-гептеноат, геранилизобутират, изоамилбутират и метилизооктаноат образовывали солевые мостики с LYS229, а диэтилфталат образовывал солевые мостики с ARG78.

Также был проведен анализ на наличие водородных взаимодействий у белков по предложенной выше систематизации. Установлено, что для компонентов эфирных масел, входящих в группу терпенов, ключевой аминокислотой для формирования водородных связей в составе белка SAP2 является THR64, в составе белка SAP5 – ASN304, а в составе белков EFG1 и RON1 – LYS в различных положениях, в активном центре связывания белка HWP1 таковыми оказались аминокислоты THR216 и THR220. Для группы соединений эфирных масел, относящихся к кетонам, ключевыми аминокислотами для образования водородных связей в белке SAP2 выступают THR130 и THR222, в белке SAP5 – GLY85, ASP86 и ARG120, в белке HWP1 ключевой аминокислотой является THR211, а в белке RON1 – LYS229. Для белка EFG1 выделить общую ключевую аминокислоту не представляется возможным.

Взаимодействие сложных эфиров с белком SAP2 определялось аминокислотами ASP120 и THR222, а также LYS129 (для диэтилфталата и изоамилбутирата). Связывание с белком SAP5, как и в случае с кетонами, обеспечивала аминокислота ASP86. В составе белка HWP1 ключевыми аминокислотами оказались треонины (THR), наиболее часто находившиеся в положении 232. Взаимодействие сложных эфиров с белками EFG1 и RON1 демонстрировало зависимость от спиртового компонента эфира. В белке RON1 для подгруппы эфиров с метанолом (метил-6-гептеноат, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, метиллиноленат) ключевой аминокислотой была LEU149, для остальных подгрупп – LYS229. В активном центре связывания белка EFG1 сложные эфиры с гераниолом взаимодействовали с SER228, а сложные эфиры с метанолом – с ARG264.

Сравнительный анализ выявил, что флуконазол и исследованные компоненты эфирных масел образуют водородные связи с одинаковыми аминокислотами в сайтах связывания белков HWP1, RON1, SAP2, SAP5 биопленки, но в разных положениях. Исключение составляет белок EFG1, где ключевой аминокислотой для флуконазола является ASN в положении 245, которая также выступает ключевой аминокислотой для метилизооктаноата, но только в положении 226.

Заключение

Результаты исследования компонентов эфирных масел *H. lupulus* и *A. absinthium* показали, что наиболее перспективными в качестве противогрибковых средств являются мирцен, линалоол, гумуленоксид, 4-деценовая кислота, изоамилбутират, метил-6-гептеноат, 2-нонанон, метилизооктаноат, метилоктаноат, метилнонаноат, геранилизобутират (в эфирном масле *H. lupulus*), а также α - и β -туйон, сабинен, 2,4-туйондиен, геранилпропионат, терпинен-4-ол, *транс*-соберерол, формиат геранила (в эфирном масле *A. absinthium*).

В процессе молекулярного докинга было установлено, что величина энергии связывания всех изученных соединений с белками адгезии биопленки *C. tropicalis* имеет отрицательное значение. Это свидетельствует о возможности образования этими соединениями стабильных комплексов с белками. Взаимодействие флуконазола с белками адгезии биопленки *C. tropicalis* включает как гидрофобные, так и водородные связи с выявлением ключевых аминокислот (например, TYR, ALA, SER, THR), которые варьируются в зависимости от белка. Также все исследованные компоненты эфирных масел образуют гидрофобные связи с изученными белками адгезии, за исключением белка RON1, для которого вместо гидрофобных связей обнаружены нековалентные взаимодействия ионного типа (солевые мостики). В частности, метил-6-гептеноат, геранилизобутират, изоамилбутират и метилизооктаноат образовывали солевые мостики с LYS229, а диэтилфталат образовывал солевые мостики с ARG78.

Применение метода молекулярного докинга позволило идентифицировать молекулы эфирных масел, образующие водородные связи со специфическими аминокислотами в центрах связывания белков адгезии биопленки *C. tropicalis*, что дает возможность более точно предсказать их взаимодействие с целевыми белками и оптимизировать выбор соединений для дальнейших исследований. Полученные результаты открывают перспективы для разработки на основе этих молекул новых лекарственных препаратов, обладающих противогрибковой и антибиопленочной активностью.

Библиографические ссылки

1. Silva JPB, Peres ARMN, Paixão TP, Silva ASB, Baetas AC, Barbosa WLR, et al. Antifungal activity of hydroalcoholic extract of *Chrysobalanus icaco* against oral clinical isolates of *Candida* species. *Pharmacognosy Research*. 2017;9(1):96–100. DOI: 10.4103/0974-8490.199772.
2. World Health Organization. *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. Geneva: World Health Organization; 2022. VIII, 33 p.
3. Atencia-Carrera MB, Cabezas-Mera FS, Vizuete K, Debut A, Tejera E, Machado A. Evaluation of the biofilm life cycle between *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12:953168. DOI: 10.3389/fcimb.2022.953168.
4. de Barros PP, Rossoni RD, de Souza CM, Scorzoni L, de Camargo Fenley J, Junqueira JC. *Candida* biofilms: an update on developmental mechanisms and therapeutic challenges. *Mycopathologia*. 2020;185(3):415–424. DOI: 10.1007/s11046-020-00445-w.
5. Sasani E, Khodavaisy S, Rezaie S, Salehi M, Yadegari MH. The relationship between biofilm formation and mortality in patients with *Candida tropicalis* candidemia. *Microbial Pathogenesis*. 2021;155:104889. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.104889.
6. Jiang C, Ni Q, Dong D, Zhang L, Li Z, Tian Y, et al. The role of *UPC2* gene in azole-resistant *Candida tropicalis*. *Mycopathologia*. 2016;181(11–12):833–838. DOI: 10.1007/s11046-016-0050-3.
7. Jafri H, Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug-resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Journal de Mycologie Médicale*. 2020;30(1):100911. DOI: 10.1016/j.mycmed.2019.100911.
8. Lohse MB, Gulati M, Johnson AD, Nobile CJ. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature Reviews Microbiology*. 2018;16(1):19–31. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.107.
9. Черней ИС. Антибиопленочная активность природных соединений в отношении *Candida* spp. *Вестник Брэсцкага ўніверсітэта. Серыя 5, Біялогія. Навукі аб зямлі*. 2023;2:70–80.
10. Araújo D, Henriques M, Silva S. Portrait of *Candida* species biofilm regulatory network genes. *Trends in Microbiology*. 2017;25(1):62–75. DOI: 10.1016/j.tim.2016.09.004.
11. Wan Harun WHA, Jamil NA, Jamaludin NH, Nordin MAF. Effect of *Piper betle* and *Brucea javanica* on the differential expression of hyphal wall protein (HWP1) in non-*Candida albicans* *Candida* (NCAC) species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:397268. DOI: 10.1155/2013/397268.
12. da Silva CR, Damaciera Moura FL, Almeida Alves Filho AL, de Sousa Campos R, de Farias Cabral VP, do Amaral Valente Sá LG, et al. Evaluation of interactions of silibinin with the proteins ALS3 and SAP5 against *Candida albicans*. *Journal of Health and Biological Sciences*. 2022;10(1):1–6. DOI: 10.12662/2317-3076jhbs.v10i1.4239.p1-6.2022.
13. Mancera E, Porman AM, Cuomo CA, Bennett RJ, Johnson AD. Finding a missing gene: *EFG1* regulates morphogenesis in *Candida tropicalis*. *G3: Genes. Genomes. Genetics*. 2015;5(5):849–856. DOI: 10.1534/g3.115.017566.
14. de Souza CM, Moralez ATP, dos Santos MM, Mantovani MS, Furlaneto-Maia L, Furlaneto MC. Deciphering colonies of phenotypic switching-derived morphotypes of the pathogenic yeast *Candida tropicalis*. *Mycopathologia*. 2022;187(5–6):509–516. DOI: 10.1007/s11046-022-00663-4.
15. Song Y-D, Hsu C-C, Lew SQ, Lin C-H. *Candida tropicalis* RON1 is required for hyphal formation, biofilm development, and virulence but is dispensable for N-acetylglucosamine catabolism. *Medical Mycology*. 2021;59(4):379–391. DOI: 10.1093/mmy/myaa063.
16. Martínez-Reyes I, Diebold LP, Kong H, Schieber M, Huang H, Hensley CT, et al. TCA cycle and mitochondrial membrane potential are necessary for diverse biological functions. *Molecular Cell*. 2016;61(2):199–209. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.12.002.
17. Bocquet L, Rivière C, Dermont C, Samaillie J, Hilbert J-L, Halama P, et al. Antifungal activity of hop extracts and compounds against the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Industrial Crops and Products*. 2018;122:290–297. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.05.061.
18. Ivanov M, Gašić U, Stojković D, Kostić M, Mišić D, Soković M. New evidence for *Artemisia absinthium* L. application in gastrointestinal ailments: ethnopharmacology, antimicrobial capacity, cytotoxicity, and phenolic profile. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:9961089. DOI: 10.1155/2021/9961089.
19. Черней ИС, Чешевик ВТ, Орлов ИМ. Компонентный состав эфирного масла различных сортов *Humulus lupulus*, культивируемых в Беларуси. *Труды БГТУ. Серия 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология*. 2023;2:65–72. DOI: 10.52065/2520-2669-2023-271-2-9.
20. Черней ИС, Чешевик ВТ. Антиоксидантная активность эфирного масла *Artemisia absinthium*. В: Дунай ВИ, Золотарева ОА, Штепа ВН, редакторы. *Пинские чтения. Материалы 1-й Международной научно-практической конференции, приуроченной к 925-летию основания города Пинска; 15–16 сентября 2022 г.; Пинск, Беларусь*. Пинск: Полесский государственный университет; 2022. с. 265–268.
21. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017;7:42717. DOI: 10.1038/srep42717.
22. Klimoszek D, Jeleń M, Dołowy M, Morak-Młodawska B. Study of the lipophilicity and ADMET parameters of new anticancer diquinothiazines with pharmacophore substituents. *Pharmaceuticals*. 2024;17(6):725. DOI: 10.3390/ph17060725.
23. Nizamuddin ND, Roopa D, Pramodini A, Afshin SS, Vamshi KAP, Sudhakar RK. *In silico* biological evaluation of anticancer drugs – SwissADME. *Future Journal of Pharmaceuticals and Health Sciences*. 2024;4(2):39–55. DOI: 10.26452/fjphs.v4i2.604.
24. Черней ИС, Лисовская АИ, Чешевик ВТ. Биоинформационный анализ взаимодействия компонентов *Filipendula ulmaria* с белком биопленки TasA микроорганизма *Bacillus subtilis*. *Вестник Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук*. 2024;1:38–45.
25. Mealey KL, Burke NS. Assessment of verdinexor as a canine P-glycoprotein substrate. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2023;46(4):264–267. DOI: 10.1111/jvp.13123.

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 57.012.5 + 57.013 + 57.021 + 57.088.3

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОКОМПЛЕКСОВ КУРКУМИНОИДОВ С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ, ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ СВОЙСТВ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

М. А. КАПУСТИН¹⁾, А. С. ЧУБАРОВА¹⁾, А. Д. ЛОДЫГИН²⁾,
И. В. РЖЕПАКОВСКИЙ²⁾, Н. В. ДУДЧИК³⁾, В. Г. ЦЫГАНКОВ³⁾, В. П. КУРЧЕНКО¹⁾

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

²⁾Северо-Кавказский федеральный университет, ул. Пушкина, 1, 355017, г. Ставрополь, Россия

³⁾Научно-практический центр гигиены, ул. Академическая, 8, 220072, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Куркуминоиды обладают широким спектром биологической активности и выраженным терапевтическим потенциалом, но низкой биодоступностью, что ограничивает возможность их применения. В целях повышения растворимости и биодоступности куркуминоидов разработана оригинальная технология получения их наноконплексов с циклодекстринами. В связи с этим оптимизирована методика экстракции, очистки и разделения куркуминоидов методом флеш-хроматографии, проведена идентификация выделенных соединений. Установлены оптимальные значения температуры и концентрации циклодекстринов для формирования наноконплексов куркуминоидов с β -циклодекстрином (КД: β -ЦД) и 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином (КД: ГП- β -ЦД). С использованием методов ИК-спектроскопии и термического анализа показаны изменения спектральных свойств и повышение термостабильности куркуминоидов в наноконплексах: энергия активации термодеструкции куркуминоидов в составе наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД увеличилась с $(57,7 \pm 2,9)$ до $(217,4 \pm 4,1)$ и $(268,6 \pm 9,4)$ кДж/моль соответственно. Установлено, что антиоксидантная активность куркуминоидов в ряду куркумин, бисдеметоксикуркумин, деметоксикуркумин снижается по сравнению с антиоксидантной активностью тролокса в 2,5, 3,2, 4,9 раза соответственно. С использованием теста Эймса определена антимуtagenная активность препаратов куркуминоидов, наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. Отмечено, что применение наноконплексов

Образец цитирования:

Капустин МА, Чубарова АС, Лодыгин АД, Ржепаковский ИВ, Дудчик НВ, Цыганков ВГ, Курченко ВП. Технология получения наноконплексов куркуминоидов с циклодекстринами, исследование их свойств и биологической активности. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:24–39. EDN: TEKSDO

For citation:

Kapustin MA, Chubarova HS, Lodygin AD, Rzhepakovsky IV, Dudchik NV, Tsygankow VG, Kurchenko VP. Technology for nanocomplexes of curcuminoids with cyclodextrins production, investigation of their properties and biological activity. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:24–39. Russian. EDN: TEKSDO

Сведения об авторах см. на с. 39

Information about the authors see p. 39

КД: β -ЦД в качестве ранозаживляющего средства на модели лоскутной раны кожи у крыс стимулировало репаративный процесс по пути органотипической регенерации. Методом электроспиннинга получены композитные наноприбриллы на основе пуллулана и препаратов куркуминоидов, наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. Разработанный оригинальный покровный материал может быть использован в качестве ранозаживляющего средства.

Ключевые слова: куркуминоиды; наноконплексы; наноструктуры; циклодекстрины; термостабильность; антиоксидантная активность; антимуутагенная активность; ранозаживление.

TECHNOLOGY FOR NANOCOMPLEXES OF CURCUMINOIDS WITH CYCLODEXTRINS PRODUCTION, INVESTIGATION OF THEIR PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY

M. A. KAPUSTIN^a, H. S. CHUBAROVA^a, A. D. LODYGIN^b,
I. V. RZHEPAKOVSKY^b, N. V. DUDCHIK^c, V. G. TSYGANKOW^c, V. P. KURCHENKO^a

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

^bNorth-Caucasus Federal University, 1 Pushkina Street, Stavropol 355017, Russia

^cScientific and Practical Centre for Hygiene, 8 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: M. A. Kapustin (maximkapustin84@gmail.com)

Abstract. Curcuminoids have a wide range of biological activity and pronounced therapeutic potential, but low bioavailability, which limits the possibility of their use. In order to increase the solubility and bioavailability of curcuminoids, an original technology for obtaining their nanocomplexes with cyclodextrins has been developed. In this regard, the method of extraction, purification and separation of curcuminoids by flash chromatography was optimised, and the isolated compounds were identified. The optimal values of temperature and concentration of cyclodextrins for the formation of nanocomplexes of curcuminoids with β -cyclodextrin (Cur: β -CD) and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Cur: HP- β -CD) were established. Using the methods of IR spectroscopy and thermal analysis, changes in spectral properties and an increase in thermal stability of curcuminoids in nanocomplexes are shown: the activation energy of thermal destruction of curcuminoids in the composition of the Cur: β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes increased from (57.7 ± 2.9) to (217.4 ± 4.1) and (268.6 ± 9.4) kJ/mol, respectively. It was found that the antioxidant activity of curcuminoids in the series curcumin, bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin is reduced compared to the antioxidant activity of trolox by 2.5, 3.2, 4.9 times, respectively. Using the Ames test, the antimutagenic activity of preparations of curcuminoids, Cur: β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes, was determined. It was noted that the application of the Cur: β -CD nanocomplexes as a wound healing agent in a rat skin flap wound model stimulated the reparative process along the path of organotypic regeneration. Composite nanofibrils based on pullulan and preparations of curcuminoids, Cur: β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes were obtained by electrospinning. The resulting original cover material can be used as wound healing agent.

Keywords: curcuminoids; nanocomplexes; nanostructures; cyclodextrins; thermal stability; antioxidant activity; antimutagenic activity; wound healing.

Введение

В число задач биотехнологии входят получение биологически активных веществ из природного сырья, исследование их структурно-функциональных свойств и разработка способов применения. Перспективным объектом для решения таких задач является корневище куркумы (*Curcuma longa* L.).

Порошок корневища куркумы традиционно используется в повседневном питании в качестве приправы, а также добавляется в состав косметических средств и фитопрепаратов [1, р. 34868; 2, р. 1]. Ключевыми активными компонентами корневища куркумы являются куркуминоиды (КД), которые относятся к классу полифенолов [3, р. 2]. Выделяемый из корневища *C. longa* препарат КД представляет собой смесь трех основных соединений: 75–77 % куркумина (К), 10–20 % деметоксикуркумина (ДМК) и 5–7 % бисдеметоксикуркумина (БДМК) [1, р. 34868; 3, р. 3; 4, р. 1586]. Для КД характерна низкая фото- и термостабильность как в кристаллическом, так и в растворенном состоянии [5, р. 2]. Благодаря широкому спектру биологической активности куркума применяется в традиционной медицине Китая, Индии и других стран для лечения различных заболеваний (диабета, ревматизма, атеросклероза и пр.), инфекций, ожогов, ран и т. д. [1, р. 34873; 6, р. 5751; 7, р. 2; 8, р. 2].

Методами доказательной медицины для КД показана выраженная антиоксидантная активность, которая обусловлена инаktivацией свободных радикалов [6, р. 5751; 9, р. 150; 10, р. 115–116] и индукцией ключевых ферментов антиоксидантной защиты [11, р. 5; 12, р. 3; 13, р. 5]. Согласно литературным данным в ряду К, ДМК, БДМК максимальной антирадикальной активностью обладает К за счет присутствия в структуре молекулы двух метоксифенольных групп. Для ДМК и БДМК характерна более низкая антиоксидантная активность [10, р. 116]. Противовоспалительные свойства компонентов *C. longa* опосредованы влиянием на важнейшие биохимические пути регуляции воспаления в организме человека [14, р. 5–6]. Известно, что КД ингибируют ядерный фактор NF-κB, тем самым снижая экспрессию провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 и IL-6 [15, р. 1–2; 16, р. 6154; 17, р. 196], а также ферменты, индуцирующие воспалительные процессы, – циклооксигеназы-2 (COX-2) и липоксигеназы (LOX) [14, р. 13; 17, р. 197; 18, р. 2].

Антибактериальное действие КД в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий реализуется за счет повреждения клеточной мембраны бактериальной клетки, индукции окислительного стресса, ингибирования выработки факторов вирулентности и образования биопленки [19, р. 4–9; 20, р. 2; 21, р. 1809; 22, р. 23; 23, р. 6]. Противогрибковые свойства КД установлены в отношении дрожжеподобных [24, р. 145; 25, р. 190] и плесневых [26, р. 1; 27, р. 1] грибов, дерматофитов [28, р. 1; 29, р. 101; 30, р. 1] и ряда других грибов [11, р. 3]. Помимо проявления антибактериальной, противогрибковой, антиоксидантной и противовоспалительной активности, КД способствуют пролиферации клеток и ремоделированию тканей, что делает их перспективным средством для стимуляции заживления ран [13, р. 2; 31, р. 427; 32, р. 2494].

Несмотря на различную биологическую активность, применение КД в пищевых продуктах, биологически активных добавках и фармацевтических композициях ограничено их низкой биодоступностью, обусловленной крайне незначительной растворимостью в воде, химической нестабильностью и быстрой трансформацией в организме [6, р. 5755; 11, р. 6; 17, р. 201; 33, р. 1; 34, р. 2; 35, р. 10714]. Возможным способом повышения биодоступности КД является получение их нанокомплексов с циклодекстринами (ЦД). Включение К, ДМК, БДМК в гидрофобную полость ЦД позволяет увеличить их растворимость и стабильность. Такие нанокомплексы представляют собой новые формы КД, перспективные для использования в пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и медицине [36, р. 1259; 37, р. 1; 38, р. 4; 39, р. 5, 7, 12].

С учетом вышеизложенного целью данного исследования является разработка технологии получения нанокомплексов КД с ЦД, изучение их физико-химических свойств и биологической активности, а также создание на основе полученных нанокомплексов инновационных форм ранозаживляющих средств.

Материалы и методы исследования

Экстракция КД. Препаративное выделение КД из сырья корневища *C. longa* проводили методом экстракции в аппарате Сокслета Behr KEX 500 F (Германия) с использованием 96 % этилового спирта и ацетона. Предварительно из навески порошка корневища куркумы удаляли эфирное масло и липиды с помощью гексана при соотношении сырья и экстрагента 1 : 5 и температуре 70 °С в течение 2 ч. После этого навеску порошка высушивали при 40 °С и экстрагировали на протяжении 5 ч в аппарате Сокслета ацетоном при 60 °С либо 96 % этиловым спиртом при 78 °С до получения насыщенного экстракта. Далее извлечение КД упаривали на ротационном испарителе IKA RV 8 V (*IKA-Werke*, Германия) до минимального объема. Полученный остаток последовательно обрабатывали гексаном и петролейным эфиром для удаления остаточных количеств эфирного масла и липидов. Под действием гексана и петролейного эфира КД образовывали преципитат. Из полученного извлечения петролейным эфиром удаляли эфиромасляной компонент и высушивали препарат под вакуумом.

Хроматографическое разделение КД. Разделение препарата КД на индивидуальные соединения проводили методом колоночной флеш-хроматографии на сорбенте Silica gel 60 Fluka (*Honeywell Research Chemicals*, США) с зернистостью частиц 0,063–0,200 мм. Рабочий объем колонки был равен 170 мл при соотношении ширины и длины 3 : 16. Соотношение разделяемого образца и сорбента составляло 1 : 100. Подвижной фазой являлась смесь хлороформа и метанола в соотношении 99 : 1. Разделение проводилось в изократическом режиме со скоростью 5 мл/мин. Объем отбираемых фракций был равен 10 мл. Для построения хроматографического профиля выполнялось измерение оптической плотности отбираемых фракций на спектрофотометре СФ-103 (научно-производственное объединение «Техноком», Россия) при длине волны 425 нм.

Идентификация выделенных компонентов препарата КД. Идентификацию К, ДМК и БДМК проводили с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Silica gel 60 F254 (*Merck*, Германия); метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографической

системе Agilent 1100/1200 Series (США), оборудованной диодно-матричным детектором, с применением обратно-фазной колонки Zorbax SB-C18 (3,5 мкм; 4,6 × 250 мм) (Agilent Technologies, США) в изократическом режиме (подвижной фазой являлась смесь воды и ацетонитрила в соотношении 54 : 46, содержащая 0,01 об. % уксусной кислоты); метода ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ) на хроматографах Agilent-6200 и Agilent-6500, оборудованных масс-селективным детектором Q-TOF LC/MS (Agilent Technologies), с использованием обратно-фазной колонки Hypersil Gold C18 (1,8 мкм; 2,4 × 100 мм) (Thermo Scientific, США) (в качестве подвижной фазы выступала смесь ацетонитрила и 5 % муравьиной кислоты в соотношении 98 : 2).

Оптимизация технологии получения наноконплексов. Технологию получения наноконплексов оптимизировали с применением метода фазовой растворимости Хигучи – Коннора [40, р. 12]. Для изучения процесса конплексообразования навески КД массой 5 мг помещали в полипропиленовые пробирки объемом 10 мл, в которые вносили равные аликвоты рабочих растворов β-циклодекстрина (β-ЦД) и 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина (ГП-β-ЦД) объемом 5 мл с возрастающей концентрацией ЦД. Концентрация β-ЦД в рабочих растворах изменялась в ряду 0; 0,21; 0,42; 0,85; 1,7; 3,4; 6,4; 8,5; 12,8; 21,3; 42,6 ммоль/л, а концентрация ГП-β-ЦД – в ряду 0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 15; 20; 30; 50; 100 ммоль/л. Пробирки укупоривали и инкубировали в термостате при температуре 30; 37 и 50 °С в условиях постоянного перемешивания на орбитальном шейкере со скоростью 300 об/мин в течение 12 ч. По завершении инкубации из пробирок отбирали аликвоты надосадочной фазы объемом 2 мл и фильтровали через тупиковый фильтр с диаметром пор 0,02 мкм. Полученные образцы анализировали методом ВЭЖХ для определения концентрации КД в водной фазе в результате их перехода из кристаллического состояния в раствор в составе наноконплексов. На основании экспериментальных данных строили графики фазовой растворимости КД в зависимости от температуры и концентрации ЦД.

Оригинальная технология получения наноконплексов. Получение наноконплексов КД с ЦД осуществляли комбинированным методом соиспарения и лиофилизации при молярных соотношениях 1 : 2 и 1 : 4. Навески ЦД растворяли в деионизированной воде при температуре 95 °С в течение 10 мин. К растворам β-ЦД или ГП-β-ЦД, охлажденным до 50 °С, при интенсивном перемешивании по каплям прибавляли растворы препарата КД (навеску растворяли в 96 % этиловом спирте либо в ацетоне с последующим добавлением 96 % этилового спирта в соотношении 1 : 2) и инкубировали конечные смеси в темноте в термостате при температуре 50 °С в условиях постоянного перемешивания со скоростью 300 об/мин на протяжении 4 ч. После инкубации постепенно понижали температуру до 4 °С в течение 3 ч. Образовавшийся осадок отфильтровывали, замораживали и лиофильно высушивали при температуре –56 °С и давлении 0,1 атм на протяжении 24 ч.

Получение композитных нановолокон. Электроспиннинг композитных нановолокон проводили на установке для электроформования Yflow® StartUp Electrospinning Machine (Испания) при следующих рабочих параметрах системы: напряжении на инжекторе 20,8 кВ, напряжении на коллекторе 0 кВ. Расстояние между инжектором и коллектором составляло 0,2 м, внутренний диаметр иглы был равен 0,5 мм. Скорость подачи рабочего раствора составляла 2,8 мл/ч. Нановолокна наносились на алюминиевую фольгу толщиной 9 мкм.

Исследование структуры нановолокон. Для анализа структуры нановолокон использовали сканирующий электронный микроскоп JSM-5610LV с системой химического анализа EDX JED-2201 (JEOL, Япония). Рабочее напряжение составляло 20 кВ, увеличение – от ×100 до ×5000.

Термический анализ КД, физических смесей КД и ЦД и наноконплексов КД с ЦД. Исследование проводили с помощью системы TA-4000 (Mettler Toledo, Швейцария) в режиме программированного изменения температуры в диапазоне 25–550 °С со скоростью 5 °С/мин. Время анализа равнялось 110 мин. Масса навески составляла 10,5 мг. Анализ кинетики и расчет энергии активации термодеструкции образцов осуществляли на основе термогравиметрических данных с использованием кинетической модели

Бройдо [41, р. 4]. Для этого выполняли построение графика в системе координат $\frac{10^3}{T}$ (ось Ox ; единицей измерения температуры (T) является кельвин) и $\ln \left(\ln \left(\frac{100}{100 - \Delta m} \right) \right)$ (ось Oy) и по тангенсу угла наклона построенной прямой определяли энергию активации термодеструкции образца по формуле

$$E_a = -\operatorname{tg} \alpha \cdot R,$$

где α – угол наклона прямой; R – универсальная газовая постоянная.

Анализ спектральных свойств наноконплексов. Спектральные свойства наноконплексов КД с ЦД исследовали на ИК-спектрометре IRTracer-100 (Shimadzu, Япония). При определении ИК-спектра образцов в отраженном свете кратность записи спектра для увеличения отношения сигнала к шуму и лучшего разрешения пиков равнялась 64.

Оценка антиоксидантной активности образцов. Анализ антиоксидантных свойств КД и наноккомплексов КД с ЦД проводили в модельной системе восстановления радикал-катиона ABTS^{•+}. Генерирование радикал-катионов ABTS^{•+} осуществляли в присутствии персульфата аммония. В качестве стандартного антиоксиданта использовали тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту). После добавления к 990 мкл раствора радикал-катионов ABTS^{•+} (оптическая плотность на длине волны 734 нм равна $0,700 \pm 0,050$) 10 мкл раствора анализируемых образцов полученную смесь тщательно перемешивали в течение 10 с и регистрировали оптическую плотность реакционной смеси на длине волны 734 нм с 1-й до 6-й минуты реакции с интервалом 30 с. Образцы КД растворяли в 96 % этиловом спирте, образцы наноккомплексов – в деионизированной воде. Антиоксидантную активность КД выражали в процентах ингибирования радикал-катионов ABTS^{•+} (т. е. в процентах уменьшения концентрации свободных радикалов в системе под действием анализируемого соединения) и рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{процент ингибирования} = 100 \left(1 - \frac{A_2}{A_1} \right),$$

где A_1 – оптическая плотность раствора радикал-катионов ABTS^{•+} на длине волны 734 нм без добавления исследуемого образца; A_2 – оптическая плотность раствора радикал-катионов ABTS^{•+} на длине волны 734 нм через 6 мин после добавления исследуемого образца.

Результаты отражали на графике зависимости процента ингибирования от концентрации анализируемого вещества. Для вычисления значений показателя IC₅₀ была построена калибровочная кривая для тролокса как стандартного антиоксиданта. По калибровочной кривой определено уравнение линейной регрессии вида $y = ax + b$, которое использовалось для дальнейших расчетов [42, р. 4].

Оценка антимуtagenной активности образцов. Исследование антимуtagenных свойств препаратов очищенных КД и наноккомплексов КД с ЦД проводили в серии опытов *in vitro* с применением одного из вариантов бактериального теста Эймса – планшетного FAT-теста (*high throughput fluctuation Ames test*)¹ [43, р. 49]. Тест-объектами выступали ауксотрофные по гистидину штаммы *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100. Для индукции мутаций сдвига рамки считывания у штамма *S. typhimurium* TA98 в инкубационную смесь вносили 10 мкг 2-нитрофлуорена, для индукции мутаций замены пар оснований у штамма *S. typhimurium* TA100 – 10 мкг азида натрия. Увеличение количества ревертантов в этом тесте указывает на то, что анализируемое соединение индуцирует генные мутации. При внесении в среду инкубации штаммов *S. typhimurium* стандартных мутагенов и исследуемых образцов наличие антимуtagenного эффекта используемых препаратов определялось по снижению частоты обратных мутаций, индуцированных стандартными мутагенами [43, р. 52]. При приготовлении образцов для анализа препарат КД растворяли в 96 % этиловом спирте, а наноккомплексы КД с ЦД – в стерильной деионизированной воде. При приготовлении растворов наноккомплексов их содержание было стандартизовано по КД и составляло 500 мкг/мл. Исследования проводили с применением препаратов КД и наноккомплексов, конечная концентрация которых в тест-системах в пересчете на КД составляла 1,7 и 8,3 мг/л. В качестве отрицательных контролей использовали 96 % этиловый спирт и стерильную деионизированную воду. Визуальный учет результатов осуществляли через 72–120 ч, регистрируя число положительных лунок, цвет раствора в которых изменился с фиолетового на желтый.

Оценка ранозаживляющей активности наноккомплексов. Исследования ранозаживляющего действия наноккомплексов КД: β-ЦД проводились на половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250–270 г. Манипуляции с животными выполнялись строго в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [44].

Раневой процесс при соблюдении условий асептики и антисептики воспроизводили у крыс на фоне наркоза препаратом «Золетил-100» (*Virbac*, Франция) в дозировке 10 мг на 1 кг массы тела животного. Рана площадью 320 мм² наносилась по шаблону на дорсальной поверхности спины в лопаточной области в проекции шейно-грудного отдела позвоночника на предварительно выбритом участке кожи методом иссечения полнослойного кожного лоскута до подлежащей фасции с помощью скальпеля [45].

После моделирования ран крысы случайным образом были разделены на четыре группы по шесть животных в каждой. Первая группа животных выступала отрицательным контролем со спонтанным заживлением ран без применения каких-либо средств. Вторая группа животных являлась положительным контролем с обработкой ран широко используемым ранозаживляющим препаратом «Банеоцин» (*Sandoz*, Австрия). Третьей (опытной) группе животных на область раневого дефекта наносился порошок β-ЦД, а четвертой группе животных – порошок препарата наноккомплексов КД: β-ЦД в соотношении 1 : 2. Все средства в форме порошков использовались через 2 ч после моделирования раны и в последующие

¹ГОСТ ISO 10993-3-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 3. Исследования генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию. Введ. 01.01.2013. М. : Стандартинформ, 2013. С. 8.

7 дней до образования струпа. Порошки в количестве 25 мг/см^2 наносились один раз в сутки на область раневого дефекта, предварительно орошенную 0,5 мл физиологического раствора для лучшей адгезии. Раны животных группы отрицательного контроля орошались только физиологическим раствором. В целях предотвращения слизывания препаратов другими животными после нанесения порошков крысы на 1 ч помещались в индивидуальные домики.

Для определения эффективности средства, стимулирующего репаративные процессы в ране, проводилась сравнительная морфологическая оценка заживления раневого дефекта. Образцы тканей для морфологического исследования отбирались из пограничной области раневого повреждения после эвтаназии животных диэтиловым эфиром на 21-й день эксперимента. При приготовлении образцов для гистологического исследования лоскуты кожи вырезали с захватом пораженного и здорового участков, материал фиксировали в 10 % формалине на протяжении 48 ч и заключали в блоки из медицинского парафина Histomix (*Bio Vitrum*, Россия) по общепринятой методике [46]. Гистологические срезы толщиной 7 мкм производили на санном микротоме MC-2 (ООО «АТМ-практика», Россия) и окрашивали гематоксилином и эозином (ООО «Диаэм», Россия). Анализ микропрепаратов кожи осуществляли с использованием лабораторного микроскопа исследовательского класса Axio Imager 2 (A2) (*Carl Zeiss Microscopy*, Германия) при увеличении $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$. Ход репаративного процесса оценивали по качественным характеристикам: степени деструкции клеток в месте воспаления, ростовой активности эпидермиса, направлению эластических и коллагеновых волокон, наличию и локализации клеток белой крови, фибробластов и других клеток соединительной ткани, выраженности ангиогенеза. Результаты документировали микроснимками, полученными с помощью специализированной фотокамеры AxioCam MRC 5 (*Carl Zeiss Microscopy*) и программного обеспечения Zena 2012 Pro (*Carl Zeiss Microscopy*).

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе *Microsoft Excel 2019*. Расчеты выполнялись в трех повторностях с учетом стандартного отклонения и подвергались статистическому анализу с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия между средними значениями считались статистически достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Выделение КД и исследование их структурно-функциональных свойств. Для получения нанокомплексов КД с ЦД была оптимизирована методика экстракции КД из корневища куркумы и их последующей очистки. Для оценки эффективности экстракции КД применен модифицированный метод ВЭЖХ-анализа, который основывается на различиях значений коэффициента липофильности $\log K_{o/w}$ разделяемых соединений, убывающего в ряду К, ДМК, БДМК (3,29, 2,792, 2,649 соответственно), и позволяет идентифицировать К, ДМК, БДМК и определять их содержание в экстрактах.

Для получения экстрактов КД из корневища куркумы использованы органические растворители с разной полярностью. Показано, что эффективность экстракции КД снижается в ряду метанол, ацетон, этанол, хлороформ, гексан. В табл. 1 приведено содержание индивидуальных соединений препарата КД в полученных экстрактах.

Таблица 1

Содержание К, ДМК и БДМК в экстрактах,
полученных с использованием различных органических растворителей

Table 1

Contents of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin
in extracts obtained using various organic solvents

Экстрагент	Содержание, мг/л			Общее содержание КД, мг/л
	К	ДМК	БДМК	
Метанол	$1535,6 \pm 34,4$	$1136,6 \pm 26,3$	$517,8 \pm 12,0$	$3190,0 \pm 72,7$
Ацетон	$1467,2 \pm 5,3$	$1061,3 \pm 4,9$	$463,9 \pm 1,8$	$2992,5 \pm 11,9$
Этанол (96 %)	$1376,6 \pm 26,0$	$1006,9 \pm 19,2$	$448,8 \pm 9,3$	$2832,3 \pm 54,6$
Хлороформ	$1354,0 \pm 2,0$	$947,0 \pm 1,5$	$360,4 \pm 3,2$	$2661,9 \pm 2,7$
Гексан	$2,40 \pm 0,01$	$3,40 \pm 0,03$	$0,218 \pm 0,012$	$6,00 \pm 0,03$

В пищевом и фармацевтическом производстве оптимальным экстрагентом для получения КД является этанол. Выход КД при экстракции этанолом составляет 81 % от общего содержания КД в корневище куркумы (3,5 %). По результатам ВЭЖХ-анализа чистота полученного препарата КД составляет не менее 98 %.

Для сравнительной оценки биологической активности индивидуальных соединений препарата КД с применением флеш-хроматографии были получены К, ДМК и БДМК и проведены исследования их антиоксидантных свойств. Показано, что высокая чистота препаратов К, ДМК и БДМК достигается при использовании в качестве подвижной фазы смеси хлороформа и метанола в соотношении 99 : 1. При препаративном разделении 1 г КД было получено 530 мг К, 165 мг ДМК и 240 мг БДМК.

Идентификацию полученных препаратов и определение их чистоты проводили с помощью хроматографов, оборудованных диодно-матричным и масс-селективным детекторами. Аутентичность соединений также была подтверждена спектральными характеристиками индивидуальных веществ, полученных в процессе ВЭЖХ-анализа. По результатам масс-спектрометрии идентифицированы основные ионы типа $(M + H)^+$, образующиеся при ионизации молекул в образцах исследуемых соединений: в образце К – ион с отношением массы к заряду (m/z), равным 369,132, что отвечает молекуле с массой 368,1245 и брутто-формулой $C_{21}H_{20}O_6$; в образце ДМК – ион с m/z , составляющим 339,1216, что соответствует молекуле с массой 338,1136 и брутто-формулой $C_{20}H_{18}O_5$; в образце БДМК – ион с m/z , равным 309,1113, что характерно для молекулы с массой 308,1043 и брутто-формулой $C_{19}H_{16}O_4$. По базе данных NIST (версия 10.0) идентифицированные ионы соответствуют К (№ CAS: 458-37-7), ДМК (№ CAS: 22608-11-3) и БДМК (№ CAS: 33171-05-0).

В ходе исследования биологической активности КД были определены их антиоксидантные и анти-мутагенные свойства, важные для практического использования в качестве ранозаживляющих средств.

Оценка антиоксидантной активности в отношении радикал-катионов $ABTS^{\bullet+}$ показала, что значения параметра IC_{50} для КД, К, ДМК и БДМК составили $(24,45 \pm 0,41)$; $(30,19 \pm 0,94)$; $(58,41 \pm 3,17)$ и $(37,97 \pm 0,12)$ мкмоль/л соответственно. Величины показателя IC_{50} в ряду К, БДМК, ДМК снижаются по сравнению с таковыми тролокса в 2,5, 3,2, 4,9 раза соответственно. Антиоксидантная активность индивидуальных соединений препарата КД в отношении радикал-катионов $ABTS^{\bullet+}$ зависит от наличия в их структуре сопряженных двойных связей — $C=C$ —, количества метокси- и гидроксигрупп в ароматических кольцах.

В ходе исследования антимуtagenной активности КД с использованием теста Эймса отмечено, что препарат КД в концентрации 8,3 мг/л снижал уровень индуцированного 2-нитрофлуореном мутагенеза в тест-системе штамма *S. typhimurium* TA98 на 50 %. Кроме того, антимуtagenный эффект препарата КД в концентрации 8,3 мг/л проявлялся в снижении частоты индуцированных азидом натрия мутаций в тест-системе штамма *S. typhimurium* TA100 более чем в 6,8 раза – до уровня, сопоставимого со спонтанным мутагенезом. Таким образом, препарат КД более эффективно предотвращает мутации замены пар оснований в клетках штамма *S. typhimurium* TA100, чем мутации сдвига рамки считывания в клетках штамма *S. typhimurium* TA98.

Получение нанокомплексов КД с ЦД, исследование их физико-химических свойств и биологической активности. Процесс образования нанокомплексов КД с ЦД исследовался с применением метода фазовой растворимости, основанного на переходе вещества из кристаллического состояния в раствор при взаимодействии с ЦД [40]. К водной суспензии кристаллов КД добавлялся β -ЦД в конечной концентрации 0; 0,21; 0,42; 0,85; 1,7; 3,4; 6,4; 8,5; 12,8; 21,3; 42,6 ммоль/л. Аналогичные опыты проводились с добавлением ГП- β -ЦД, конечная концентрация которого составляла 0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 15; 20; 30; 50; 100 ммоль/л. При указанных концентрациях β -ЦД и ГП- β -ЦД анализировалось влияние различных температур на процесс образования нанокомплексов. Включение КД в состав нанокомплексов определялось путем измерения их концентрации в водной фазе методом ВЭЖХ. В табл. 2 представлены результаты, полученные при концентрации β -ЦД 12,8 и 21,3 ммоль/л, концентрации ГП- β -ЦД 100 ммоль/л и температуре 30; 37 и 50 °С. Установлено, что процесс формирования нанокомплексов КД с ЦД зависит от концентрации β -ЦД, ГП- β -ЦД и температуры.

Таблица 2

Растворимость КД в воде в присутствии β -ЦД
и ГП- β -ЦД в зависимости от температуры

Table 2

Water solubility of curcuminoids (Cur) in the presence of β -cyclodextrin (β -CD)
and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) depending on temperature

Тип ЦД	Концентрация ЦД, ммоль/л	Температура, °С	Растворимость суммарного препарата КД, мг/л	Соотношение КД (в свободном состоянии и в составе нанокомплексов) в растворе, %		
				К	ДМК	БДМК
Контроль (без ЦД)	0	30	$0,105 \pm 0,002$	$11,58 \pm 0,72$	$23,50 \pm 1,96$	$64,92 \pm 1,24$
		37	$0,205 \pm 0,007$	$9,53 \pm 0,20$	$21,60 \pm 1,50$	$68,87 \pm 2,20$
		50	$0,354 \pm 0,017$	$6,82 \pm 0,60$	$22,92 \pm 2,90$	$70,26 \pm 2,30$

Окончание табл. 2
Ending of the table 2

Тип ЦД	Концентрация ЦД, ммоль/л	Температура, °С	Растворимость суммарного препарата КД, мг/л	Соотношение КД (в свободном состоянии и в составе наноконплексов) в растворе, %		
				К	ДМК	БДМК
β-ЦД	12,8	30	23,74 ± 0,25	2,81 ± 0,08	18,33 ± 0,37	78,86 ± 0,36
		37	30,92 ± 0,35	3,54 ± 0,13	18,62 ± 0,66	77,86 ± 0,67
		50	29,03 ± 1,05	2,94 ± 0,40	17,43 ± 0,63	79,63 ± 0,14
	21,3	30	23,702 ± 0,230	3,06 ± 0,09	15,35 ± 0,46	81,59 ± 0,39
		37	34,98 ± 0,30	3,02 ± 0,05	16,42 ± 0,20	80,56 ± 0,39
		50	28,13 ± 1,26	3,44 ± 0,15	17,17 ± 1,00	79,39 ± 0,10
ГП-β-ЦД	100	30	390,12 ± 2,39	35,10 ± 0,18	30,43 ± 0,13	34,47 ± 0,15
		37	446,41 ± 3,09	38,30 ± 0,17	31,41 ± 0,16	30,29 ± 0,24
		50	532,25 ± 2,90	41,08 ± 0,09	32,36 ± 0,09	26,56 ± 0,06

Внесение различных концентраций β-ЦД в среду, содержащую кристаллический препарат КД, увеличивает переход его компонентов в водную фазу, который достигает максимальных значений с выходом на плато при концентрациях 12,8 и 21,3 ммоль/л. В сравнении с контролем при концентрации β-ЦД 12,8 ммоль/л растворимость КД возрастает в 82–226 раз. Максимальное содержание КД в составе наноконплексов достигается в водной фазе при концентрации β-ЦД 21,3 ммоль/л и температуре 37 °С. Содержание КД в полученных наноконплексах убывает в ряду БДМК, ДМК, К, составляя 80,56; 16,42; 3,02 % соответственно.

Исследование динамики фазового перехода КД при конплексообразовании с ГП-β-ЦД показало, что в сравнении с контролем растворимость КД возрастает в 1504–3715 раз в зависимости от температуры. Максимальный переход КД из кристаллического состояния в состав водорастворимых наноконплексов наблюдается при температуре 50 °С. Содержание КД в полученных наноконплексах возрастает в ряду БДМК, ДМК, К, составляя 26,56; 32,36; 41,08 % соответственно.

По результатам исследования фазовой растворимости КД разработана технология получения наноконплексов КД с ЦД. В ее основе лежит смешивание насыщенных растворов КД в 96 % этиловом спирте и раствора ЦД в деионизированной воде при температуре 50 °С, а также инкубация в течение 4 ч, в ходе которой испаряется часть органического растворителя и воды и происходит концентрирование смеси, что приводит к интенсификации процесса образования наноконплексов. Последующее постепенное понижение температуры до 4 °С способствует стабилизации КД в полости ЦД и выпадению осадка наноконплексов КД:β-ЦД или КД:ГП-β-ЦД, который отделяют фильтрацией и лиофилизируют. Этап лиофилизации способствует удалению остаточной влаги из полости ЦД и более прочной интеграции КД в торическую полость ЦД. Наноконплексы получали при молярных соотношениях КД:ЦД = 1 : 2 и КД:ЦД = 1 : 4. В качестве образца сравнения использовали физические смеси КД и ЦД с такими же молярными соотношениями. Растворимость в воде КД, физических смесей КД и β-ЦД и наноконплексов КД:β-ЦД представлена в табл. 3. Содержание КД в полученных растворах образцов определяли методом ВЭЖХ.

Таблица 3

Растворимость КД, физических смесей КД и β-ЦД и наноконплексов КД:β-ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 в воде при температуре 30 °С, мг/л

Table 3

Solubility of Cur, physical mixtures of Cur and β-CD and Cur:β-CD nanocomplexes in ratios of 1 : 2 and 1 : 4 in water at a temperature of 30 °C, mg/L

Определяемый компонент	Суммарный препарат КД (контроль)	Физические смеси КД и β-ЦД		Наноконплексы КД:β-ЦД	
		КД:β-ЦД = 1 : 2	КД:β-ЦД = 1 : 4	КД:β-ЦД = 1 : 2	КД:β-ЦД = 1 : 4
Сумма КД	0,105 ± 0,002	4,42 ± 0,01*	4,53 ± 0,03*	8,36 ± 0,04*	8,85 ± 0,05*
К	0,013 ± 0,001	0,46 ± 0,01	0,52 ± 0,01	1,83 ± 0,02	1,08 ± 0,01
ДМК	0,023 ± 0,002	1,18 ± 0,02	1,09 ± 0,03	3,17 ± 0,01	2,85 ± 0,03
БДМК	0,069 ± 0,001	2,78 ± 0,02	2,93 ± 0,02	3,37 ± 0,01	4,92 ± 0,02

*Достоверные различия по отношению к контролю при $p \leq 0,05$.

По сравнению с контролем растворимость КД в составе физических смесей увеличилась в 42 раза. Это связано с переходом β -ЦД и КД в растворенное состояние и спонтанным образованием межмолекулярных комплексов. Растворимость КД в составе полученных по разработанной технологии наноконкомплексов КД: β -ЦД возросла в 1,9 раза по сравнению с их растворимостью в составе физических смесей и в 80 раз по сравнению с контролем.

Для повышения эффективности включения КД в состав наноконкомплексов и увеличения их водорастворимости был использован ГП- β -ЦД. Растворимость в воде КД, физических смесей КД и ГП- β -ЦД и наноконкомплексов КД: ГП- β -ЦД представлена в табл. 4.

Таблица 4

Растворимость КД, физических смесей КД и ГП- β -ЦД и наноконкомплексов КД: ГП- β -ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 в воде при температуре 30 °С, мг/л

Table 4

Solubility of Cur, physical mixtures of Cur and HP- β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes in ratios of 1 : 2 and 1 : 4 in water at a temperature of 30 °C, mg/L

Определяемый компонент	Суммарный препарат КД (контроль)	Физические смеси КД и ГП- β -ЦД		Наноконкомплекс КД: ГП- β -ЦД	
		КД: ГП- β -ЦД = 1 : 2	КД: ГП- β -ЦД = 1 : 4	КД: ГП- β -ЦД = 1 : 2	КД: ГП- β -ЦД = 1 : 4
Сумма КД	0,105 ± 0,002	38,40 ± 0,05*	37,69 ± 0,08*	25,79 ± 0,08*	91,35 ± 0,24*
К	0,013 ± 0,001	3,47 ± 0,02	4,07 ± 0,03	5,08 ± 0,02	14,98 ± 0,13
ДМК	0,023 ± 0,002	6,89 ± 0,01	7,36 ± 0,03	9,35 ± 0,03	33,44 ± 0,07
БДМК	0,069 ± 0,001	28,05 ± 0,03	26,25 ± 0,05	11,36 ± 0,05	42,93 ± 0,05

*Достоверные различия по отношению к контролю при $p \leq 0,05$.

По сравнению с контролем растворимость физических смесей КД и ГП- β -ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 увеличилась в 366 и 359 раз соответственно. Это обусловлено спонтанным образованием наноконкомплексов при взаимодействии ГП- β -ЦД и КД. Растворимость полученных по разработанной технологии наноконкомплексов КД: ГП- β -ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 возросла в 246 и 870 раз соответственно по сравнению с контролем. При этом соотношение КД в водной фазе в составе наноконкомплексов с ГП- β -ЦД убывает в ряду БДМК, ДМК, К.

Таким образом, разработанная технология позволяет получить наноконкомплексы КД с ЦД и значительно увеличить растворимость КД в воде.

Для подтверждения образования наноконкомплексов КД с ЦД исследованы их физико-химические свойства с использованием ИК-спектроскопии и термогравиметрии.

Методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье установлены изменения спектральных свойств наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД по сравнению с контрольными образцами. Для β -ЦД и ГП- β -ЦД характерно наличие полос поглощения излучения с частотами 3315; 2925; 1643; 1151; 1020 см^{-1} . Для КД характерные полосы поглощения наблюдаются при частотах 3509; 3285; 1627; 1502; 1429 см^{-1} . Как для физических смесей КД и β -ЦД, так и для физических смесей КД и ГП- β -ЦД выявлено снижение интенсивности поглощения ИК-излучения с частотой 3509 см^{-1} , присутствующего в ИК-спектре нативного препарата КД, а для наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД – полное исчезновение пика в данной области спектра. Для наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД отмечены изменения интенсивности поглощения ИК-излучения и формы пиков в диапазоне частот 1625–1100 см^{-1} , а также снижение интенсивности поглощения излучения с частотой 1429 см^{-1} . Указанные изменения обусловлены перестройкой межмолекулярных водородных связей при образовании наноконкомплексов КД с ЦД. При этом полосы поглощения соответствующих функциональных групп смещаются в низкочастотную область.

В результате термогравиметрического анализа β -ЦД, ГП- β -ЦД, КД, физических смесей КД и β -ЦД, физических смесей КД и ГП- β -ЦД, наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД для каждого образца определены стадии термического разложения в условиях программируемого нагрева от 25 до 550 °С. Установлено, что ГП- β -ЦД более термостабилен, чем β -ЦД. Для препарата КД наблюдается многостадийный процесс окислительной термодеструкции в пределах 140–550 °С. Отмечено, что препарат КД стабилизируется в составе наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. В табл. 5 представлены значения энергии активации термодеструкции (E_a) образцов, рассчитанные по методу Бройдо.

Установлено, что значения E_a наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД превышают значения E_a нативного препарата КД в 3,77 и 4,66 раза соответственно. Значения E_a физической смеси КД и β -ЦД

и физической смеси КД и ГП-β-ЦД превосходят значения E_a нативного препарата КД в 3,42 и 3,99 раза соответственно. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в результате комплексообразования КД с ЦД повышается термическая стабильность КД в составе наноконплексов.

Таблица 5

Значения энергии активации термодеструкции КД, ЦД,
физических смесей КД и ЦД и наноконплексов КД с ЦД

Table 5

Values of activation energy of thermal destruction of Cur, CD,
physical mixtures of Cur and CD and nanocomplexes of Cur with CD

Наименование образца	E_a , кДж/моль
КД	$57,7 \pm 2,9$
β-ЦД	$382,9 \pm 8,3$
Физическая смесь КД и β-ЦД (1 : 2)	$197,7 \pm 3,2$
Наноконплекс КД:β-ЦД (1 : 2)	$217,4 \pm 4,1$
ГП-β-ЦД	$302,2 \pm 5,2$
Физическая смесь КД и ГП-β-ЦД (1 : 2)	$230,7 \pm 6,5$
Наноконплекс КД:ГП-β-ЦД (1 : 2)	$268,6 \pm 9,4$

Для разработки способов применения полученных наноконплексов КД с ЦД проанализирована их биологическая активность. В ходе ее определения исследованы антиоксидантные и антимурагенные свойства и дана токсикологическая-гигиеническая оценка наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД.

Отмечено, что антиоксидантная активность наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в отношении радикал-катионов ABTS^{•+} различается. Показана линейная зависимость степени тушения радикал-катионов ABTS^{•+} от концентрации наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в диапазоне 10–100 мг/л. Значения показателя IC₅₀ наноконплекса КД:β-ЦД в соотношении 1 : 2 составили ($1,076 \pm 0,040$) г/л, а значения показателя IC₅₀ наноконплекса КД:ГП-β-ЦД в соотношении 1 : 2 были равны ($0,161 \pm 0,006$) г/л. По величине показателя IC₅₀ антиоксидантная активность наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД меньше антиоксидантной активности тролокса в 359,0 и 53,7 раза соответственно. Значения показателя IC₅₀ препарата КД в пересчете на его содержание в составе наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД составили ($396,6 \pm 14,2$) и ($50,7 \pm 1,5$) мкмоль/л. Полученные данные свидетельствуют о снижении антиоксидантной активности препарата КД в составе наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в 16,2 и 2,1 раза соответственно. Это обусловлено экранированием ЦД функциональных групп КД в составе наноконплексов.

Исследование антимурагенной активности с использованием теста Эймса позволило установить, что в тест-системе штамма *S. typhimurium* TA98 препараты наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в концентрации, эквивалентной 8,3 мг/л КД, снижают уровень индуцированного 2-нитрофлуореном мутагенеза на 25,8 и 8,3 % соответственно. В тест-системе штамма *S. typhimurium* TA100 препараты наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в концентрации, эквивалентной 8,3 мг/л КД, способствуют снижению уровня индуцированного азидом натрия мутагенеза на 25,0 и 16,7 % соответственно. Указанные результаты обуславливаются экранированием ЦД функциональных групп КД в составе наноконплексов и согласуются с результатами изменения антиоксидантной активности.

Для практического использования полученных наноконплексов КД с ЦД важной задачей являлось проведение их токсикологическая-гигиенической оценки в модельных системах протистов и на лабораторных позвоночных животных в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Эти исследования были выполнены ранее, их результаты опубликованы в работе [47].

Благодаря низкой токсичности, антиоксидантным и генопротекторным свойствам наноконплексы КД:β-ЦД могут быть использованы в качестве ранозаживляющего средства. В модели лоскутной раны кожи к 21-му дню эксперимента у животных группы отрицательного контроля (без лечения) в центре повреждения сохраняется глубокий раневой дефект с выраженным альтеративным компонентом воспаления и наличием гнойного экссудата (рис. 1, а). Применение антибактериального препарата местного действия «Банеоцин» в качестве положительного контроля лечения лоскутной раны кожи способствует ликвидации

раневого дефекта по тканетипическому типу с образованием рубца. Как видно из рис. 1, б, происходит восстановление тканей, формирующих кожу как орган, в трансформированном виде. При использовании препарата β -ЦД также отмечается заживление раневого дефекта по тканетипическому типу (рис. 1, в). При этом наблюдается картина незавершенной тканетипической регенерации кожи и формирование рубцовой ткани на фоне сохранения признаков воспалительного процесса. Как свидетельствуют полученные результаты (рис. 1, г), применение препарата наноконплексов КД: β -ЦД приводит к органотипической регенерации кожи без признаков воспалительного процесса. В данном случае отмечаются признаки безрубцового заживления, т. е. процесса регенерации, благодаря которому восстанавливается первоначальное строение кожи.

Таким образом, препарат наноконплексов КД: β -ЦД может применяться в качестве перспективного ранозаживляющего средства, обеспечивающего безрубцовую регенерацию глубоких повреждений кожи.

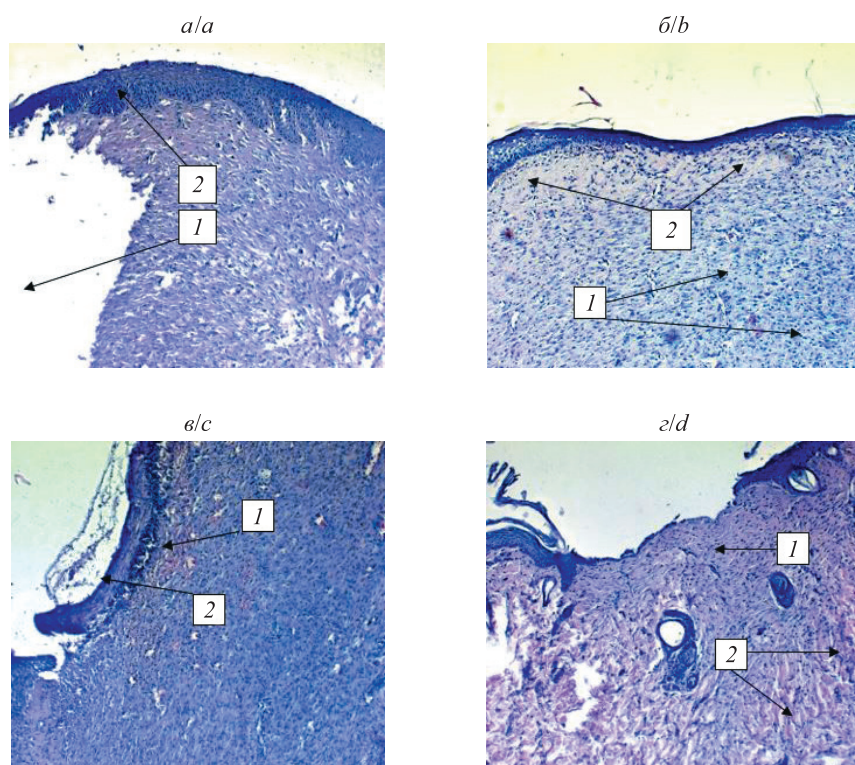


Рис. 1. Результаты гистологического исследования эпидермиса и дермы образцов кожи на 21-й день течения раневого процесса в модели лоскутной раны у крыс линии Wistar: а – без лечения (отрицательный контроль) (1 – наличие глубокого дефекта, 2 – гиперплазия эпителиального слоя по периферии регенерата); б – при применении препарата «Банеоцин» (положительный контроль) (1 – обширный полиморфно-клеточный пул клеток, 2 – очаговая гиалинизация зрелой рубцовой ткани); в – при использовании препарата β -ЦД (1 – гиперемия сосудов микроциркуляторного русла, 2 – скопление лейкоцитов под деструктурированным струпом); г – при применении препарата наноконплексов КД: β -ЦД (1 – фибробластная пролиферация, 2 – мощные и рыхлые волокна соединительной ткани беспорядочно ориентированы с просветами, заполненными достаточным количеством межклеточного вещества).
Изображения получены при окрашивании гематоксилином и эозином и увеличении $\times 100$

Fig. 1. Results of a histological study of the epidermis and dermis of skin samples on the 21st day of the course of the wound process on a patchwork wound model in Wistar rats: а – without treatment (negative control) (1 – the presence of a deep defect, 2 – hyperplasia of the epithelial layer along the periphery of the regenerate); б – with the use of the drug «Baneocin» (positive control) (1 – extensive polymorphic cell pool of cells, 2 – focal hyalinisation of mature scar tissue); в – with the use of the drug of β -CD (1 – hyperemia of microcirculatory vessels, 2 – accumulation of leukocytes under a destructured scab); г – with the use of the drug of Cur: β -CD nanocomplexes (1 – fibroblast proliferation, 2 – powerful and loose connective tissue fibers are randomly oriented with gaps filled with a sufficient amount of intercellular substance).
Images were obtained using hematoxylin and eosin staining and magnification $\times 100$

Для заживления лоскутных ран кожи был использован порошок наноконплексов КД:β-ЦД, показавший высокую эффективность. Однако более практичным является покровный материал из нановолокон (скаффолдов) с включенными в их структуру наноконплексами КД:β-ЦД. Применение технологии электроспиннинга позволило получить нановолокна на основе пуллулана с включением в их структуру КД, наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД. При электроспиннинге добавление к раствору пуллулана β-ЦД и ГП-β-ЦД сопровождалось их включением в структуру нитей и не приводило к формированию выраженных агрегатов на поверхности нановолокон. Микроструктура образующихся фибрилл мало отличалась от микроструктуры фибрилл из чистого пуллулана (рис. 2, а–е).

В случае электроспиннинга композитных скаффолдов на основе пуллулана и наноконплексов КД:β-ЦД происходило равномерное включение в структуру нановолокон агрегатов наноструктур (рис. 2, з). При электроформовании раствора пуллулана и наноконплексов КД:ГП-β-ЦД образовывалась однородная структура фибрилл без видимых агрегатов на поверхности (рис. 2, д). Добавление к раствору пуллулана КД приводило к формированию гетерогенной структуры композитного скаффолда, при этом агрегаты частиц КД располагались гетерогенно на поверхности нановолокон, а также в порах образующегося нетканого материала (рис. 2, е).

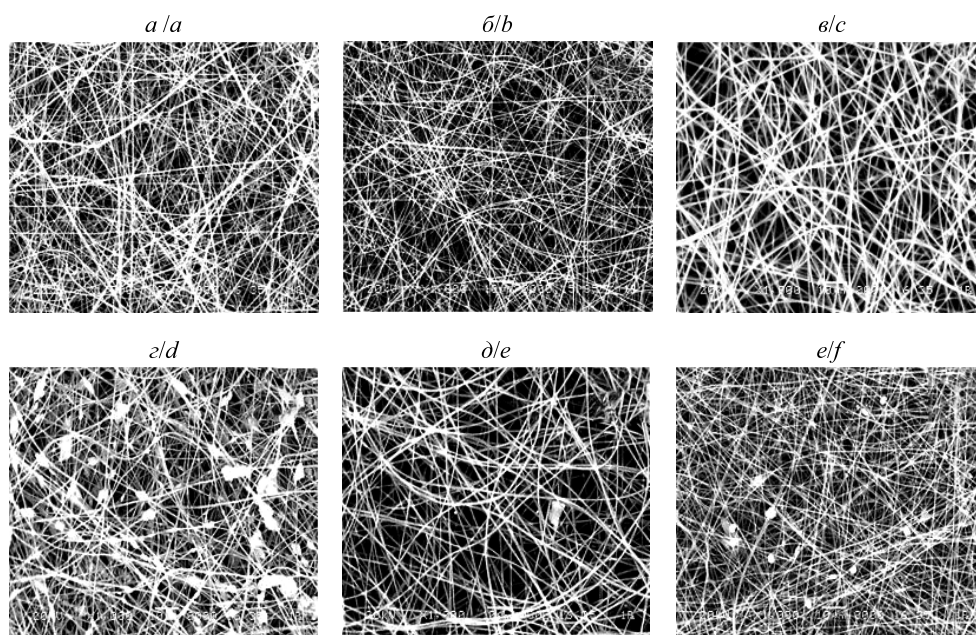


Рис. 2. Фотографии композитных 3D-скаффолдов на основе пуллулана, полученные методом сканирующей электронной микроскопии при увеличении $\times 100$:

- а – пуллулан; б – композит пуллулана с β-ЦД в соотношении 3 : 1;
- в – композит пуллулана с ГП-β-ЦД в соотношении 3 : 1;
- з – композит пуллулана с наноконплексами КД:β-ЦД в соотношении 3 : 1;
- д – композит пуллулана с наноконплексами КД:ГП-β-ЦД в соотношении 3 : 1;
- е – композит пуллулана с КД в соотношении 3 : 1

Fig. 2. Photographs of pullulan-based composite 3D scaffolds obtained by scanning electron microscopy at a magnification $\times 100$:

- a – pullulan; b – composite of pullulan with β-CD in a ratio of 3 : 1;
- c – composite of pullulan with HP-β-CD in a ratio of 3 : 1;
- d – composite of pullulan with Cur:β-CD nanocomplexes in a ratio of 3 : 1;
- e – composite of pullulan with Cur:HP-β-CD nanocomplexes in a ratio of 3 : 1;
- f – composite of pullulan with Cur in a ratio of 3 : 1

Инновационный подход, примененный при получении ранозаживляющих скаффолдов на основе пуллулана, состоит во включении в структуру нановолокон наноконплексов КД:β-ЦД, показавших высокую эффективность при заживлении лоскутных ран кожи.

На рис. 3 приведены электронные микрофотографии скаффолда на основе пуллулана и наноконплексов КД:β-ЦД, полученные при увеличении от $\times 100$ до $\times 5000$.

На рис. 4 представлена электронная микрофотография скаффолда на основе пуллулана и наноконплексов КД:β-ЦД, полученная при увеличении $\times 64\,000$. Диаметр образующихся нановолокон находится в диапазоне 60–150 нм.

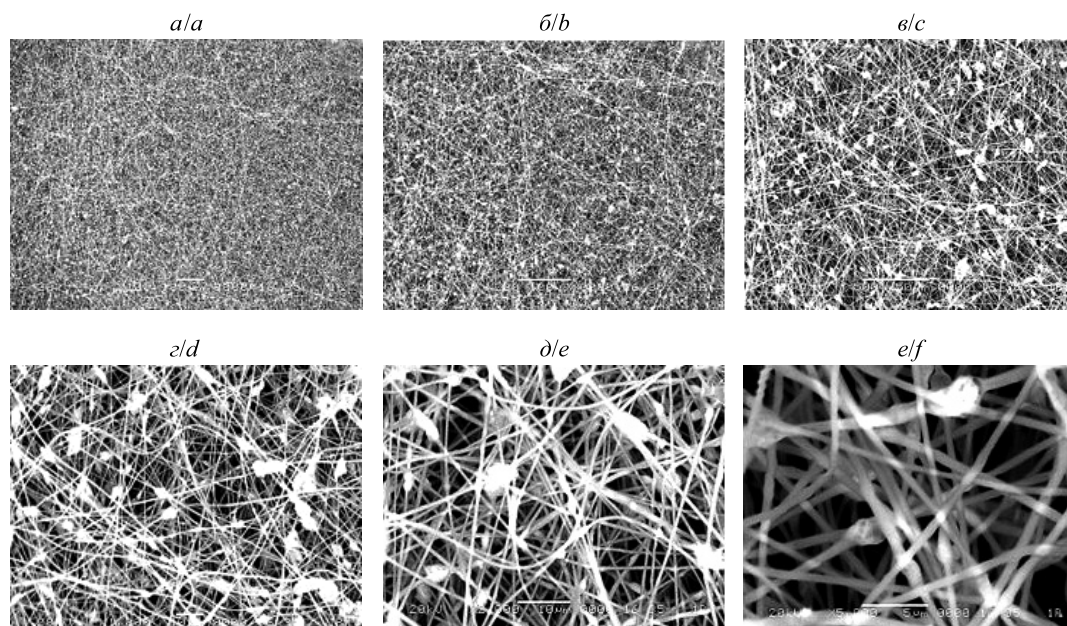


Рис. 3. Фотографии композитных 3D-скаффолдов на основе пуллулана и нанокомплексов КД:β-ЦД, полученные методом сканирующей электронной микроскопии при увеличении $\times 100$ (а), $\times 200$ (б), $\times 500$ (в), $\times 1000$ (г), $\times 2000$ (д), $\times 5000$ (е)

Fig. 3. Photographs of composite 3D scaffolds based on pullulan and Cur:β-CD nanocomplexes obtained by scanning electron microscopy at a magnification $\times 100$ (a), $\times 200$ (b), $\times 500$ (c), $\times 1000$ (d), $\times 2000$ (e), $\times 5000$ (f)

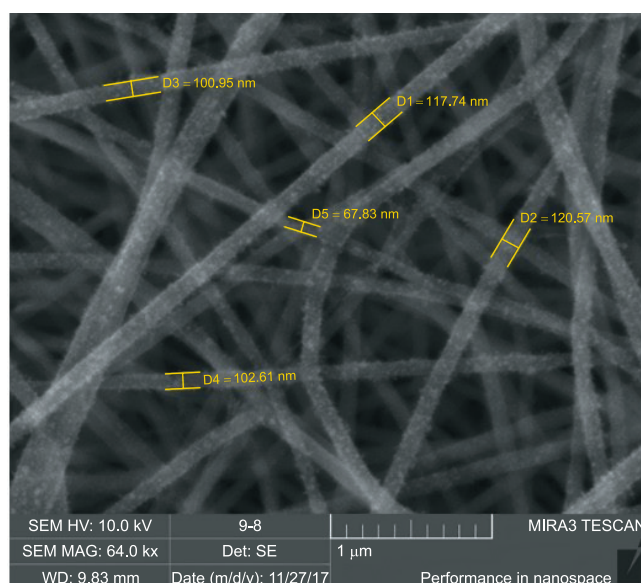


Рис. 4. Электронная микрофотография нановолокон композита пуллулана с нанокомплексами КД:β-ЦД (увеличение $\times 64\,000$)

Fig. 4. Electron micrograph of nanofibers of pullulan composite with Cur:β-CD nanocomplexes (magnification $\times 64\,000$)

На рис. 5 приведены результаты сканирующей электронной микроскопии скаффолдов пуллулана, его композитов с нанокомплексами КД:β-ЦД и внешний вид полученного покровного материала. Формирование композитных скаффолдов пуллулана сопровождается включением в структуру нитей нанокомплексов КД:β-ЦД с образованием на поверхности нановолокон крупных агрегатов диаметром 500–600 нм (см. рис. 5, б). Полученный покровный материал на основе пуллулана и нанокомплексов КД:β-ЦД имеет желтый цвет и шероховатую поверхность (см. рис. 5, в).

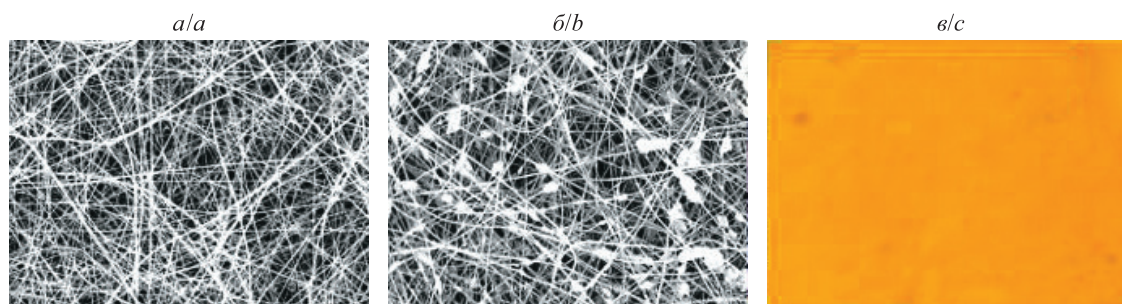


Рис. 5. Электронные микрофотографии (увеличение $\times 1000$) нановолокон пуллулана (а) и его композита с наноконplexами КД: β -ЦД (б), внешний вид полученного покровного материала (в)

Fig. 5. Electronic micrographs (magnification $\times 1000$) of nanofibers of pullulan (a) and its composite with Cur: β -CD nanocomplexes (b), the appearance of the resulting coating material (c)

Таким образом, использование технологии электроспиннинга позволило получить композитные нановолокна пуллулана с включением в их структуру наноконplexов КД: β -ЦД. Разработанный покровный материал может применяться в качестве ранозаживляющего средства.

Заключение

Для разработки ранозаживляющих средств с использованием биологически активных веществ, выделенных из корневища куркумы, проведен сравнительный анализ антиоксидантной и антимутагенной активности препарата КД и наноконplexов КД с ЦД. В связи с этим оптимизирована технология получения индивидуальных соединений препарата КД методом препаративной флеш-хроматографии, позволяющая проводить экспресс-разделение в изократическом режиме и получать высокочистые индивидуальные соединения. Как показали результаты исследования, КД обладают выраженными антиоксидантными и антимутагенными свойствами, что определяет возможность их использования при создании ранозаживляющих средств. Для повышения растворимости и стабильности КД получены их наноконplexы с ЦД. Установлены закономерности конкурентного взаимодействия КД с β -ЦД и ГП- β -ЦД и влияние на образование наноконplexов температуры и полярности КД. Разработана оригинальная технология получения наноконplexов КД с ЦД и предложены способы их применения. Показана высокая эффективность использования наноконplexов КД: β -ЦД в качестве ранозаживляющего средства, обеспечивающего органотипическое восстановление структуры кожи в зонах смоделированных лоскутных ран. Создан нетканый покровный материал из композитных нановолокон на основе биополимера пуллулана и наноконplexов КД: β -ЦД.

Библиографические ссылки

1. Manasa PSL, Kamble AD, Chilakamarthi U. Various extraction techniques of curcumin – a comprehensive review. *ACS Omega*. 2023;8(38):34868–34878. DOI: 10.1021/acsomega.3c04205.
2. Pardeshi S, Mohite P, Rajput T, Puri A. The nanotech potential of curcumin in pharmaceuticals: an overview. *Current Drug Discovery Technologies*. 2024;21(2):e260723219113. DOI: 10.2174/1570163820666230726125809.
3. Cacciola NA, Cuciniello R, Petillo GD, Piccioni M, Filosa S, Crispi S. An overview of the enhanced effects of curcumin and chemotherapeutic agents in combined cancer treatments. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(16):12587. DOI: 10.3390/ijms241612587.
4. Pan Y, Ju R, Cao X, Pei H, Zheng T, Wang W. Optimization extraction and purification of biological activity curcumin from *Curcuma longa* L. by high-performance counter-current chromatography. *Journal of Separation Science*. 2020;43(8):1586–1592. DOI: 10.1002/jssc.201901174.
5. Kaur K, Al-Khazaleh AK, Bhuyan DJ, Li F, Li CG. A review of recent curcumin analogues and their antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities. *Antioxidants*. 2024;13(9):1092. DOI: 10.3390/antiox13091092.
6. Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Swelum AA, Arif M, Abo Ghanima MM, Shukry M, et al. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021;101(14):5747–5762. DOI: 10.1002/jsfa.11372.
7. Iweala EJ, Uche ME, Dike ED, Etumnu LR, Dokunmu TM, Oluwapelumi AE, et al. *Curcuma longa* (Turmeric): ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicity profiles – a review. *Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine*. 2023;6:100222. DOI: 10.1016/j.prmcm.2023.100222.
8. Zhang P, Liu H, Yu Y, Peng S, Zhu S. Role of *Curcuma longae* rhizoma in medical applications: research challenges and opportunities. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1430284. DOI: 10.3389/fphar.2024.1430284.
9. Vashist S, Sharma S, Kumari J, Gadewar M, Arora S. A review on curcumin and its use as novel drug delivery system. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*. 2022;9(3):148–153. DOI: 10.21276/apjhs.2022.9.3.30.

10. Maithilikarpagaselvi N, Sridhar MG, Sripradha R. Evaluation of free radical scavenging activities and phytochemical screening of *Curcuma longa* extracts. *Journal of Young Pharmacists*. 2020;12(2):113–117. DOI: 10.5530/jyp.2020.12.23.
11. Anas M, Falak A, Khan A, Khattak WA, Nisa SG, Aslam Q, et al. Therapeutic potential and agricultural benefits of curcumin: a comprehensive review of health and sustainability applications. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences* [Internet]. 2024 November 5 [cited 2025 January 10]:[about 16 p.]. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43994-024-00200-7#citeas>. DOI: 10.1007/s43994-024-00200-7.
12. Sathyabhama M, Priya Dharshini LC, Karthikeyan A, Kalaiselvi S, Min T. The credible role of curcumin in oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction in mammals. *Biomolecules*. 2022;12(10):1405. DOI: 10.3390/biom12101405.
13. Tuong DTC, Moniruzzaman M, Smirnova E, Chin S, Sureshbabu A, Karthikeyan A, et al. Curcumin as a potential antioxidant in stress regulation of terrestrial, avian, and aquatic animals: a review. *Antioxidants*. 2023;12(9):1700. DOI: 10.3390/antiox12091700.
14. Rahaman MM, Rakib A, Mitra S, Tareq AM, Emran TB, Shahid-Ud-Daula AFM, et al. The genus *Curcuma* and inflammation: overview of the pharmacological perspectives. *Plants*. 2021;10(1):63. DOI: 10.3390/plants10010063.
15. Buhrmann C, Brockmueller A, Mueller A-L, Shayan P, Shakibaei M. Curcumin attenuates environment-derived osteoarthritis by Sox9/NF- κ B signaling axis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(14):7645. DOI: 10.3390/ijms22147645.
16. Edwards RL, Luis PB, Nakashima F, Kunihiro AG, Presley S-H, Funk JL, et al. Mechanistic differences in the inhibition of NF- κ B by turmeric and its curcuminoid constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(22):6154–6160. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c02607.
17. Hsu K-Y, Ho C-T, Pan M-H. The therapeutic potential of curcumin and its related substances in turmeric: from raw material selection to application strategies. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2023;31(2):194–211. DOI: 10.38212/2224-6614.3454.
18. Abdel-Kader MS, Salkini AA, Alam P, Alshahrani KA, Foudah AI, Alqarni MH. A high-performance thin-layer chromatographic method for the simultaneous determination of curcumin I, curcumin II and curcumin III in *Curcuma longa* and herbal formulation. *Separations*. 2022;9(4):94. DOI: 10.3390/separations9040094.
19. Dai C, Lin J, Li H, Shen Z, Wang Y, Velkov T, et al. The natural product curcumin as an antibacterial agent: current achievements and problems. *Antioxidants*. 2022;11(3):459. DOI: 10.3390/antiox11030459.
20. Adamczak A, Ożarowski M, Karpiński TM. Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity. *Pharmaceuticals*. 2020;13(7):153. DOI: 10.3390/ph13070153.
21. Shukla A, Parmar P, Rao P, Goswami D, Saraf M. Twin Peaks: presenting the antagonistic molecular interplay of curcumin with LasR and LuxR quorum sensing pathways. *Current Microbiology*. 2020;77(8):1800–1810. DOI: 10.1007/s00284-020-01997-2.
22. Abdulrahman H, Misba L, Ahmad S, Khan AU. Curcumin induced photodynamic therapy mediated suppression of quorum sensing pathway of *Pseudomonas aeruginosa*: an approach to inhibit biofilm *in vitro*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2020;30:101645. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.101645.
23. Trigo-Gutierrez JK, Vega-Chacón Y, Soares AB, Mima EGO. Antimicrobial activity of curcumin in nanoformulations: a comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(13):7130. DOI: 10.3390/ijms22137130.
24. Narayanan VS, Muddaiah S, Shashidara R, Sudheendra US, Deepthi NC, Samaranayake L. Variable antifungal activity of curcumin against planktonic and biofilm phase of different *Candida* species. *Indian Journal of Dental Research*. 2020;31(1):145–148. DOI: 10.4103/ijdr.IJDR_521_17.
25. Phuna ZX, Yu JKE, Tee JY, Chuah SQ, Tan NWH, Vijayabalan S, et al. *In vitro* evaluation of nanoemulsions of curcumin, piperine, and tualang honey as antifungal agents for *Candida* species. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. 2020;7(3):189–197. DOI: 10.30491/JABR.2020.109997.
26. Song L, Zhang F, Yu J, Wei C, Han Q, Meng X. Antifungal effect and possible mechanism of curcumin mediated photodynamic technology against *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*. 2020;167:111234. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2020.111234.
27. Zhang D, Yang Y, Yao B, Hu T, Ma Z, Shi W, et al. Curcumin inhibits *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production possibly by inducing ROS burst. *Food Research International*. 2023;167:112646. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.112646.
28. Legabão BC, Galinari CB, dos Santos RS, Bruschi ML, Gremião IDF, Boechat JS, et al. *In vitro* antifungal activity of curcumin mediated by photodynamic therapy on *Sporothrix brasiliensis*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2023;43:103659. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2023.103659.
29. Zarrinfar H, Behnam M, Hatamipour M, Sahebkar A. Antifungal activities of curcuminoids and difluorinated curcumin against clinical dermatophyte isolates. In: Barreto GE, Sahebkar A, editors. *Pharmacological properties of plant-derived natural products and implications for human health*. Cham: Springer; 2021. p. 101–107 (Crusio WE, Dong H, Radeke HH, Rezaei N, Steinlein O, Xiao J, editors. *Advances in experimental medicine and biology*; volume 1308). DOI: 10.1007/978-3-030-64872-5_8.
30. Prajapati J, Rao P, Poojara L, Goswami D, Acharya D, Patel SK, et al. Unravelling the antifungal mode of action of curcumin by potential inhibition of CYP51B: a computational study validated *in vitro* on mucormycosis agent, *Rhizopus oryzae*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2021;712:109048. DOI: 10.1016/j.abb.2021.109048.
31. Jiang T, Ghosh R, Charcosset C. Extraction, purification and applications of curcumin from plant materials – a comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;112:419–430. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.04.015.
32. Salehi B, Rodrigues CF, Peron G, Dall’Acqua S, Sharifi-Rad J, Azmi L, et al. Curcumin nanoformulations for microbial and wound healing purposes. *Phytotherapy Research*. 2021;35(5):2487–2499. DOI: 10.1002/ptr.6976.
33. Zhang S, Asghar S, Yu F, Hu Z, Ping Q, Chen Z, et al. The enhancement of N-acetylcysteine on intestinal absorption and oral bioavailability of hydrophobic curcumin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;154:105506. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105506.
34. Stohs SJ, Chen O, Ray SD, Ji J, Bucci LR, Preuss HG. Highly bioavailable forms of curcumin and promising avenues for curcumin-based research and application: a review. *Molecules*. 2020;25(6):1397. DOI: 10.3390/molecules25061397.
35. Hegde M, Girisa S, Bharathwaj Chetty B, Vishwa R, Kunnumakkara AB. Curcumin formulations for better bioavailability: what we learned from clinical trials thus far? *ACS Omega*. 2023;8(12):10713–10746. DOI: 10.1021/acsomega.2c07326.
36. Pancholi V, Smina TP, Kunnumakkara AB, Maliakel B, Krishnakumar IM. Safety assessment of a highly bioavailable curcumin – galactomannan complex (CurQfen) in healthy volunteers, with a special reference to the recent hepatotoxic reports of curcumin supplements: a 90-days prospective study. *Toxicology Reports*. 2021;8:1255–1264. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.06.008.
37. Shahriari M, Kesharwani P, Johnston TP, Sahebkar A. Anticancer potential of curcumin – cyclodextrin complexes and their pharmacokinetic properties. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;631:122474. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122474.

38. Ferreira L, Mascarenhas-Melo F, Rabaça S, Mathur A, Sharma A, Giram PS, et al. Cyclodextrin-based dermatological formulations: dermopharmaceutical and cosmetic applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2023;221:113012. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.113012.
39. Christaki S, Spanidi E, Panagiotidou E, Athanasopoulou S, Kyriakoudi A, Mourtzinis I, et al. Cyclodextrins for the delivery of bioactive compounds from natural sources: medicinal, food and cosmetics applications. *Pharmaceuticals*. 2023;16(9):1274. DOI: 10.3390/ph16091274.
40. Stepniak A, Biernacka M, Malecka M, Palecz B. Host – guest complexes of flavanone and 4'-chloroflavanone with naturals and modified cyclodextrin: a calorimetric and spectroscopy investigations. *Molecules*. 2024;29(13):3123. DOI: 10.3390/molecules29133123.
41. Fayaz H, Karthik K, Jaya Christiyan KG, Arun Kumar M, Sivakumar A, Kaliappan S, et al. An investigation on the activation energy and thermal degradation of biocomposites of jute/bagasse/coir/nano TiO₂/epoxy-reinforced polyaramid fibers. *Journal of Nanomaterials*. 2022;2022:3758212. DOI: 10.1155/2022/3758212.
42. Minarti M, Ariani N, Megawati M, Hidayat A, Hendra M, Primahana G, et al. Potential antioxidant activity methods DPPH, ABTS, FRAP, total phenol and total flavonoid levels of *Macaranga hypoleuca* (Reichb. f. & Zoll.) leaves extract and fractions. *E3S Web of Conferences*. 2024;503:07005. DOI: 10.1051/e3sconf/202450307005.
43. Sui H, Kawakami K, Sakurai N, Hara T, Nohmi T. Improvement and evaluation of high throughput fluctuation Ames test using 384-well plate with *Salmonella typhimurium* TA100 and TA98. *Genes and Environment*. 2009;31(2):47–55. DOI: 10.3123/jemsge.31.47.
44. Council of Europe. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes*. Strasbourg: [s. n.]; 1986. 48 p. (European treaty series; number 123).
45. Вайль СС. *Руководство по патолого-гистологической технике*. 3-е издание. Ленинград: Медгиз; 1947. 264 с.
46. Kumar V, Khan AA, Nagarajan K. Animal models for evaluation of wound healing activity. *International Bulletin of Drug Research*. 2013;3(5):93–107.
47. Капустин МА, Чубарова АС, Журихина ЛН, Курченко ВП, Цыганков ВГ. Токсиколого-гигиеническая характеристика наноструктур куркуминоидов с циклодекстринами. В: Сычик СИ, Шевляков ВВ, Итпаева-Людчик СЛ, Ивко НА, Гасич ЕЛ, Гузик ЕО и др., редакторы. *Здоровье и окружающая среда. Выпуск 33*. Минск: Издательский центр БГУ; 2023. с. 170–177.

Получена 01.02.2025 / исправлена 09.02.2025 / принята 10.02.2025.
Received 01.02.2025 / revised 09.02.2025 / accepted 10.02.2025.

Авторы:

Максим Александрович Капустин – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Анна Сергеевна Чубарова – кандидат биологических наук, доцент; старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Алексей Дмитриевич Лодыгин – доктор технических наук, профессор; заведующий кафедрой прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий.

Игорь Владимирович Ржепаковский – кандидат биологических наук, доцент; ведущий научный сотрудник межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии медико-биологического факультета.

Наталья Владимировна Дудчик – доктор биологических наук, доцент; заведующий лабораторией микробиологии.

Василий Георгиевич Цыганков – кандидат медицинских наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории комплексных проблем гигиены пищевых продуктов.

Владимир Петрович Курченко – кандидат биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Authors:

Maxim A. Kapustin, senior researcher at the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

maximkapustin84@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9307-4716>

Hanna S. Chubarova, PhD (biology), docent; senior researcher at the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

chubarova.hanna@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9123-5002>

Aleksei D. Lodygin, doctor of science (engineering), full professor; head of the department of applied biotechnology, faculty of food engineering and biotechnology.

alodygin@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>

Igor V. Rzhepakovsky, PhD (biology), docent; leading researcher at the interdepartmental scientific and educational laboratory of experimental immunomorphology, immunopathology and immunobiotechnology, faculty of medicine and biology.

78igorr@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2632-8923>

Natalia V. Dudchik, doctor of science (biology), docent; head of the laboratory of microbiology.

micro_sanitary@rspch.by

<https://orcid.org/0000-0002-5877-9307>

Vasili G. Tsygankow, PhD (medicine), docent; leading researcher at the laboratory of complex problems of food hygiene.

vgz@tut.by

<https://orcid.org/0000-0003-2263-9959>

Vladimir P. Kurchenko, PhD (biology), docent; head of the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

kurchenko@tut.by

<https://orcid.org/0000-0002-4859-2389>

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

УДК 575 + 519.234.6

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ДИНАМИКИ ЭНТРОПИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДОМ СНИЖЕНИЯ МУЛЬТИФАКТОРНОЙ РАЗМЕРНОСТИ

В. А. ИВАНЮКОВИЧ¹⁾, С. Б. МЕЛЬНОВ²⁾, МА МИН²⁾

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

²⁾Белорусский государственный университет физической культуры,
пр. Победителей, 105, 220020, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Метод снижения мультифакторной размерности (*multifactor dimensionality reduction*, MDR) позволяет с высокой точностью подбирать комбинации предикторов (генов, аллелей), соответствующих тому или иному фенотипу (исходу). Однако граф изменения энтропии и дендрограмма взаимодействия, которые строятся в реализующем этот метод программном приложении MDR (версия 3.0.2), не характеризуют ген-генные взаимо-

Образец цитирования:

Иванюкович ВА, Мельнов СБ, Ма Мин. Интерпретация динамики энтропии при проведении генетических исследований методом снижения мультифакторной размерности. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:40–46. EDN: PKZDXT

For citation:

Ivaniukovich UA, Melnov SB, Ma Min. Entropy dynamics interpretation in genetic studies with the multifactor dimensionality reduction method. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:40–46. Russian. EDN: PKZDXT

Авторы:

Владимир Александрович Иванюкович – кандидат физико-математических наук, доцент; доцент кафедры информационных технологий в экологии и медицине факультета мониторинга окружающей среды.

Сергей Борисович Мельнов – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры анатомии факультета оздоровительной физической культуры.

Ма Мин – аспирантка кафедры анатомии факультета оздоровительной физической культуры. Научный руководитель – С. Б. Мельнов.

Authors:

Uladzimir A. Ivaniukovich, PhD (physics and mathematics), docent; associate professor at the department of information technologies in ecology and medicine, faculty of environmental monitoring.

u.ivaniukovich@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-7273-6645>

Sergei B. Melnov, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of anatomy, faculty of health-improving physical education.

sbmelnov@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9820-4188>

Ma Min, postgraduate student at the department of anatomy, faculty of health-improving physical education.

<https://orcid.org/0009-0005-6003-7766>

действия. На примерах классификации спортсменов по данным их генотипов показано, что приложение строит граф изменения статистической энтропии при понижении размерности, который не соответствует силе и направленности реальных ген-генных взаимодействий, а описывает эффективность свертывания предикторов при объединении двух или более факторов в целях достижения максимальной точности классификации исходов.

Ключевые слова: генетика; моделирование; снижение мультифакторной размерности; ген-генные взаимодействия; генотип; фенотип; энтропия; статистический анализ; классификация.

ENTROPY DYNAMICS INTERPRETATION IN GENETIC STUDIES WITH THE MULTIFACTOR DIMENSIONALITY REDUCTION METHOD

U. A. IVANIUKOVICH^a, S. B. MELNOV^b, MA MIN^b

^aInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Dawgabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

^bBelarusian State University of Physical Culture, 105 Peramozhcaw Avenue,
Minsk 220020, Belarus

Corresponding author: U. A. Ivaniukovich (u.ivaniukovich@gmail.com)

Abstract. The multifactor dimensionality reduction (MDR) method allows to select the predictor (gene, allele) combinations corresponding to a particular phenotype (outcome) with high precision. However, the entropy change graph and interaction dendrogram constructed in the *MDR* (version 3.0.2) software implementing this method do not characterise gene – gene interactions. Using examples of athlete classification based on their genotypes, it is shown that the software constructs a statistical entropy change graph when reducing dimensionality, which does not correspond to the strength and direction of real gene – gene interactions, but describes the efficiency of predictor convolution when combining two or more factors in order to achieve maximum accuracy in classifying outcomes.

Keywords: genetics; simulation; multifactor dimensionality reduction; gene – gene interactions; genotype; phenotype; entropy; statistical analysis; classification.

Введение

При изучении фенотипов (исходов), связываемых с ген-генными или генно-средовыми взаимодействиями, часто предпринимаются попытки обнаружить и доказать причинно-следственную связь между данными взаимодействиями. Как правило, при этом рассматривается большое количество факторов (генов, локусов, условий окружающей среды и др.), которые могут оказывать воздействие на конечный результат, что делает анализ взаимодействий весьма сложным, но перспективным. Одним из популярных методов, обеспечивающих получение статистически обоснованных выводов о влиянии ген-генных и генно-средовых взаимодействий на исследуемые фенотипы, является метод снижения мультифакторной размерности (*multifactor dimensionality reduction*, MDR). Актуальная версия реализующего этот метод программного приложения *MDR* (версия 3.0.2) с открытым исходным кодом находится в свободном доступе на сайте *SourceForge* (<https://sourceforge.net/projects/mdr/>). Метод MDR – это непараметрический безмодельный метод обнаружения и описания нелинейных взаимодействий разной природы. По своей сути он является альтернативой логистической регрессии и может быть применен для анализа различных многофакторных процессов [1–3]. Данный метод позволяет уменьшить количество исследуемых параметров, статистически оценивая уровни повышения или понижения рисков формирования фенотипов и преобразовывая два или более фактора (признака) в один.

Большинство публикаций, связанных с MDR, посвящены анализу ген-генных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с заболеваниями. Эффективность этого метода в изучении генной природы заболеваний подтверждена многочисленными прикладными и модельными исследованиями [4–9]. Также он применяется для классификации данных, не связанных с заболеваниями, например при оценке физического потенциала человека на основе его генотипа [10] и других объектов [11]. Подбирая параметры моделей, можно получить высокую точность классификации. Программа находит наилучшую модель, рассчитывает статистические данные, характеризующие ее точность, а также предоставляет графическую визуализацию результатов. Среди них исследователи чаще всего обращают внимание на графические объекты, построенные в разделе «Энтропия». Большинство авторов статей, ссылающихся на графические модели энтропии, на наш взгляд, некорректно их интерпретируют, связывая изменения энтропии с исследуемыми эффектами ген-генных взаимодействий [4; 6; 7; 9; 11].

Целью настоящей работы является демонстрация того, что предлагаемые программным приложением *MDR* (версия 3.0.2) графические модели динамики энтропии не описывают ген-генные и генно-средовые взаимодействия, а отображают изменения статистической энтропии, происходящие при объединении двух или более факторов в целях понижения размерности изучаемого процесса. Для подтверждения такого вывода в статье демонстрируются изменения рассчитанных методом *MDR* энтропий в зависимости от условий классификации и количества измерений.

Материалы и методы исследования

В работе изучалась связь генотипов спортсменов, занимающихся циклическими видами спорта, с уровнем их достижений. Анализировались данные измерений, формирующие генотип спортсмена и содержащие 7 генов (*5HTT*, *ACE*, *AT2R1*, *GPX1*, *MTHFR*, *PPAPGCI*, *PPARA*). Они были собраны в ходе исследований с участием 94 испытуемых, проводившихся на протяжении последних 10 лет на базе Белорусского государственного университета физической культуры (кафедра анатомии), Полесского государственного университета (лаборатория лонгитудинальных исследований) и Международного государственного экологического института имени А. Д. Сахарова. Генотипирование осуществлялось методом ПЦР-анализа по стандартным методикам, описанным ранее¹ [12; 13]. Генотипы спортсменов оценивались в соответствии с достигнутыми результатами (кандидаты в мастера спорта, мастера спорта, мастера спорта международного класса). Предполагалось, что уровень достижений зависит от физиологических особенностей спортсмена, которые связаны с его генотипом. Классификация проводилась методом *MDR* с применением программного приложения *MDR* (версия 3.0.2) [1–3]. Построения моделей, в которых фенотип разделялся на три класса, давали низкую точность, что может быть объяснено недостаточным количеством измерений. Разделение спортсменов на два класса также основывалось на их достижениях, при этом группы формировались по разным правилам.

Правило 1: кандидаты в мастера спорта и мастера спорта – класс 0, мастера спорта международного класса – класс 1.

Правило 2: кандидаты в мастера спорта – класс 0, мастера спорта и мастера спорта международного класса – класс 1.

При моделировании с использованием данных, содержащих 7 генов, количество измерений в группах, сформированных по правилу 1, составляло 54 (класс 0) и 40 (класс 1), а в группах, сформированных по правилу 2, – 29 (класс 0) и 65 (класс 1).

Результаты и их обсуждение

Модели, построенные на основе исследуемых данных, обеспечили высокую точность классификации фенотипов, что подтверждено результатами статистического анализа, реализованного в программном приложении. Так, лучшая модель, построенная для групп, сформированных по правилу 1, характеризуется следующими статистическими показателями: точностью 0,94, чувствительностью 0,98, специфичностью 0,91, сбалансированной точностью (равна половине суммы чувствительности и специфичности) 0,94, отношением шансов 382,20 (доверительный интервал от 42,86 до 407,81), каппой Коэна 0,87, $\chi^2 = 71,86$ ($p < 0,0001$). Для лучшей модели, построенной для групп, сформированных по правилу 2, точность составляет 0,90, чувствительность – 0,86, специфичность – 1,00, сбалансированная точность – 0,93, отношение шансов стремится к бесконечности, каппа Коэна равна 0,79, $\chi^2 = 61,80$ ($p < 0,0001$). В обоих случаях значения согласованности перекрестных проверок (*cross validation consistency*, *CVC*) давали результат 10 из 10.

Приведенные статистические показатели убедительно свидетельствуют о том, что метод *MDR* и реализующее его программное приложение *MDR* (версия 3.0.2) могут быть использованы для прогнозирования достижений спортсменов в конкретных видах спорта по данным их генных профилей.

На рис. 1 и 2 представлены построенные программным приложением графы изменения энтропии для моделей, рассчитанных для групп, сформированных по правилам 1 и 2 соответственно. В интеллектуальном анализе данных важную роль играет изменение количества информации, которое оценивается в мерах энтропии (т. е. какая часть энтропии в статусе «случай – контроль» удаляется при рассмотрении фактора (в нашем случае генотипа)). Эта величина указана в вершинах графа. В методе *MDR* также оценивается количество информации о взаимодействии, полученной при объединении двух генотипов.

¹Лебедь Т. Л., Мельнов С. Б. Молекулярно-генетическое типирование полиморфизмов: генетический прогноз антропометрических характеристик спортсменов-гребцов : метод. рекомендации. Пинск : ПолесГУ, 2016. 25 с. ; Мельнов С. Б., Лебедь Т. Л., Кипень В. Н. Основы молекулярно-генетического анализа // Современные проблемы биохимии. Методы исследований : учеб. пособие / Е. В. Барковский [и др.] ; под ред. проф. А. А. Чиркина. Минск : Выш. шк., 2013. С. 404–438.

Веса ребер показывают силу (значение веса ребра в мерах энтропии) и направленность (знак в весе ребра) взаимодействий. Цвет линии указывает на характер взаимодействия между факторами: красный цвет соответствует выраженному синергизму, оранжевый – умеренному синергизму, коричневый – аддитивному взаимодействию, зеленый – умеренному антагонизму, синий – выраженному антагонизму.

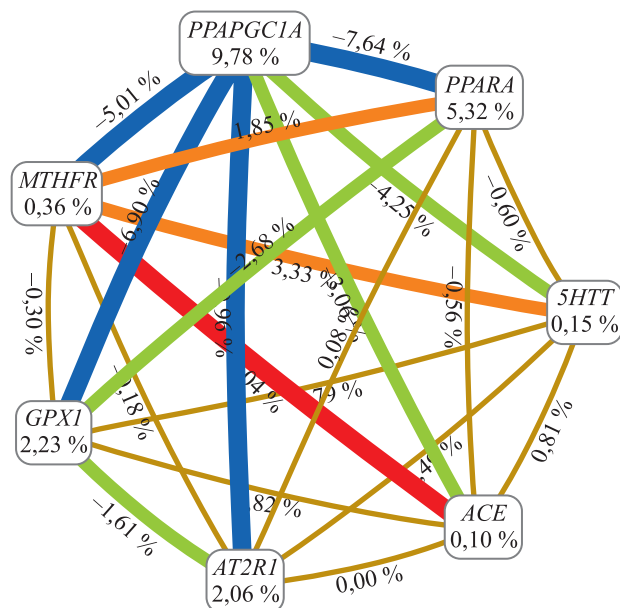


Рис. 1. Граф изменения энтропии для двух классов фенотипов:
класс 0 – кандидаты в мастера спорта и мастера спорта,
класс 1 – мастера спорта международного класса

Fig. 1. Graph of entropy changes for two classes of phenotypes:
class 0 – candidates for master of sports and masters of sports,
class 1 – masters of sports of international class

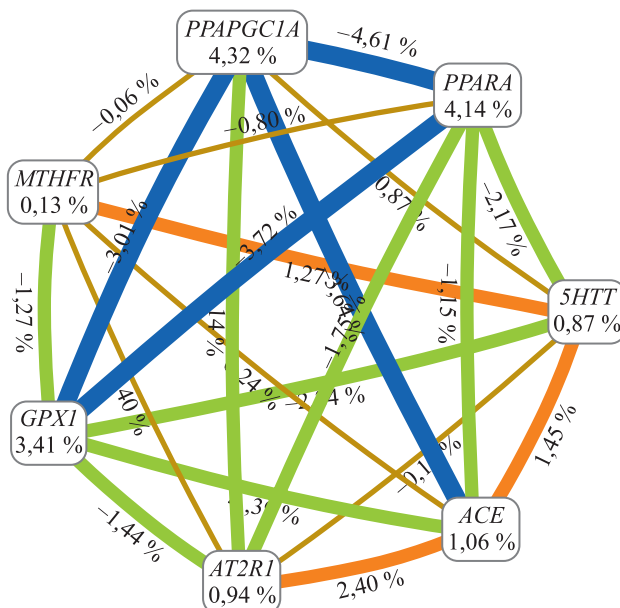


Рис. 2. Граф изменения энтропии для двух классов фенотипов:
класс 0 – кандидаты в мастера спорта,
класс 1 – мастера спорта и мастера спорта международного класса

Fig. 2. Graph of entropy changes for two classes of phenotypes:
class 0 – candidates for master of sports,
class 1 – masters of sports and masters of sports of international class

Представленные выше результаты указывают на существенные различия в характере взаимодействий между рассматриваемыми генами при несущественном изменении правил классификации. Очевидно, что в обеих моделях ген-генные взаимодействия должны быть одинаковыми (или по крайней мере очень близкими).

Наблюдаемые отличия могут быть объяснены только тем, что на графах приведены изменения статистической энтропии, характеризующей изменение количества информации, обусловленное учетом как самих генотипов, так и их взаимодействия. На графах показано, в каком направлении (знак в весе ребра) и с какой силой (значение веса ребра в мерах энтропии) изменится порядок в системе при замене двух взаимодействующих факторов одним. Эти данные не имеют ничего общего с природой ген-генных или генно-средовых взаимодействий, но позволяют с максимальной точностью оценить связь исхода с предикторами. В нашем случае это связь уровня достижений спортсмена (фенотипа) с комбинацией аллелей исследуемых генов (генотипом).

Такой вывод подтверждают и результаты моделирования для групп, сформированных по правилу 1, но при меньшем количестве измерений: случайным образом выбраны около 67 % измерений в классе 0 (использованы 34 измерения) и классе 1 (отобраны 29 измерений). Сформированный программным приложением граф изображен на рис. 3. Здесь различия с рис. 1 еще более значимы, несмотря на то что модели построены на основе данных из одной совокупности, классифицируемых по одинаковому правилу. Такие различия можно объяснить тем, что уменьшение количества обрабатываемых данных приводит к понижению на каждом шаге алгоритма точности выбора комбинаций генов для уменьшения размерности.

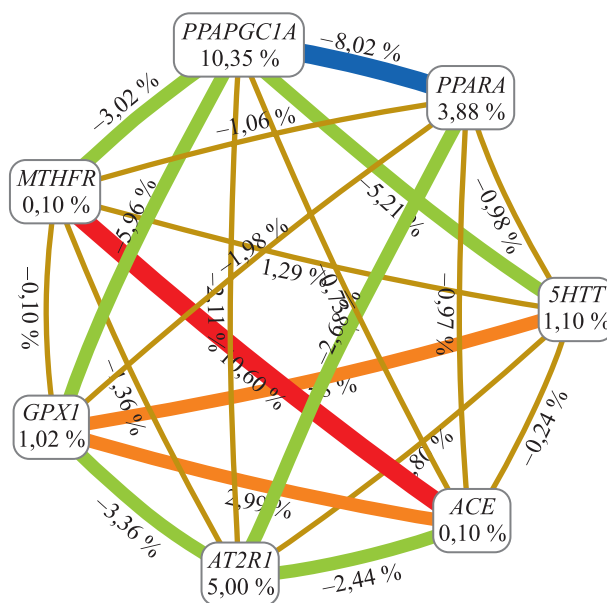


Рис. 3. Граф изменения энтропии, соответствующий условиям рис. 1, но построенный для меньшего количества измерений

Fig. 3. Entropy change graph corresponding to the conditions of fig. 1, but built for fewer dimensions

На основе созданных моделей изменения энтропии в рамках метода MDR формируются пути понижения размерности. Они наглядно представлены на дендрограммах взаимодействия, построенных методом иерархического кластерного анализа. На рис. 4–6 приведены дендрограммы взаимодействия, которые отвечают графам изменения энтропии на рис. 1–3 соответственно и показывают, в какой последовательности пары факторов заменяются одним фактором с максимально подобным эффектом. Чем короче линия, соединяющая два фактора, тем сильнее взаимодействие, проявляющееся в изменении энтропии. Видно, что пути понижения размерности для разных условий моделирования также сильно отличаются.

Подобные результаты получены и при моделировании на основе данных, включающих 11 генов (*5HTT*, *5HT2A*, *ACE*, *AGT_Thr174Met*, *AT2R1*, *BDKRB2*, *CYP1A2*, *GPX1*, *MTHFR*, *PPAPGC1A*, *PPARA*) и 74 испытуемых.

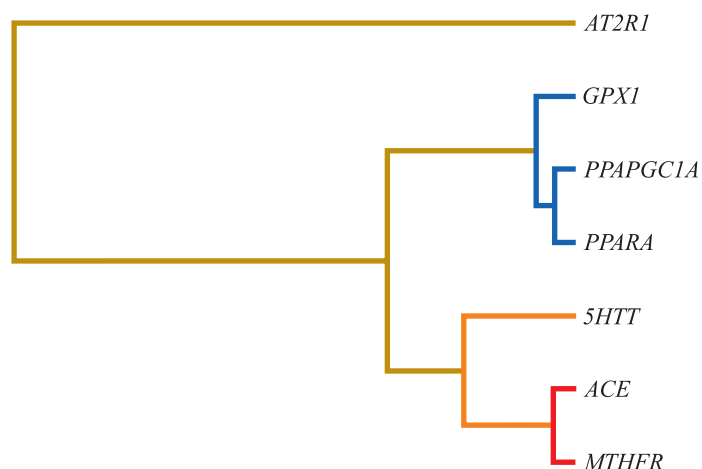


Рис. 4. Дендрограмма взаимодействия, иллюстрирующая последовательность понижения размерности на основе данных модели, изображенной на рис. 1

Fig. 4. Interaction dendrogram illustrating the sequence of dimensionality reduction based on data from the model shown in fig. 1

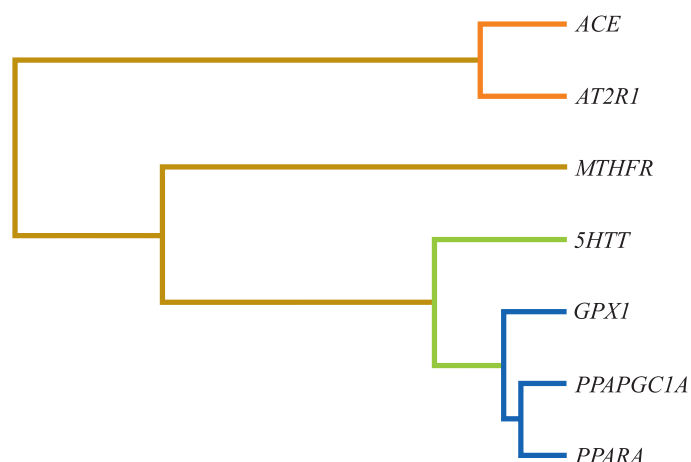


Рис. 5. Дендрограмма взаимодействия, иллюстрирующая последовательность понижения размерности на основе данных модели, изображенной на рис. 2

Fig. 5. Interaction dendrogram illustrating the sequence of dimensionality reduction based on data from the model shown in fig. 2

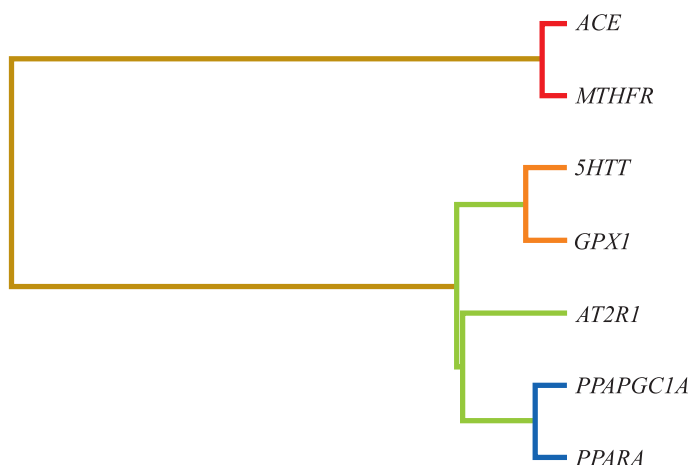


Рис. 6. Дендрограмма взаимодействия, иллюстрирующая последовательность понижения размерности на основе данных модели, изображенной на рис. 3

Fig. 6. Interaction dendrogram illustrating the sequence of dimensionality reduction based on data from the model shown in fig. 3

Заключение

Представленные результаты моделирования с помощью метода MDR демонстрируют, что графы изменения энтропии и дендрограммы взаимодействия, построенные программным приложением *MDR* (версия 3.0.2), не отражают взаимодействие генов, а являются иллюстрацией статистических инструментов, используемых для понижения размерности исследуемых систем в целях проведения классификации. Выводы о ген-генных и генно-средовых взаимодействиях могут быть сделаны на основе иной информации, предоставляемой приложением, например по данным графической модели или по результатам статистических оценок лучшей модели.

Библиографические ссылки

1. Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene – gene and gene – environment interactions. *Bioinformatics*. 2003;19(3):376–382. DOI: 10.1093/bioinformatics/btf869.
2. Motsinger AA, Ritchie MD. Multifactor dimensionality reduction: an analysis strategy for modelling and detecting gene – gene interactions in human genetics and pharmacogenomics studies. *Human Genomics*. 2006;2:318. DOI: 10.1186/1479-7364-2-5-318.
3. Yang C-H, Lin Y-D, Yang C-S, Chuang L-Y. An efficiency analysis of high-order combinations of gene – gene interactions using multifactor dimensionality reduction. *BMC Genomics*. 2015;16:489. DOI: 10.1186/s12864-015-1717-8.
4. Пономаренко ИВ. Использование метода *multifactor dimensionality reduction* (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор). *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2019;5(1):4–21. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1.
5. Singh SA, Ghosh SK. Polymorphisms of XRCC1 and XRCC2 DNA repair genes and interaction with environmental factors influence the risk of nasopharyngeal carcinoma in Northeast India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2016;17(6):2811–2819. DOI: 10.14456/apjcp.2016.13.
6. Liao ZY, Yang S, Hu S, Liu J, Mao YJ, Sun SQ. Association between gene polymorphisms and SNP-SNP interactions of the matrix metalloproteinase 2 signaling pathway and the risk of vascular senescence. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2024;37(2):146–156. DOI: 10.3967/bes2024.016.
7. Бочарова АВ, Марусин АВ, Макеева ОА, Жукова ИА, Жукова НГ, Федоренко ОЮ и др. Межгенные взаимодействия при заболеваниях с нарушениями когнитивных функций человека. *Медицинская генетика*. 2022;21(7):24–29. DOI: 10.25557/2073-7998.2022.07.24-29.
8. Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, Bailey LR, Dupont WD, Parl FF, et al. Multifactor dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *The American Journal of Human Genetics*. 2001;69(1):138–147.
9. Сташкевич ДС, Беляева СВ, Филиппова ЮЮ, Бурмистрова АЛ. Межгенные взаимодействия генов цитокинов *IL1*, *IL1RA*, *IL6*, *IL10* и *TNFA* у больных синдромом раздраженного кишечника и неспецифическим язвенным колитом русской популяции Челябинской области. *Медицинская иммунология*. 2018;20(6):921–926. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-6-921-926.
10. Иванюкович ВА, Николаенко ЕА, Мельнов СБ, Жур НВ, Лебедь ТЛ. Влияние классификации исходов на результат моделирования и прогнозирования методом MDR. В: Родькин ОИ, Герменчук МГ, редакторы. *Сахаровские чтения 2023 года: экологические проблемы XXI века. Материалы 23-й Международной научной конференции; 18–19 мая 2023 г.; Минск, Беларусь. Часть 2*. Минск: ИВЦ Минфина; 2023. с. 301–305.
11. Кипень ВН, Михайлова МЕ, Снытков ЕВ, Романишко ЕЛ, Иванова ЕВ, Шейко РИ. Биоинформатический анализ геномов коммерческих пород домашних свиней для идентификации породоспецифичных SNP. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук*. 2021;59(4):464–476. DOI: 10.29235/1817-7204-2021-59-4-464-476.
12. Козлова АС, Лебедь ТЛ, Малиновская ЮВ, Мельнов СБ. Генетические маркеры сердечно-сосудистой патологии спортсменов спорта высших достижений. *Экологический вестник*. 2014;2:42–49. EDN: QTMWGY.
13. Шепелевич НВ, Лебедь ТЛ, Мельнов СБ. Особенности генетического профиля выносливости у спортсменов-гребцов. *Экологический вестник*. 2013;4:20–24. EDN: HEJUNO.

Получена 29.06.2024 / исправлена 31.10.2024 / принята 01.11.2024.
Received 29.06.2024 / revised 31.10.2024 / accepted 01.11.2024.

УДК 582.288.22

ПИКНИДИАЛЬНЫЕ СЕПТОРИОПОДОБНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ БЕЛАРУСИ. ПЕРВОЕ ДОПОЛНЕНИЕ К СПИСКУ ВИДОВ

И. А. ФЕДЮШКО¹⁾

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

Аннотация. Сообщается о находках 26 новых для территории Беларуси видов пикнидиальных септориоподобных микромицетов из родов *Septoria*, *Sphaerulina*, *Phaeoseptoria* и *Rhabdospora*. Приводятся описания и иллюстрации выявленных видов пикнидиальных септориоподобных микромицетов. Виды *Septoria alliariae*, *S. astericola*, *S. crataegophila*, *S. endiviae*, *S. erysimi*, *S. matricariae*, *S. sisymbrii*, *S. sleumeri*, *Sphaerulina oxyacanthae*, *Rhabdospora intybi* рассматриваются как чужеродные для микобиоты Беларуси. На основании особенностей строения конидиом высказывается предположение о том, что виды *Septoria crataegophila* и *Sphaerulina oxyacanthae* целесообразно включить в группу ацервулярных септориоподобных микромицетов.

Ключевые слова: грибы; пикнидиальные септориоподобные микромицеты; Гербарий БГУ; MSKU; *Septoria*; *Sphaerulina*; *Phaeoseptoria*; *Rhabdospora*; аборигенный компонент микобиоты; чужеродный компонент микобиоты; растение-хозяин; Беларусь.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Природные ресурсы и окружающая среда» (подпрограмма «Биоразнообразие, биоресурсы, экология», задание 10.2.02 «Проблемы биологических инвазий и паразитарных угроз в природных и антропогенно трансформированных экосистемах», научно-исследовательская работа «Инвазивные фитопатогенные грибы, грибоподобные организмы и беспозвоночные животные на культивируемых и близкородственных дикорастущих растениях: статус в сообществах, распространение, диагностика» (№ гос. регистрации 20211704)). Автор выражает признательность доцентам кафедры ботаники биологического факультета БГУ кандидату биологических наук А. К. Храмцову и кандидату сельскохозяйственных наук В. Д. Поликсеновой за ценные замечания и рекомендации во время подготовки статьи.

Образец цитирования:

Федюшко ИА. Пикнидиальные септориоподобные микромицеты Беларуси. Первое дополнение к списку видов. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:47–69. EDN: KPYEIP

For citation:

Fiadziushka IA. Pycnidial *Septoria*-like micromycetes of Belarus. First addition to the list of species. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:47–69. Russian. EDN: KPYEIP

Автор:

Илья Александрович Федюшко – аспирант кафедры ботаники биологического факультета. Научный руководитель – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент В. Д. Поликсенова.

Author:

Ilya A. Fiadziushka, postgraduate student at the department of botany, faculty of biology.
fiadziushka.ilya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3465-2432>

PYCNIDIAL SEPTORIA-LIKE MICROMYCETES OF BELARUS. FIRST ADDITION TO THE LIST OF SPECIES

I. A. FIADZIUSHKA^a

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

Abstract. The article reports the findings of 26 new species of pycnidial *Septoria*-like micromycetes to the territory of Belarus from the genera *Septoria*, *Sphaerulina*, *Phaeoseptoria* and *Rhabdospora*. Descriptions and illustrations are provided of the identified species of pycnidial *Septoria*-like micromycetes. The species *Septoria alliariae*, *S. astericola*, *S. crataegophila*, *S. endiviae*, *S. erysimi*, *S. matricariae*, *S. sisymbrii*, *S. sleumeri*, *Sphaerulina oxyacanthae*, *Rhabdospora intybi* is considered alien to the mycobiota of Belarus. Based on the structural features of conidiomata, it is suggested that species *Septoria crataegophila* and *Sphaerulina oxyacanthae* should be included in the group of acervular *Septoria*-like micromycetes.

Keywords: fungi; pycnidial *Septoria*-like micromycetes; Herbarium of the Belarusian State University; MSKU; *Septoria*; *Sphaerulina*; *Phaeoseptoria*; *Rhabdospora*; native component of the mycobiota; alien component of the mycobiota; host plant; Belarus.

Acknowledgements. This work was carried out within the framework of the state programme of scientific research «Natural resources and environment» (subprogramme «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 author expresses gratitude to the associate professors at the department of botany, faculty of biology, Belarusian State University, PhD (biology) A. K. Khramtsov and PhD (agricultural sciences) V. D. Poliksenova for valuable comments and recommendations during the preparation of the article.

Введение

Пикнидиальные септориоподобные микромицеты – группа микроскопических анаморфных грибов, которая объединяет множество схожих по морфологии (строение конидий и конидиом), но филогенетически гетерогенных представителей [1; 2]. На территории Беларуси они изучены фрагментарно и лишь избирательно подтверждены фактическим материалом. Кроме того, отсутствует цельное исследование видового разнообразия и распространения.

Немногим ранее видовой список пикнидиальных септориоподобных микромицетов был пополнен 14 видами из 3 родов (из них 12 видов относятся к роду *Septoria*, 1 вид принадлежит к роду *Rhabdospora*, 1 вид – к роду *Stagonospora*), которые трофически приурочены к 9 семействам цветковых растений флоры Беларуси [3].

Данная публикация содержит результаты, полученные в ходе дальнейшего изучения видового разнообразия этой группы микромицетов на территории Беларуси.

Материалы и методы исследования

Объектом изучения являлись пикнидиальные септориоподобные микромицеты, трофически связанные с растениями семейств Asteraceae, Betulaceae, Brassicaceae, Cyperaceae, Lamiaceae, Onagraceae, Plantaginaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Sapindaceae.

В ходе исследования были обработаны собственные сборы, а также сборы других коллекторов (К. Ю. Бондарчик, Е. А. Брода, А. М. Воль, И. С. Гирилович, Гриценко (инициалы неизвестны), В. И. Дементей, Л. С. Драчан, Е. А. Митрошина, А. И. Пасюк, В. Д. Поликсенова, М. А. Роговая, А. К. Храмцов), хранящиеся в фонде Гербария БГУ.

Сбор собственного материала проводился маршрутным методом [4] в 2022–2023 гг.

Идентификация грибов и их растений-хозяев, изучение морфометрических показателей образцов выполнялись методами световой микроскопии с использованием бинокулярных микроскопов Stemi-2000 (*Carl Zeiss*, Германия) и «Микромед-2» (модель 2-20 inf.) (компания «Микромед», Россия), а также соответствующих определителей¹ [5] и монографий [6; 7]. Окраска пятен уточнялась по шкале цветов, представленной в работе [8]. Для усиления визуализации прозрачных объектов при микроскопировании использовался

¹Определитель высших растений Беларуси : учеб. пособие для студентов биол. специальностей высш. учеб. заведений / Т. А. Сауткина [и др.] ; ред. В. И. Парфенов. Минск : Дизайн ПРО, 1999. 472 с.

1 % водный раствор метиленового синего [9]. Валидность и синонимика латинских названий таксонов микромицетов и растений, а также их систематическое положение приведены в соответствии с международными глобальными базами данных Plants of the World Online² (для растений) и MycoBank³ (для микромицетов).

Для изучения изменчивости морфометрических характеристик конидий использованы следующие критерии описательной статистики⁴: $(\min -)Q_1 - Q_3(-\max)$, Mo , $\bar{X} \pm SE$, где $\min$ – минимальное значение признака; $Q_1 - Q_3$ – межквартильный размах; $\max$ – максимальное значение признака; Mo – мода; $\bar{X} \pm SE$ – среднее значение и стандартное отклонение. Объемы выборок (n) конидий каждого вида микромицетов составляли не менее 30 шт. Для диаметра пикнид указаны только минимальное и максимальное значения признака.

Статистический анализ данных выполнялся с использованием возможностей языка программирования R [10]. Перевод микрофотографий в векторные изображения, а также работа с графическим материалом осуществлялись с помощью бесплатного программного обеспечения *Inkscape*⁵.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования выявлено 26 видов грибов изучаемой группы микромицетов (11 видов грибов были приурочены к растениям семейства Asteraceae, 4 вида – к растениям семейства Rosaceae, 3 вида – к растениям семейства Brassicaceae, 2 вида – к растениям семейства Cyperaceae, по 1 виду микромицетов обнаружено на растениях семейств Betulaceae, Lamiaceae, Onagraceae, Plantaginaceae, Ranunculaceae, Sapindaceae), которые впервые приводятся для территории Беларуси.

Ниже представлены оригинальные описания выявленных грибов, сопровождающиеся иллюстрациями конидий и симптомов поражения растений. Приведены морфометрические характеристики структур пикнидиальных септориоподобных микромицетов с результатами статистической обработки данных, уточняющими ключевые диагностические признаки (количество поперечных перегородок спор, границы изменчивости размеров конидий и др.). В примечаниях указаны особенности, которые выявлены при сравнении с данными, приведенными в литературе, а также провизорные виды.

Семейство Asteraceae Bercht. & J. Presl (syn. Compositae Giseke)

Род *Achillea* L. (syn. *Ptarmica* Mill.)

Septoria achilleicola Melnik, Novosti sistematiki nizshikh rastenii 4: 270 (1967) (см. вклейку, рис. 1).

Анаморфа: *S. achilleicola* Melnik.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна буровато-серые, неясно ограниченные. Пикниды полупогруженные, диаметром до 50,0–90,0 мкм, рассеяны в толще тканей по конечным участкам листа, а также по нерасчлененным местам с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-образные, тонкие, слабо изогнутые, с заостренными концами, содержат липидные капли, имеют размер $(19,0 -)29,3 - 38,3(-50,0) \times 1,0 - 1,5(-2,0)$ мкм (по моде $30,0 \times 1,5$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $32,8 \pm 7,0 \times 1,3 \pm 0,3$ мкм, $n = 70$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(13,5 -)20,6 - 30,0(-39,0)$ (по моде 30,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $25,8 \pm 6,0$, $n = 70$ шт.). Количество перегородок 0–3(–4) шт., но чаще 3 шт.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Achillea millefolium* L., Минская область, Клецкий район, г. Клецк (MSKU-F 17218, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 14.08.2023); на листьях *A. millefolium* L. (syn. *A. collina* (Wirtg.) Becker ex Heimerl), Минская область, Столбцовский район, окрестности д. Новый Свержень (MSKU-F 17382, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 19.08.2023); на листьях *A. millefolium* L. (syn. *A. submellifolium* Klovov & Krytzka), г. Минск (MSKU-F 17389, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.09.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

Septoria ptarmicae Pass., Atti della Società Crittogamologica Italiana 2: 33 (1879) (см. вклейку, рис. 2).

Анаморфа: *S. ptarmicae* Pass.

Телеоморфа: неизвестна.

² Plants of the World Online [Electronic resource] / Royal Botanic Gardens, Kew. URL: <https://powo.science.kew.org> (date of access: 15.06.2024).

³ MycoBank database: fungal databases, nomenclature and species banks [Electronic resource]. URL: <https://www.mycobank.org> (date of access: 15.06.2024).

⁴ Шмидт В. М. Математические методы в ботанике : учеб. пособие. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1984. 288 с.

⁵ Inkscape. Рисуи свободно [Электронный ресурс]. URL: <https://www.inkscape.org/ru/> (дата обращения: 15.06.2024).

Описание ex planta. Пятна желтовато-буровато-серые, неясно ограниченные. Пикниды погруженные, диаметром до 180,0 мкм, рассеяны по конечным участкам листа, а также по нерасчлененным местам с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии I-образные, тонкие, слабо изогнутые, с усеченным основанием и заостренной верхушкой, без липидных капель, имеют размер (14,0–)16,5–22,0(–30,0) × (0,8–)1,0(–1,2) мкм (по моде 20,0 × 1,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 19,9 ± 3,9 × 0,9 ± 0,1 мкм, $n = 30$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (14,0–)16,5–25,0(–31,3) (по моде 25,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 20,5 ± 4,6, $n = 30$ шт.). Количество перегородок 0–1(–2) шт., но чаще 1 шт.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Achillea millefolium* L. (syn. *A. collina* (Wirtg.) Becker ex Heimerl), Минская область, Клецкий район, г. Клецк (MSKU-F 17244, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 14.08.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Обнаружение *S. achilleicola* и *S. ptarmicae* можно ожидать и на растениях других видов рода *Achillea*, которые, кроме вышеуказанных микромицетов, могут поражаться грибами *Rhabdospora millefolii* Oudem. (syn. *Septoria millefolii* (Oudem.) Grove) (конидии размером 10,0–12,0 × 2,0–2,5 мкм без перегородок) [6] и *S. leucanthemi* Sacc. & Speg.⁶ (конидии размером (67,0–)80,0–100,0(–125,0) × 2,5–3,0(–3,5) мкм с (5–)6–13 перегородками) [11].

Род *Symphyotrichum* Nees (syn. *Aster* L.)

Septoria astericola Ellis & Everh., Journal of Mycology 5(3): 150 (1889). Syn. *Leptothyrium astericola* (Ellis & Everh.) H. C. Greene, Transactions of the Wisconsin Academy of Science 53: 196 (1964) (см. вклейку, рис. 3).

Анаморфа: *S. astericola* Ellis & Everh.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлые или овальные, в центре светлые либо кофейного цвета, по краю с коричнево-черной каймой. Пикниды полупогруженные, диаметром 60,0–130,0 мкм, сгруппированы в центре пятна с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии I-образные, реже S-образные, тонконитевидные, прямые или изогнутые, у вершин утончаются, имеют размер (18,0–)39,0–50,0(–67,0) × (1,0–)1,2–1,5(–2,0) мкм (по моде 45,0 × 1,5 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 44,5 ± 8,7 × 1,4 ± 0,3 мкм, $n = 55$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (14,5–)26,7–36,7(–46,0) (по моде 33,3; среднее значение (со стандартным отклонением) 31,8 ± 7,4, $n = 55$ шт.). Перегородки в количестве (0–)3–4(–7) шт., но чаще 3 шт. слабо прослеживаются, при окрашивании более четко визуализируются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Symphyotrichum novi-belgii* (L.) G. L. Nesom (syn. *Aster novi-belgii* L.), Минская область, Логойский район, окрестности г. п. Плещеницы (MSKU-F 7119, коллектор И. С. Гирилович, дата сбора 20.09.2004), г. Минск (MSKU-F 7118, коллектор И. С. Гирилович, дата сбора 08.09.2004).

Общее распространение: Европа, Азия, Северная Америка.

Примечание. Данный вид можно рассматривать как чужеродный, так как он приурочен к адвентивным культивируемым растениям флоры Беларуси из родов *Aster*, *Callistephus* и *Symphyotrichum* [12].

Обнаружение *S. astericola* можно ожидать и на растениях видов вышеупомянутых родов, которые, кроме данного микромицета, могут поражаться следующими грибами: *S. asterina* Tharp (конидии размером 100,0–120,0 × 2,0–5,0 мкм со множеством перегородок), *S. asterum* Moesz & Smarods (конидии размером 32,0–42,0 × 2,0 мкм с 3 перегородками), *S. atropurpurea* Peck (конидии размером 16,5–75,0 × 1,0–2,0 мкм без перегородок), *S. callistephi* Gloyer (конидии размером 27,0–50,0 × 2,0–3,0 мкм с 1–2 перегородками), *S. punicea* Peck (конидии размером 100,0–110,0 × 1,0–1,5 мкм без перегородок), *S. tatarica* Syd. (конидии размером 22,0–40,0 × 1,0 мкм с 1–2 перегородками), *S. tharpiana* Trotter (конидии зеленоватые, размером 35,0–50,0 × 2,0–3,0 мкм с несколькими перегородками) [6], *S. linosyris* Hollós⁷ (конидии размером 40,0–70,0 × 2,0–3,0 мкм с 0–3 перегородками).

Род *Cirsium* Mill.

Septoria cirsii-heterophylli Petr., Annales Mycologici 23(1–2): 87 (1925) (см. вклейку, рис. 4).

Анаморфа: *S. cirsii-heterophylli* Petr.

Телеоморфа: неизвестна.

⁶*Septoria leucanthemi* Saccardo & Spegazzini, 1878 // Plantparasieten van Europa: bladmineerders, gallen en schimmels : website. Amsterdam, 2001–2024. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/dothideomycetes/dothideomycetidae/mycosphaerellales/mycosphaerellaceae/septoria/septoria-leucanthemi/?lang=nl> (date of access: 15.07.2024).

⁷*Septoria linosyris* Hollós, 1908 // Plantparasieten van Europa: bladmineerders, gallen en schimmels : website. Amsterdam, 2001–2024. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/dothideomycetes/dothideomycetidae/mycosphaerellales/mycosphaerellaceae/septoria/septoria-linosyris/?lang=nl> (date of access: 15.07.2024).

Описание ex planta. Пятна почти округлой формы, бледно-бурые или бежево-белые. Пикниды полупогруженные, диаметром 60,0–110,0 мкм, сгруппированы по пятну с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии I-образные, реже C-образные, игловидные, иногда булабовидные, местами могут быть изогнутыми, у вершин заостренные, содержат мелкие липидные капли, имеют размер (10,0–)14,8–20,0(–25,0) × (1,0–)1,2–1,5(–2,0) мкм (по моде 16,0 × 1,5 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 16,8 ± 3,6 × 1,5 ± 0,3 мкм, $n = 38$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (5,0–)9,8–13,5(–22,0) (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 11,6 ± 3,2, $n = 38$ шт.). Количество перегородок 0–1(–2) шт., но чаще они отсутствуют.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Cirsium oleraceum* (L.) Scop., г. Минск (MSKU-F 17391/1, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.09.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Обнаружение *S. cirsii-heterophylli* можно ожидать и на растениях других видов рода *Cirsium*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться следующими грибами: *S. bulgarica* Bubák & Malkoff (конидии размером 40,0–70,0 × 2,0 мкм с 1–4 перегородками), *S. cirsii* Niessl (конидии размером 48,0–84,0 × 1,5–2,5 мкм с 8–12 перегородками) [6], *S. cirsicola* Kuhn.-Lord. & J. P. Barry (конидии размером 37,0–56,0 × 2,0–3,0 мкм с 3–4 перегородками) [13].

На изученном в рамках данного исследования материале показано, что конидии гриба *S. cirsii-heterophylli* немного более короткие и иногда чуть более толстые, чем указано в монографии Д. Н. Тетеревниковой-Бабаян [6] (размеры конидий 20,0–40,0 × 1,0–1,5 мкм). Скорее всего, собранный автором настоящей статьи образец является одной из форм *S. cirsii-heterophylli*. Доказательством этому служит превалирующее формирование конидий без перегородок с мелкими липидными каплями.

Род *Centaurea* L.

***Septoria cyani* Hollós**, Ann. hist.-nat. Mus. natn. hung. 5: 462 (1907) (см. вклейку, рис. 5).

Анаморфа: *S. cyani* Hollós.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна расплывчатые, буроватые. Пикниды полупогруженные, диаметром 50,0–100,0 мкм, густо рассеяны по пятну с обеих сторон листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии I-образные, реже S-образные, нитевидные или тонкоцилиндрические, изогнутые, с закругленными концами, имеют размер (14,0–)16,0–20,8(–24,0) × 1,0–1,5(–2,0) мкм (по моде 20,0 × 1,5 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 18,2 ± 3,3 × 1,4 ± 0,3 мкм, $n = 44$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (6,7–)10,9–16,0(–24,0) (по моде 13,3; среднее значение (со стандартным отклонением) 13,9 ± 4,1, $n = 44$ шт.). Перегородки в количестве 0–2 шт. четко различимы, но чаще они отсутствуют.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Centaurea diffusa* Lam., Минская область, Столбцовский район, окрестности д. Новый Свержень (MSKU-F 17392, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 19.08.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Обнаружение *S. cyani* можно ожидать и на растениях других видов рода *Centaurea*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться следующими грибами: *S. aderholdii* Voglino (конидии размером 15,5–30,0 × 2,5–3,5 мкм с 0–3 перегородками), *S. psephelli* D. N. Babajan & Simonyan (конидии размером 36,0–63,0 × 1,6–3,3 мкм без перегородок) [6], *S. centaureae* (Roum.) Sacc. (конидии размером 35,0–80,0 × 2,0 мкм с 2–4 перегородками)⁸, *S. centaureicola* Brunaud (конидии размером 60,0–65,0 × 1,0–1,5 мкм) [14], *S. centaureae-asperae* Unamuno (конидии размером 17,5–38,5 × 3,5–3,8 мкм с 1–3 перегородками) [15], *S. collinae* Gonz. Frag.⁹ (конидии размером 30,0–48,0 × 2,0 мкм без перегородок), *S. leucanthemi* Sacc. & Speg. (конидии размером (67,0–)80,0–100,0(–125,0) × 2,5–3,0(–3,5) мкм с (5–)6–13 перегородками) [11].

Род *Cichorium* L.

***Septoria endiviae* Thüm.**, Bolletino della Società Adriatica di Scienze Naturali in Trieste 6(1): 137 (1880) (см. вклейку, рис. 6).

Анаморфа: *S. endiviae* Thüm.

⁸*Septoria centaureae* (Roumeguère) Saccardo, 1884 // Plantparasieten van Europa: bladmineerders, gallen en schimmels : website. Amsterdam, 2001–2024. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/dothideomycetes/dothideomycetidae/mycosphaerellales/mycosphaerellaceae/septoria/septoria-centaureae/?lang=nl> (date of access: 15.07.2024).

⁹*Septoria collinae* González Frago, 1916 // Plantparasieten van Europa: bladmineerders, gallen en schimmels : website. Amsterdam, 2001–2024. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/dothideomycetes/dothideomycetidae/mycosphaerellales/mycosphaerellaceae/septoria/septoria-collinae/?lang=nl> (date of access: 15.07.2024).

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна бесформенные, охватывающие большие участки листа, грязно-бурые, без каймы. Пикниды полупогруженные, диаметром 50,0–90,0 мкм, густо рассеяны по пятну с нижней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*- и *S*-образные, реже *C*-образные, нитевидные или тонкоцилиндрические, прямые либо изогнутые, у вершин суженные, округлые, имеют размер (14,0–)17,0–21,0(–27,0) × (1,0–)1,2–1,5(–2,0) мкм (по моде 17,0 × 1,5 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 18,8 ± 3,0 × 1,4 ± 0,3 мкм, *n* = 32 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (7,0–)11,3–15,7(–20,0) (по моде 11,3; среднее значение (со стандартным отклонением) 13,7 ± 3,3, *n* = 32 шт.). Перегородки в количестве 0–3 шт. более четко прослеживаются после окрашивания, но чаще они отсутствуют.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Cichorium intybus* L., Минская область, Дзержинский район, д. Станьково (MSKU-F 17380/1, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 20.09.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

***Rhabdospora intybi* (Pass.) Allesch.,** in O. Kuntze, Revis. gen. pl., vol. 3, pt. 3 (Leipzig): 511 (1898). Basionym: *Septoria intybi* Pass., Atti della Società Crittogamologica Italiana 2: 34 (1879) (см. вклейку, рис. 7).

Анаморфа: *R. intybi* (Pass.) Allesch.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой формы, угловатые, мелкие, темно-бурые, в центре бледнеющие. Пикниды погруженные, диаметром 70,0–160,0 мкм, рассеяны или скучены по пятну с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-образные, реже *S*-образные, тонконитевидные, игольчатые, с закругленным основанием и заостренной верхушкой, содержат неясные липидные капли, имеют размер (9,0–)15,0–19,0(–22,0) × 0,8–1,0(–1,5) мкм (по моде 16,0 × 1,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 16,7 ± 3,3 × 1,0 ± 0,1 мкм, *n* = 38 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (9,0–)14,8–21,0(–25,0) (по моде 16,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 17,6 ± 4,2, *n* = 38 шт.). Перегородки в количестве 0–3 шт. более различимы при окрашивании, но чаще они отсутствуют.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Cichorium intybus* L., Минская область, Несвижский район, д. Саска Липка (MSKU-F 17381/1, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 27.08.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Виды *S. endiviae* и *R. intybi* можно рассматривать как чужеродные, так как они приурочены к адвентивным растениям флоры Беларуси из рода *Cichorium* [12]. Обнаружение данных фитопатогенов можно ожидать и на растениях других видов рода *Cichorium*, которые, кроме вышеназванных микромицетов, могут поражаться грибом *S. cichori* Rodigin (syn. *S. cichori* Melnik) (конидии размером 50,0–120,0 × 1,5–3,0 мкм с 3–10 перегородками) [6].

Род *Eupatorium* L.

***Septoria eupatorii* Roberge ex Desm.,** Ann. Sci. Nat., Bot. Sér. 3, 20(2): 90 (1853) (см. вклейку, рис. 8).

Анаморфа: *S. eupatorii* Roberge ex Desm.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой формы или угловатые, коричневые, но со временем белеют, с широкой коричнево-пурпурной каймой, могут занимать значительную долю площади листа. Пикниды погруженные, диаметром 70,0–100,0 мкм, с течением времени прорываются открытым устьищем, рассеяны по пятну с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-, *C*-, *S*-образные, нитевидные или цилиндрические, на одном конце утонченные, на другом – закругленные, реже изогнутые, имеют размер (18,0–)22,0–29,0(–40,0) × (1,2–)1,5–2,0(–2,5) мкм (по моде 25,0 × 1,5 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 25,9 ± 4,5 × 1,6 ± 0,3 мкм, *n* = 44 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (8,8–)13,8–18,6(–25,0) (по моде 16,8; среднее значение (со стандартным отклонением) 16,3 ± 3,5, *n* = 44 шт.). Перегородки в количестве (0–)2(–4) шт. четко прослеживаются без окрашивания, но чаще они отсутствуют.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Eupatorium cannabinum* L., Минская область, Копыльский район, г. Копыль (MSKU-F 17378, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.08.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

Примечание. Обнаружение *S. eupatorii* можно ожидать и на растениях других видов рода *Eupatorium*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться грибом *S. albomaculans* Syd. & P. Syd. (конидии размером 35,0–52,0 × 1,0–1,5 мкм с 1–3 перегородками), вызывающим белую пятнистость листьев [6].

**Роды *Anthemis* L., *Matricaria* L. (syn. *Lepidotheca* Nutt.),
Tripleurospermum Sch. Bip.**

***Septoria matricariae* Hollós**, Ann. hist.-nat. Mus. natl. hung. 8: 5 (1910). Syn. *Septoria matricariae* Syd., Annales Mycologici 19(1–2): 143 (1921), *Septoria chamomillae* Andrian., Mikologiya i fitopatologiya 30(1): 10 (1996) (см. вклейку, рис. 9).

Анаморфа: *S. matricariae* Hollós.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна крупные, занимающие всю поверхность листа, бурые или светло-коричневые. Пикниды полупогруженные, диаметром 50,0–210,0 мкм, рассеяны по пятну с обеих сторон листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-, *C*-, *S*-образные, нитевидные, цилиндрические или тонкобулавовидные, с заостренной верхушкой и суженным основанием, имеют размер (20,0–)40,0–58,3(–90,0) × (1,5–)2,0–2,5(–4,0) мкм (по моде 50,0 × 2,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 49,7 ± 13,7 × 2,2 ± 0,5 мкм, *n* = 94 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (10,0–)17,5–30,0(–45,3) (по моде 20,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 23,9 ± 8,3, *n* = 94 шт.). Количество перегородок (0–)2–5(–7) шт., но чаще 3 шт.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Anthemis lithuanica* Besser ex DC., Минская область, Минский район, окрестности лесопарка «Дрозды» (MSKU-F 17371, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 12.09.2023); на листьях *Matricaria discoidea* DC. (syn. *Lepidotheca suaveolens* (Pursh) Nutt.), Минская область, Дзержинский район, д. Станьково (MSKU-F 17379, коллекторы И. А. Федюшко, К. Ю. Бондарчик, дата сбора 20.09.2023), г. Минск (MSKU-F 17372, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 17.09.2023), Несвижский район, окрестности железнодорожной станции «Городея» (MSKU-F 17375, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 08.08.2023) и окрестности п. Альба (MSKU-F 17755, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 21.06.2023); на листьях *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., Минская область, Дзержинский район, г. Дзержинск (MSKU-F 17385, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 20.08.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

Примечание. Данный вид можно рассматривать как чужеродный, так как он приурочен к адвентивным растениям флоры Беларуси из рода *Matricaria* (syn. *Lepidotheca*) [12]. Также на основе полученных в ходе настоящего исследования данных у гриба *S. matricariae* можно отметить расширение круга хозяев из других видов родов *Tripleurospermum* и *Anthemis*.

Как указано в монографии Д. Н. Тетеревниковой-Бабаян [6], а также в протологе *S. matricariae* Hollós [16], конидии этого микромицета одноклеточные. Собранные автором настоящей статьи образцы по описанию соответствуют *S. matricariae* Syd. (согласно протологу конидии многоклеточные [17]). Однако, принимая во внимание работу [11], эта номенклатурная комбинация была сведена в синонимы на основании молекулярно-генетических данных, а комбинация *S. matricariae* Hollós по приоритетности названия объединила в себе формы вышеназванного вида микромицетов с одноклеточными и многоклеточными конидиями.

Род *Lactuca* L.

***Septoria sleumeri* Petr.**, Sydowia 1(4–6): 229 (1947) (см. вклейку, рис. 10).

Анаморфа: *S. sleumeri* Petr.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой формы, темно-охристые, со временем становятся серо-оливковыми, без каймы. Пикниды погруженные, диаметром 40,0–50,0 мкм, рассеяны по пятну с верхней стороны листовой пластинки (лучше проявляются при смачивании пятна водой). Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-образные, игловидные, у вершин заостренные, имеют размер (11,0–)18,5–25,0(–27,0) × 0,8–1,0(–1,2) мкм (по моде 25,0 × 1,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 21,5 ± 4,2 × 0,9 ± 0,1 мкм, *n* = 32 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (11,0–)20,0–26,8(–31,3) (по моде 24,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 23,4 ± 4,9, *n* = 32 шт.). Количество перегородок (0–)1(–2) шт.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Lactuca serriola* L., Минская область, Столбцовский район, г. Столбцы (MSKU-F 17634, коллектор Е. А. Брода, дата сбора 17.08.2014).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Данный вид можно рассматривать как чужеродный, так как он приурочен к адвентивным растениям флоры Беларуси из рода *Lactuca*, среди которых имеются и культивируемые представители [15]. По данным Д. Н. Тетеревниковой-Бабаян [6], указанный микромицет для территории бывшего СССР не приводился.

Род *Artemisia* L.

Septoria tabacina Died., Annales Mycologici 14(3–4): 210 (1916) (см. вклейку, рис. 11).

Анаморфа: *S. tabacina* Died.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой или продолговатой формы, светло-серого либо табачного цвета, с неясной коричневой каймой. Пикниды полупогруженные, диаметром 70,0–150,0 мкм, с широким устьищем, рассеяны по пятну с верхней стороны листовой пластинки, сливаются с фоном пятна (лучше видны при смачивании материала). Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-, *C*-, *S*-образные, толстоцилиндрические, у основания тупоокруглые, на верхушке заостренные, имеют размер (30,0–)55,5–76,0(–100,0) × 3,0–4,0(–4,5) мкм (по моде 70,0 × 4,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 67,2 ± 16,5 × 3,6 ± 0,5 мкм, *n* = 40 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (8,8–)16,8–22,4(–28,3) (по моде 18,3; среднее значение (со стандартным отклонением) 19,0 ± 4,4, *n* = 40 шт.). Количество перегородок (0–)5–7(–9) шт., но чаще 7 шт.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Artemisia vulgaris* L., Минская область, Воложинский район, окрестности д. Бузуны (MSKU-F 17387, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 01.10.2023), г. Минск (MSKU-F 17219, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 12.09.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

Примечание. Обнаружение *S. tabacina* можно ожидать и на растениях других видов рода *Artemisia*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться следующими грибами: *S. artemisiae* Pass. (конидии размером 20,0–45,0 × 1,0–1,5 мкм без перегородок), *S. artemisiae-maritimae* Lobik (конидии размером 19,8–26,3 × 3,0–4,0 мкм без перегородок), *S. artemisiana* Garb. (конидии размером 60,0–70,0 × 2,0–3,0 мкм с 1–7 перегородками), *S. moeszii* Smarods (конидии размером 75,0–138,0 × 2,0–3,0 мкм без перегородок), *S. globosa* Strasser (конидии размером 50,0–60,0 × 2,5–3,0 мкм без перегородок), *S. kriegieriana* Bres. (конидии размером 45,0–60,0 × 2,0 мкм с несколькими перегородками) [6], *S. czuiliensis* Byzova (конидии размером 55,0–100,0 × 2,5–4,5 мкм с 3–6 перегородками) [7], *S. obesa* Syd. & P. Syd.¹⁰ (конидии размером 36,0–53,0 × 3,0 мкм с 5–11 перегородками).

Семейство Betulaceae Gray

Род *Betula* L.

Septoria betulina Pass., Atti della Società Crittogamologica Italiana 2: 40 (1879) (см. вклейку, рис. 12).

Анаморфа: *S. betulina* Pass.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна неправильной формы, угловатые, серые или бурые, с темно-зеленой каймой. Пикниды погруженные, диаметром 60,0–70,0 мкм, рассеяны с нижней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *S*- или *C*-образные, нитевидные либо цилиндрические, изогнутые, на верхнем конце заостренные, а на нижнем – округло-обрубленные, имеют размер (26,0–)39,0–47,0(–55,0) × (2,0–)2,5–3,0 мкм (по моде 50,0 × 3,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 42,7 ± 6,5 × 2,7 ± 0,4 мкм, *n* = 43 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (10,4–)14,3–17,9(–20,5) (по моде 20,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 16,2 ± 2,3, *n* = 43 шт.). Перегородки в количестве (2–)3–5(–6) шт., но чаще 3 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Betula pubescens* Ehrh., Минская область, Воложинский район, окрестности д. Бузуны (MSKU-F 17601, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 01.10.2023).

Общее распространение: Европа, Азия, Северная Америка.

Примечание. Обнаружение *S. betulina* также стоит ожидать и на растениях других видов рода *Betula*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться грибом *S. betulae-odoratae* Bubák & Vleugel (пикниды закладываются с верхней стороны листовой пластинки, конидии размером 50,0–68,0 × 3,5–4,0 мкм с 1–3 перегородками) [6].

Семейство Brassicaceae Burnett (syn. Cruciferae Juss.)

Род *Alliaria* Heist. ex Fabr.

Septoria alliariae Lobik, Bolezni rastenij 17(3–4): 178 (1928) (см. вклейку, рис. 13).

Анаморфа: *S. alliariae* Lobik.

Телеоморфа: неизвестна.

¹⁰*Septoria obesa* Sydow & Sydow, 1914 // Plantparasieten van Europa: bladmineerders, gallen en schimmels : website. Amsterdam, 2001–2024. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/dothideomycetes/dothideomycetidae/mycosphaerellales/mycosphaerellaceae/septoria/septoria-obesa/?lang=nl> (date of access: 15.07.2024).

Описание ex planta. Пятна неопределенной формы, темные, серовато-коричневые, с черной волнистой каймой. Пикниды полупогруженные, диаметром 50,0–90,0 мкм (могут быть более крупными при созревании и раскрытии поруса), рассеяны по пятну с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды рыхлой текстуры, с округлыми клетками перидия. Конидии *I*-образные, нитевидные, игольчатые, прямые или слабо изогнутые, с закругленными концами, могут содержать липидные капли, имеют размер $(9,0-23,0-27,0(-32,0) \times (0,8-1,0(-1,2))$ мкм (по моде $25,0 \times 1,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $24,9 \pm 4,7 \times 1,0 \pm 0,1$ мкм, $n = 87$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(11,3-21,7-27,0(-32,0))$ (по моде 25,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $24,1 \pm 4,2$, $n = 87$ шт.). Перегородки в количестве 0–1 шт. более четко прослеживаются при окрашивании.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Alliaria petiolata* (M. Bieb.) Cavara & Grande, Минская область, Минский район, аг. Прилуки (MSKU-F 17230, коллекторы И. А. Федюшко, К. Ю. Бондарчик, дата сбора 20.09.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Данный вид можно рассматривать как чужеродный, так как он приурочен к адвентивным для флоры Беларуси растениям рода *Alliaria* [12]. При более детальном микроскопировании границы морфометрических признаков конидий оказались немного шире, полностью перекрывая диапазон, представленный в монографии Д. Н. Тетеревниковой-Бабаян [6] ($16,5-23,0 \times 1,0$ мкм).

Род *Erysimum* Tourn. ex L.

Septoria erysimi Niessl, Verh. Naturf. Vereins Brünn: 37 (1864) (см. вклейку, рис. 14).

Анаморфа: *S. erysimi* Niessl.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна почти округлой формы, желтоватые, могут быть зеленоватыми, со светло-коричневой или зеленовато-желтой каймой. Пикниды погруженные, диаметром 100,0–180,0 мкм, сгруппированы в центре пятна с обеих сторон листовой пластинки, могут срастаться между собой. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*- или *C*-образные, цилиндрические, некоторые булавовидные, с закругленными концами, имеют размер $(21,0-26,0-32,0(-40,0) \times (2,0-2,5-3,0(-4,0))$ мкм (по моде $30,0 \times 3,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $29,9 \pm 4,7 \times 2,8 \pm 0,5$ мкм, $n = 59$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(7,0-9,3-12,5(-17,0))$ (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $11,0 \pm 2,2$, $n = 59$ шт.). Перегородки в количестве 0–3 шт., но чаще 1 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Erysimum virgatum* Roth (syn. *Erysimum strictum* G. Gaertn., B. Mey. & Scherb.), Минская область, Дзержинский район, аг. Негорелое (MSKU-F 7133, коллектор И. С. Гирилович, дата сбора 06.07.2003), г. Минск (MSKU-F 7132, коллектор И. С. Гирилович, дата сбора 22.06.2002).

Общее распространение: Европа, Азия.

Примечание. Обнаружение *S. erysimi* можно ожидать и на растениях других видов рода *Erysimum*. Данный вид микромицетов можно рассматривать как чужеродный, так как он строго приурочен ко многим адвентивным видам растений флоры Беларуси из рода *Erysimum* [6].

Род *Sisymbrium* L.

Septoria sisymbrii Henn. & Ranoj. s. l., Annales Mycologici 8(3): 390 (1910) (см. вклейку, рис. 15).

Анаморфа: *S. sisymbrii* Henn. & Ranoj. s. l.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой формы, угловатые, зеленовато-бурые или бледно-зеленые, могут быть зеленоватыми, с тонкой коричневатой каймой. Пикниды полупогруженные, диаметром 100,0–150,0 мкм, сгруппированы в центре пятна с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры, состоит из очень мелких клеток. Конидии *C*- и *S*-образные, цилиндрические, прямые или изогнутые, на концах суженные либо заостренные, имеют размер $(18,0-26,0-34,3(-50,0) \times (1,5-2,0-3,0))$ мкм (по моде $30,0 \times 3,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $30,7 \pm 6,2 \times 2,6 \pm 0,4$ мкм, $n = 62$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(6,0-9,7-14,1(-21,0))$ (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $12,0 \pm 3,3$, $n = 62$ шт.). Перегородки в количестве 0–1(–3) шт., чаще 1 шт., крайне редко 2–3 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Sisymbrium altissimum* L., Минская область, Минский район, окрестности д. Дружба (MSKU-F 7070, коллектор И. С. Гирилович, дата сбора 02.07.1996).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Законность названия этого вида является спорной (возможно, имеем дело со сборным комплексом видов). Полученные данные показывают, что изученный образец более всего соответствует варианту, описанному Дж. Б. Эллисом в 1882 г., – *Septoria sisymbrii* Ellis (конидии размером $30,0\text{--}40,0 \times 3,0\text{--}3,5$ мкм с 1–2 перегородками) [18]. Однако в 1910 г. П. К. Хеннингс и Н. Раневич описали одноименный вид *S. sisymbrii* Henn. & Ranoj. с более широким диапазоном признаков (конидии размером $19,0\text{--}62,0 \times 2,0\text{--}3,0$ мкм без перегородок или с 1–5 перегородками, реже 1–2 перегородками) [19].

В свою очередь, З. М. Бызова считала, что вид *S. sisymbrii* Henn. & Ranoj. нужно переименовать, чтобы не возникало путаницы между названиями, и предложила ввести новую номенклатурную комбинацию – *S. sisymbriicola* Byzova [7]. В монографии Д. Н. Тетеревниковой-Бабаян все вышеперечисленные номенклатурные комбинации сведены к варианту *S. sisymbrii* Kab. & Bub. (конидии размером $26,0\text{--}62,0 \times 2,0\text{--}4,0$ мкм с 1–5 перегородками) [6].

Исходя из базы данных MycoBank, валидным названием считается комбинация *S. sisymbrii* Niessl, описанная Г. Ниесслем в 1866 г. (конидии размером $17,9\text{--}39,6 \times 1,2$ мкм с 3–5 перегородками) [20]. Учитывая толщину конидий, *S. sisymbrii* Niessl является скорее другим видом, который по данному признаку отличается от *S. sisymbrii* Ellis, *S. sisymbrii* Henn. & Ranoj., *S. sisymbriicola* Byzova и *S. sisymbrii* Kab. & Bub.

На основании вышеизложенного для территории Беларуси приводим вид *S. sisymbrii* Henn. & Ranoj. s. l., который характеризуется более широким размахом микроскопических признаков, но при этом имеет сходные с синонимизированными видами симптомы поражения растений.

Обнаружение *S. sisymbrii* s. l. можно ожидать и на растениях других видов рода *Sisymbrium*. Данный вид микромицетов можно рассматривать как чужеродный, так как он строго приурочен к адвентивным для флоры Беларуси растениям рода *Sisymbrium* [6].

Семейство Cyperaceae Juss.

Род *Carex* L.

***Phaeoseptoria caricicola* (Sacc.) R. Sprague**, Research Studies of Washington State University 22(3): 162 (1954). Basionym: *Septoria caricicola* Sacc., Michelia 1(2): 196 (1878) (см. вклейку, рис. 16).

Анаморфа: *P. caricicola* (Sacc.) R. Sprague.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна продолговато-округлой формы, светло-серые или светло-желтые, с широкой расплывчатой темно-коричневой каймой. Пикниды погруженные, диаметром $100,0\text{--}180,0$ мкм, густо рассеяны с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии I- или S-образные, цилиндрические, слабо изогнутые, на обоих концах округло-обрубленные либо у основания округло-обрубленные, а на верхушке округло-суженные, окрашены в светло-коричневый цвет, содержат множество крупных липидных капель, имеют размер $(30,0\text{--})40,0\text{--}61,3\text{--}(75,0) \times (1,5\text{--})2,0\text{--}4,0\text{--}(5,0)$ мкм (по моде $40,0 \times 4,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $51,1 \pm 12,2 \times 3,1 \pm 0,9$ мкм, $n = 30$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(8,2\text{--})11,3\text{--}26,6\text{--}(37,5)$ (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $18,5 \pm 8,9$, $n = 30$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--})3\text{--}6\text{--}(8)$ шт., но чаще 4 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Carex hirta* L., Минская область, Несвижский район, аг. Новогородейский (MSKU-F 17246, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 08.08.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

***Septoria didymospora* Golovin**, Trudy Sredneaz. univ. 14(5): 38 (1950) (см. вклейку, рис. 17).

Анаморфа: *S. didymospora* Golovin.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна неопределенной формы, светло-желтые, со временем буровато-коричневые, с темной каймой. Пикниды полупогруженные, диаметром $80,0\text{--}180,0$ мкм, рассеяны с обеих сторон листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии I-образные, реже C-образные, толстоцилиндрические или веретеновидные, прямые либо изогнутые, на верхнем конце суженно-заостренные, а на нижнем – округло-обрубленные, имеют размер $(24,0\text{--})33,3\text{--}38,0\text{--}(50,0) \times (3,0\text{--})3,5\text{--}4,0\text{--}(4,5)$ мкм (по моде $37,0 \times 4,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $36,4 \pm 4,9 \times 3,7 \pm 0,4$ мкм, $n = 32$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(7,5\text{--})8,9\text{--}11,5\text{--}(12,7)$ (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $9,9 \pm 1,5$, $n = 32$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--})1\text{--}(3)$ шт., но чаще 1 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Carex spicata* Huds., г. Минск (MSKU-F 17247, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.09.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

Примечание. Обнаружение *P. caricicola* и *S. didymospora* можно ожидать и на растениях других видов рода *Carex*, которые, кроме вышеназванных микромицетов, могут поражаться следующими видами грибов, отмеченными в соседних с Беларусью странах: *S. caricina* Brunaud (конидии размером $35,0\text{--}55,0 \times 2,5\text{--}3,5$ мкм с 3–8 перегородками), *S. caricinella* Sacc. & Roum. (конидии размером $38,0\text{--}99,0 \times 1,0\text{--}1,5$ мкм с неясными перегородками), *S. caricis* Pass. (конидии размером $21,0\text{--}45,0 \times 2,0\text{--}3,0$ мкм без перегородок), *S. caricis-montanae* Vesterg. (конидии размером $46,0\text{--}56,0 \times 1,0$ мкм с 4–6 перегородками), *S. lineolata* Sacc. & Speg. (конидии размером $60,0\text{--}70,0 \times 1,75\text{--}2,00$ мкм с 6–8 перегородками), *S. punctoidea* P. Karst. (конидии размером $12,0\text{--}24,0 \times 1,5\text{--}2,0$ мкм без перегородок), *S. riparia* Pass. (конидии размером $30,0\text{--}68,0 \times 1,5\text{--}3,0$ мкм без перегородок) [6].

Семейство Lamiaceae Martinov (syn. Labiatae Juss.)

Род *Stachys* L.

***Septoria stachydicola* Hollós**, Math. Term. Közlem. 35(1): 60 (1926) (см. вклейку, рис. 18).

Анаморфа: *S. stachydicola* Hollós.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой формы, темно-пурпурные, с темной каймой. Пикниды погруженные, диаметром $80,0\text{--}130,0$ мкм, расположены по 1–3 шт. в центре пятна с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*- или *S*-образные, тонкоцилиндрические либо цилиндрические, прямые или изогнутые, на верхнем конце заостренные, а на нижнем – суженно-округлые, имеют размер $(17,0\text{--})39,0\text{--}50,0(–66,0) \times (1,5\text{--})2,0\text{--}2,2(–2,5)$ мкм (по моде $45,0 \times 2,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $43,0 \pm 10,0 \times 2,1 \pm 0,2$ мкм, $n = 39$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(8,5\text{--})17,5\text{--}22,7(–33,0)$ (по моде 22,5; среднее значение (со стандартным отклонением) $20,8 \pm 5,0$, $n = 39$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--})3\text{--}4(–6)$ шт., но чаще 3 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Stachys palustris* L., Минская область, Мядельский район, окрестности Нарочанской биологической станции (MSKU-F 17752, коллектор А. К. Храмов, дата сбора 07.09.2012).

Общее распространение: Европа, Северная Америка.

Примечание. Обнаружение *S. stachydicola* можно ожидать и на растениях других видов рода *Stachys*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться грибом *S. stachydis* Roberge ex Desm. (конидии размером $30,0\text{--}40,0 \times 1,0\text{--}2,0$ мкм без перегородок или с очень неясными перегородками) [6].

Семейство Onagraceae Juss.

Род *Epilobium* Dill. ex L.

***Septoria epilobii* Westend.**, Bulletin de l'Académie Royale des Sciences de Belgique Classe des Sciences 19(3): 120 (1852). Syn. *Septoria epilobii* Roberge ex Desm., Ann. Sci. Nat. Bot. Sér. 3, 20: 94 (1853) (см. вклейку, рис. 19).

Анаморфа: *S. epilobii* Westend.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна неопределенной формы, серо-желтые или желто-коричневые, с узкой черноватой каймой. Пикниды полупогруженные, диаметром $60,0\text{--}150,0$ мкм, рассеяны с верхней, реже с нижней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-образные, иногда *S*-образные, нитевидные или тонкоцилиндрические, прямые либо слабо изогнутые, на обоих концах округло-обрубленные, могут содержать липидные капли, имеют размер $(12,0\text{--})25,0\text{--}35,0(–45,0) \times 2,0\text{--}2,5(–4,0)$ мкм (по моде $32,0 \times 2,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $29,8 \pm 6,9 \times 2,3 \pm 0,4$ мкм, $n = 52$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(5,7\text{--})10,5\text{--}16,0(–22,5)$ (по моде 16,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $13,3 \pm 3,9$, $n = 52$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--})3(–5)$ шт., но чаще 3 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Epilobium hirsutum* L., г. Минск (MSKU-F 17747, коллектор Гриценко (инициалы неизвестны), дата сбора 23.06.2019).

Общее распространение: Европа, Азия, Северная Америка.

Примечание. Обнаружение *S. epilobii* можно ожидать и на растениях других видов рода *Epilobium*, а также рода *Chamaenerion* [6].



Рис. 1. *Septoria achilleicola* (MSKU-F 17218):
 а – пораженный участок листа *Achillea millefolium*; б – конидии
 Fig. 1. *Septoria achilleicola* (MSKU-F 17218):
 а – affected area of a *Achillea millefolium* leaf; б – conidia



Рис. 2. *Septoria ptarmicae* (MSKU-F 17244):
 а – пораженный участок листа *Achillea millefolium*; б – конидии
 Fig. 2. *Septoria ptarmicae* (MSKU-F 17244):
 а – affected area of a *Achillea millefolium* leaf; б – conidia

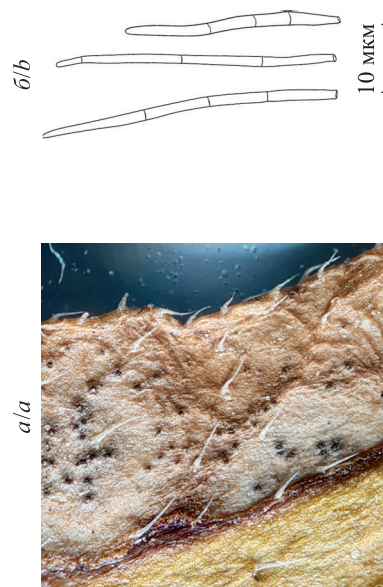


Рис. 3. *Septoria astericola* (MSKU-F 7119):
 а – пораженный участок листа *Symphyotrichum novi-belgii*; б – конидии
 Fig. 3. *Septoria astericola* (MSKU-F 7119):
 а – affected area of a *Symphyotrichum novi-belgii* leaf; б – conidia



Рис. 4. *Septoria cirsii-heterophylli* (MSKU-F 17391/1):
 а – пораженный участок листа *Cirsium oleraceum*; б – конидии
 Fig. 4. *Septoria cirsii-heterophylli* (MSKU-F 17391/1):
 а – affected area of a *Cirsium oleraceum* leaf; б – conidia

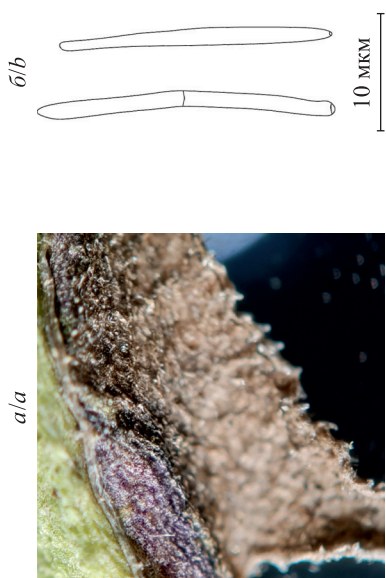


Рис. 5. *Septoria cyanii* (MSKU-F 17392):
 а – пораженный участок листа *Centaurea diffusa*; б – конидии
 Fig. 5. *Septoria cyanii* (MSKU-F 17392):
 а – affected area of a *Centaurea diffusa* leaf; b – conidia



Рис. 6. *Septoria endiviae* (MSKU-F 17380/1):
 а – пораженный участок листа *Cichorium intybus*; б – конидии
 Fig. 6. *Septoria endiviae* (MSKU-F 17380/1):
 а – affected area of a *Cichorium intybus* leaf; b – conidia



Рис. 7. *Rhabdospora intybi* (MSKU-F 17381/1):
 а – пораженный участок листа *Cichorium intybus*; б – конидии
 Fig. 7. *Rhabdospora intybi* (MSKU-F 17381/1):
 а – affected area of a *Cichorium intybus* leaf; b – conidia

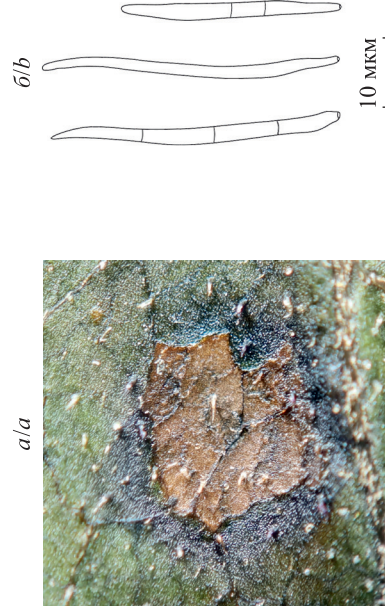


Рис. 8. *Septoria eupatorii* (MSKU-F 17378):
 а – пораженный участок листа *Eupatorium cannabinum*; б – конидии
 Fig. 8. *Septoria eupatorii* (MSKU-F 17378):
 а – affected area of a *Eupatorium cannabinum* leaf; b – conidia

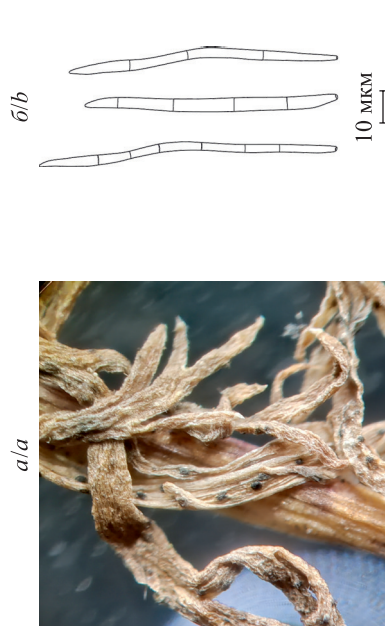


Рис. 9. *Septoria matricariae* (MSKU-F 17379):

a – пораженный участок листа *Matricaria discoidea*; *б* – конидии

Fig. 9. *Septoria matricariae* (MSKU-F 17379):

a – affected area of a *Matricaria discoidea* leaf; *b* – conidia



Рис. 10. *Septoria sleumeri* (MSKU-F 17634):

a – пораженный участок листа *Lactuca serriola*; *б* – конидии

Fig. 10. *Septoria sleumeri* (MSKU-F 17634):

a – affected area of a *Lactuca serriola* leaf; *b* – conidia

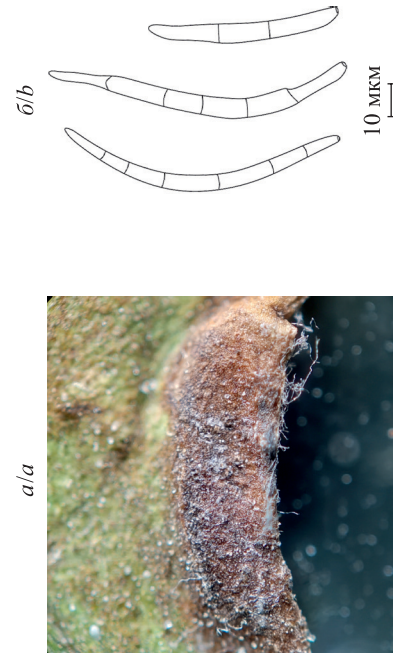


Рис. 11. *Septoria tabacina* (MSKU-F 17387):

a – пораженный участок листа *Artemisia vulgaris*; *б* – конидии

Fig. 11. *Septoria tabacina* (MSKU-F 17387):

a – affected area of a *Artemisia vulgaris* leaf; *b* – conidia

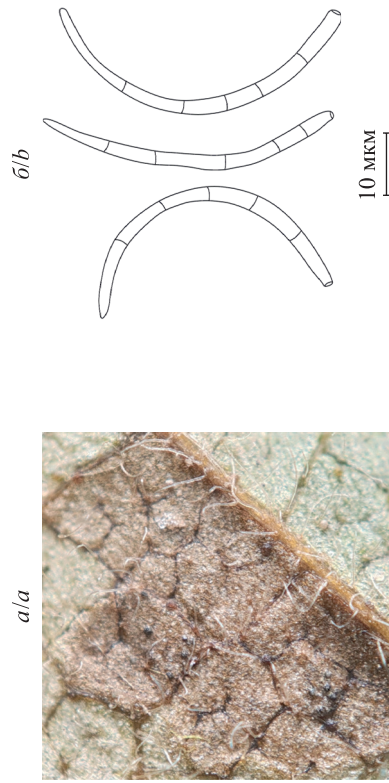


Рис. 12. *Septoria betulina* (MSKU-F 17601):

a – пораженный участок листа *Betula pubescens*; *б* – конидии

Fig. 12. *Septoria betulina* (MSKU-F 17601):

a – affected area of a *Betula pubescens* leaf; *b* – conidia



Рис. 13. *Septoria alliarum* (MSKU-F 17230):
 а – пораженный участок листа *Alliaria petiolata*; б – конидии
 Fig. 13. *Septoria alliarum* (MSKU-F 17230):
 а – affected area of a *Alliaria petiolata* leaf; б – conidia



Рис. 14. *Septoria erysimi* (MSKU-F 7133):
 а – пораженный участок листа *Erysimum virgatum*; б – конидии
 Fig. 14. *Septoria erysimi* (MSKU-F 7133):
 а – affected area of a *Erysimum virgatum* leaf; б – conidia

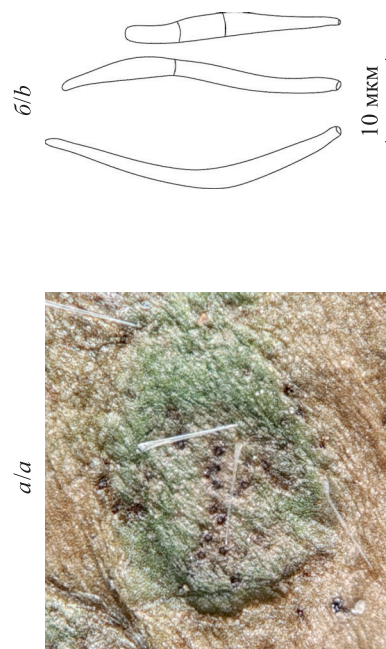


Рис. 15. *Septoria sisymbrii* (MSKU-F 7070):
 а – пораженный участок листа *Sisymbrium altissimum*; б – конидии
 Fig. 15. *Septoria sisymbrii* (MSKU-F 7070):
 а – affected area of a *Sisymbrium altissimum* leaf; б – conidia

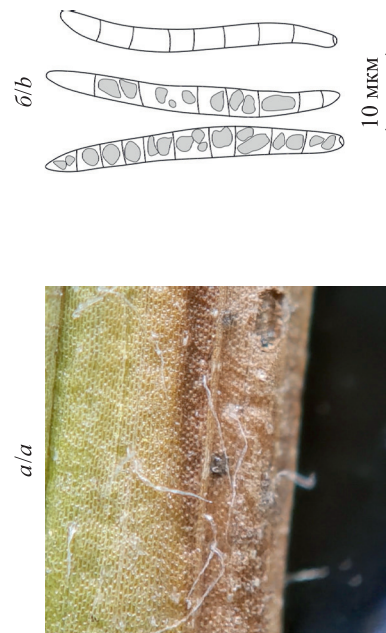


Рис. 16. *Phaeoseptoria caricicola* (MSKU-F 17246):
 а – пораженный участок листа *Carex hirta*; б – конидии
 Fig. 16. *Phaeoseptoria caricicola* (MSKU-F 17246):
 а – affected area of a *Carex hirta* leaf; б – conidia

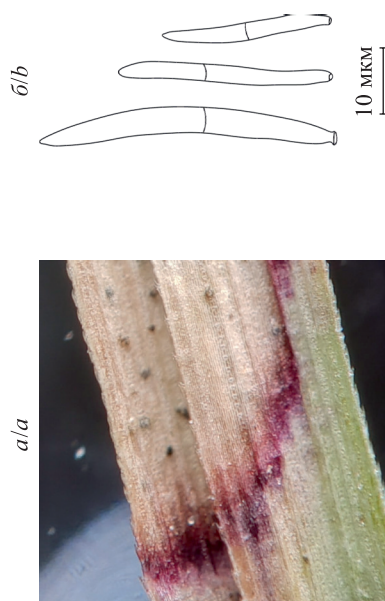


Рис. 17. *Septoria didymospora* (MSKU-F 17247):
 а – пораженный участок листа *Carex spicata*; б – конидии
 Fig. 17. *Septoria didymospora* (MSKU-F 17247):
 а – affected area of a *Carex spicata* leaf; б – conidia

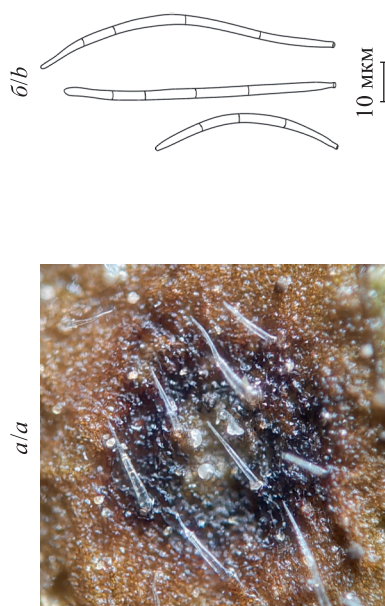


Рис. 18. *Septoria stachydicola* (MSKU-F 17752):
 а – пораженный участок листа *Stachys palustris*; б – конидии
 Fig. 18. *Septoria stachydicola* (MSKU-F 17752):
 а – affected area of a *Stachys palustris* leaf; б – conidia

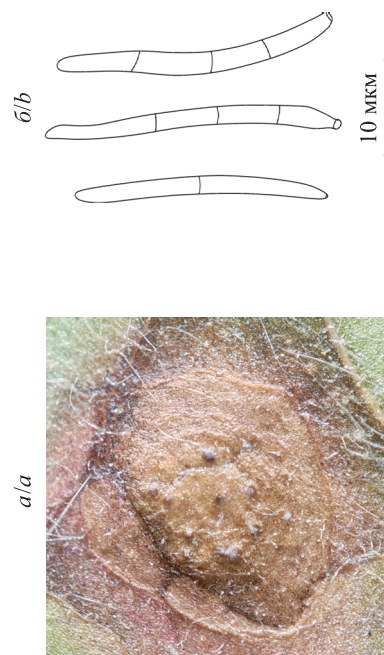


Рис. 19. *Septoria epilobii* (MSKU-F 17747):
 а – пораженный участок листа *Epilobium hirsutum*; б – конидии
 Fig. 19. *Septoria epilobii* (MSKU-F 17747):
 а – affected area of a *Epilobium hirsutum* leaf; б – conidia

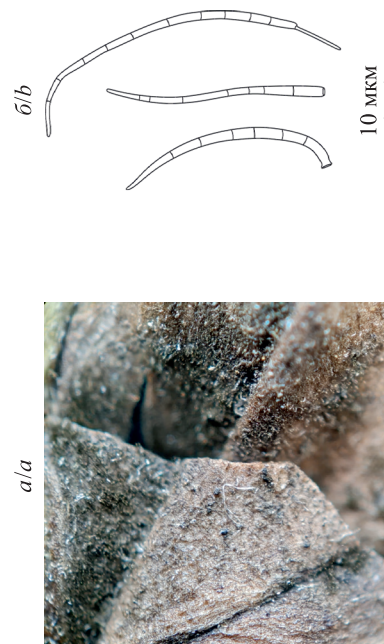


Рис. 20. *Septoria exotica* (MSKU-F 17305):
 а – пораженный участок листа *Veronica longifolia*; б – конидии
 Fig. 20. *Septoria exotica* (MSKU-F 17305):
 а – affected area of a *Veronica longifolia* leaf; б – conidia

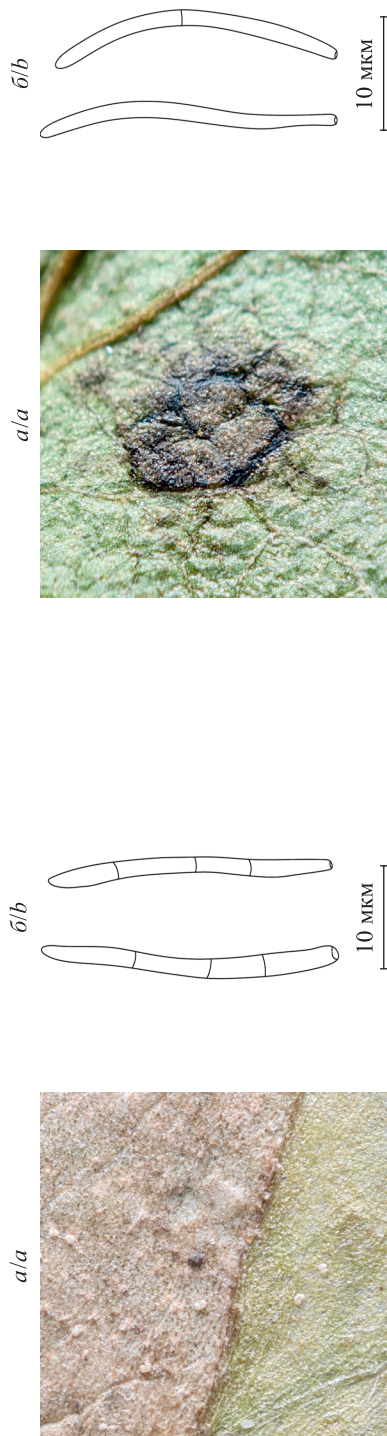


Рис. 21. *Septoria ficariicola* (MSKU-F 17311/1):
a – пораженный участок листа *Ranunculus ficaria*; б – конидии

Fig. 21. *Septoria ficariicola* (MSKU-F 17311/1):
a – affected area of a *Ranunculus ficaria* leaf; b – conidia

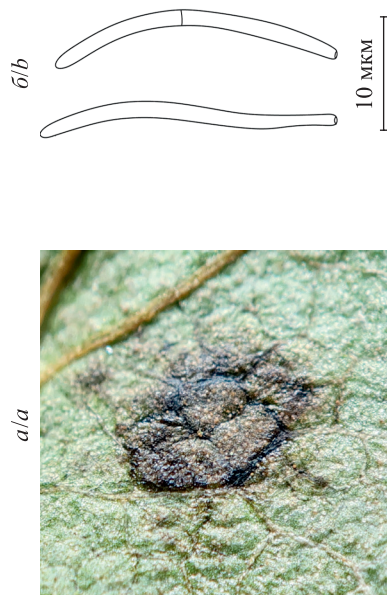


Рис. 22. *Sphaerulina oxyacanthae* (MSKU-F 17366):
a – пораженный участок листа *Crataegus monogyna*; б – конидии

Fig. 22. *Sphaerulina oxyacanthae* (MSKU-F 17366):
a – affected area of a *Crataegus monogyna* leaf; b – conidia



Рис. 23. *Septoria crataegophila* (MSKU-F 17759):
a – пораженный участок листа *Crataegus monogyna*; б – конидии

Fig. 23. *Septoria crataegophila* (MSKU-F 17759):
a – affected area of a *Crataegus monogyna* leaf; b – conidia

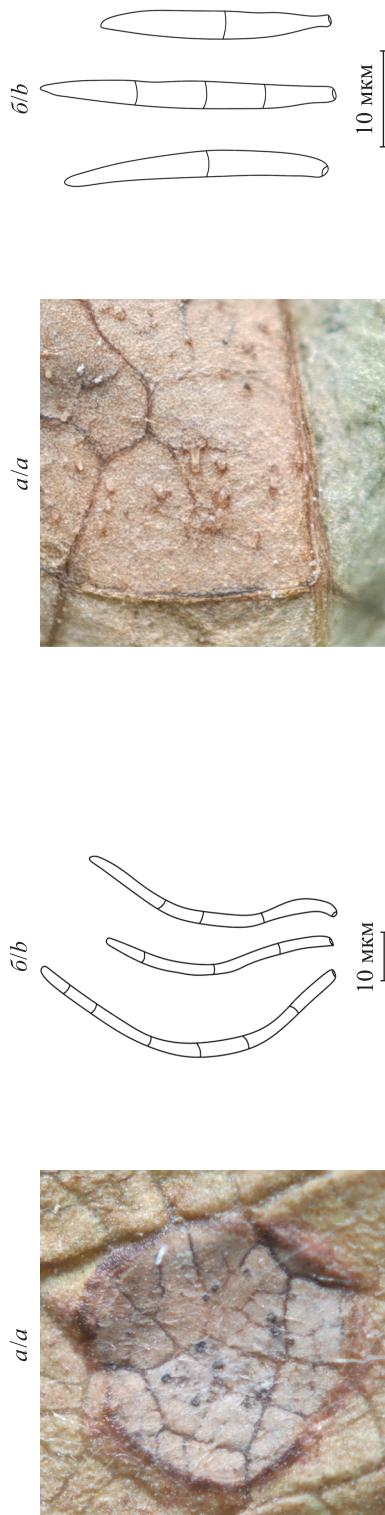


Рис. 24. *Sphaerulina tirolensis* (MSKU-F 17641):

a – пораженный участок листа *Rubus idaeus*; *б* – конидии

Fig. 24. *Sphaerulina tirolensis* (MSKU-F 17641):

a – affected area of a *Rubus idaeus* leaf; *b* – conidia

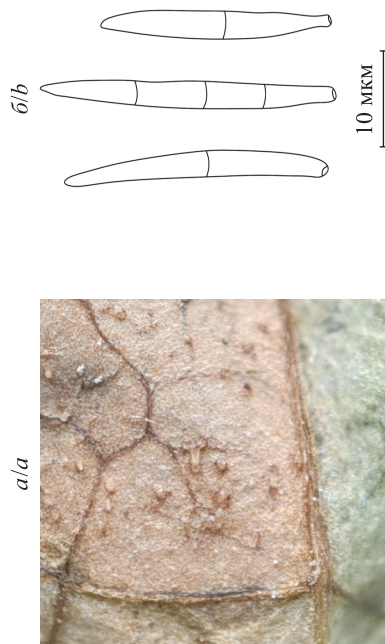


Рис. 25. *Septoria magnusiana* (MSKU-F 8477):

a – пораженный участок листа *Spiraea* sp.; *б* – конидии

Fig. 25. *Septoria magnusiana* (MSKU-F 8477):

a – affected area of a *Spiraea* sp. leaf; *b* – conidia

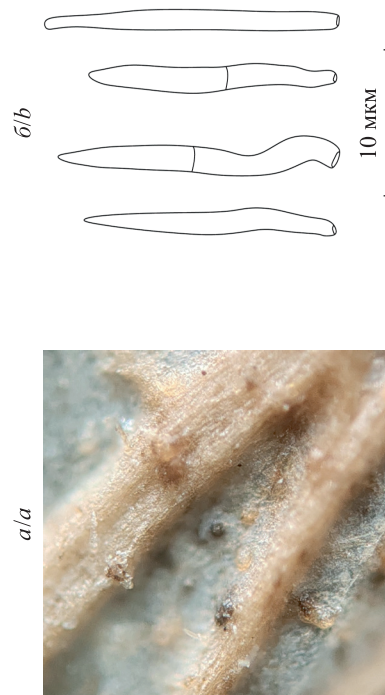


Рис. 26. *Septoria seminalis* (MSKU-F 17359/1):

a – пораженный участок крылатки *Acer negundo*; *б* – конидии

Fig. 26. *Septoria seminalis* (MSKU-F 17359/1):

a – affected area of a *Acer negundo* leaf; *b* – conidia

Семейство Plantaginaceae Juss.

Род *Veronica* L.

Septoria exotica Speg., Anales de la Sociedad Científica Argentina 10(1): 31 (1880) (см. вклейку, рис. 20).

Анаморфа: *S. exotica* Speg.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна неопределенной формы, на верхней стороне листа беловатые, со временем коричневые, с широкой пурпурной каймой, на нижней стороне листа коричневые. Пикниды погруженные, диаметром 75,0–90,0 мкм, сгруппированы в центре пятна или с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*- или *S*-образные, нитевидно-веретеновидные либо булабовидные, прямые или слабо изогнутые, на верхнем конце суженные, а на нижнем – округло-обрубленные, имеют размер $(13,0\text{--}20,0\text{--}26,0\text{--}32,0) \times (1,5\text{--}1,8\text{--}2,0\text{--}2,5)$ мкм (по моде $20,0 \times 2,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $22,9 \pm 4,7 \times 1,9 \pm 0,2$ мкм, $n = 35$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(7,2\text{--}10,0\text{--}13,5\text{--}20,7)$ (по моде 10,5; среднее значение (со стандартным отклонением) $12,1 \pm 3,0$, $n = 35$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--}1\text{--}3\text{--}4)$ шт., но чаще 1 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Veronica longifolia* L., г. Минск (MSKU-F 17305, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 12.09.2023).

Общее распространение: Европа, Южная Америка.

Примечание. Обнаружение *S. exotica* можно ожидать и на растениях других видов рода *Veronica*, которые, кроме вышеназванного микромицета, могут поражаться грибом *S. veronicae* Roberge & Desm. (конидии размером $15,0\text{--}50,0 \times 1,0\text{--}2,5$ мкм без перегородок) [6].

Семейство Ranunculaceae Juss.

Род *Ranunculus* L. (включая *Ficaria* Guett.)

Septoria ficariicola (Lasch) Sacc., Sylloge Fungorum 3: 522 (1884). Basionym: *Depazea ficariicola* Lasch, Klotzschii herbarium vivum mycologicum sistens fungorum per totam Germaniam crescentium collectionem perfectam. Editio prima. Centuria VI: no. 570 (1844). Syn. *Septoria ficariaecola* (Lasch) Sacc. (1884) (см. вклейку, рис. 21).

Анаморфа: *S. ficariicola* (Lasch) Sacc.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна неправильно округлой формы, бледно-охряные, без каймы. Пикниды погруженные, диаметром 32,5–100,0 мкм, рассеяны с верхней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*- или *S*-образные, реже *C*-образные, нитевидные, веретеновидные, слегка серповидно изогнутые, на верхнем конце заостренные, а на нижнем – обрубленные, имеют размер $(9,0\text{--}15,8\text{--}23,0\text{--}27,0) \times (1,0\text{--}1,2\text{--}1,5\text{--}2,0)$ мкм (по моде $20,0 \times 1,5$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $19,4 \pm 4,4 \times 1,4 \pm 0,2$ мкм, $n = 42$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(6,0\text{--}11,9\text{--}16,0\text{--}27,0)$ (по моде 13,3; среднее значение (со стандартным отклонением) $14,1 \pm 4,0$, $n = 42$ шт.). Перегородки в количестве $0\text{--}1\text{--}2)$ шт., но чаще 1 шт. слабо прослеживаются даже при окрашивании.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Ranunculus ficaria* L. (syn. *Ficaria verna* Huds.), Минская область, Молодечненский район, окрестности д. Сычевичи (MSKU-F 17311/1, коллекторы И. А. Федюшко, Е. А. Митрошина, дата сбора 20.05.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Как показано в литературе, микромицет *S. ficariicola* строго приурочен к растению *Ranunculus ficaria* (syn. *Ficaria verna*), которое также может поражаться грибом *S. ficariae* Desm. (конидии размером $25,0\text{--}35,0 \times 1,5$ мкм без перегородок) [6].

Семейство Rosaceae Juss.

Род *Crataegus* L.

Sphaerulina oxyacanthae (Kunze & J. C. Schmidt) Quaedvl., Verkley & Crous, Stud. Mycol. 75: 345 (2013). Basionym: *Septoria oxyacanthae* Kunze & J. C. Schmidt, Mykologische Hefte 2: 108 (1823). Syn.: *Phloeospora oxyacanthae* (Kunze & J. C. Schmidt) Wallr., Flora Cryptogamica Germaniae 2: 177 (1833), *Ascochyta oxyacanthae* (Kunze & J. C. Schmidt) Lib., Pl. Crypt. Arduenna Fasc. 2: no. 152 (1832) (см. вклейку, рис. 22).

Анаморфа: *S. oxyacanthae* (Kunze & J. C. Schmidt) Quaedvl., Verkley & Crous.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой или угловатой формы, пепельно-серые либо коричневые, с темно-коричневой выпуклой каймой и фиолетовым ореолом. Конидиомы неясной структуры (что-то среднее

между пикнидой и ложем), погруженные и покрытые эпидермисом, диаметром до 150,0 мкм, густо рассеяны с нижней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*- или *C*-образные, цилиндрические, прямые либо изогнутые, на обоих концах заостренные или у основания округло-обрубленные, имеют размер $(22,0\text{--}37,0\text{--}57,0\text{--}81,0) \times (1,5\text{--}1,8\text{--}2,0\text{--}3,0)$ мкм (по моде $45,0 \times 2,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $48,0 \pm 14,0 \times 2,0 \pm 0,3$ мкм, $n = 59$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(12,0\text{--}18,5\text{--}30,0\text{--}43,0)$ (по моде 16,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $24,9 \pm 7,7$, $n = 59$ шт.). Перегородки в количестве $(2\text{--}4\text{--}7\text{--}11)$ шт., но чаще 7 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Crataegus monogyna* Jacq., г. Минск (MSKU-F 17366, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 12.09.2023), Минская область, Несвижский район, г. Несвиж (MSKU-F 17147, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 06.08.2023) и окрестности д. Саска Липка (MSKU-F 17367, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 23.08.2023), Гомельская область, Мозырский район, г. Мозырь (MSKU-F 17759, коллектор М. А. Роговая, дата сбора 26.09.2023).

Общее распространение: Европа.

Septoria crataegophila Ranoj., Annales Mycologici 12(4): 408 (1914) (см. вклейку, рис. 23).

Анаморфа: *S. crataegophila* Ranoj.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна бесформенные, зеленоватые, со временем коричневые, без каймы. Конидиомы неясной структуры (что-то среднее между пикнидой и ложем), погруженные и покрытые эпидермисом, диаметром до 250,0–300,0 мкм, густо рассеяны с нижней стороны листовой пластинки. Конидии *I*-образные, реже *C*- или *S*-образные, толстоцилиндрические, прямые либо изогнутые, иногда веретеновидные или серповидные, на верхнем конце заостренно-округлые, а на нижнем – округлые либо суженно-округлые, содержат крупные липидные капли, имеют размер $(55,0\text{--}80,0\text{--}110,0\text{--}140,0) \times 5,0\text{--}6,0\text{--}8,0$ мкм (по моде $80,0 \times 5,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $94,4 \pm 21,9 \times 5,5 \pm 0,7$ мкм, $n = 35$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(9,4\text{--}14,5\text{--}20,0\text{--}24,0)$ (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) $17,1 \pm 4,1$, $n = 35$ шт.). Перегородки в количестве $(3\text{--}5\text{--}7\text{--}10)$ шт., но чаще 6 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Crataegus monogyna* Jacq., Гомельская область, Мозырский район, г. Мозырь (MSKU-F 17759, коллектор М. А. Роговая, дата сбора 26.09.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Обнаружение *Sphaerulina oxyacanthae* и *Septoria crataegophila* можно ожидать и на растениях других видов рода *Crataegus*, которые, кроме вышеназванных микромицетов, могут поражаться следующими видами грибов, отмеченными в соседних с Беларусью странах: *Septoria crataegi* Desm. (конидии размером $40,0\text{--}92,0 \times 1,5$ мкм с неясными перегородками), *S. crataegicola* Bondartsev & Tranzschel (конидии размером $39,0\text{--}80,0 \times 3,5\text{--}5,0$ мкм с 1–4 перегородками) [6].

По мнению автора, виды *Sphaerulina oxyacanthae* и *Septoria crataegophila* можно отнести к группе ацервулярных септориоподобных микромицетов как исключение среди пикнидиальных представителей родов *Sphaerulina* и *Septoria*. У обоих видов нет замкнутых конидиом, схожих по строению с пикнидами, которые можно отделить от тканей субстрата, чтобы проследить строение их стенок.

Также стоит отметить, что в определителе грибов Украины [5] вид *Sphaerulina oxyacanthae* приводится как синоним *Phloeospora oxyacanthae* (Kunze & J. C. Schmidt) Wallr. и имеет более вариабельные количественные характеристики, а именно конидии размером $35,0\text{--}98,0 \times 3,5\text{--}7,0\text{--}8,0$ мкм с 1–8 перегородками. Скорее всего, в этом диагнозе объединены виды *Sphaerulina oxyacanthae* и *Septoria crataegophila*, так как данные грибы имеют схожие морфопатологические признаки: образуют конидиомы с нижней стороны листовой пластинки, вызывают однотипные симптомы поражения растения. Однако эти виды очень отличаются по толщине конидий: у *Sphaerulina oxyacanthae* она составляет $2,0\text{--}2,5$ мкм, а у *Septoria crataegophila* – $4,5\text{--}6,5$ мкм [2; 6].

Оба микромицета можно рассматривать как чужеродные для микобиоты Беларуси, так как они строго приурочены к растениям из рода *Crataegus*, которые являются интродуцентами и, следовательно, относятся к чужеродным для флоры Беларуси видам [12].

Род *Rubus* L.

Sphaerulina tirolensis Verkley, Quaedvl. & Crous, Stud. Mycol. 75: 299 (2013) (см. вклейку, рис. 24).

Анаморфа: *S. tirolensis* Verkley, Quaedvl. & Crous.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна округлой формы, белые, серые, со временем могут коричневеть, без каймы или с очень тонкой пурпурной либо пурпурно-коричневой каймой. Пикниды погруженные, диаметром

63,0–100,0 мкм, с широким порусом, скучены в центре пятна с верхней стороны листовой пластинки. Конидии *I*- или *C*-образные, нитевидные, прямые либо изогнутые, на верхнем конце округло-заостренные, а на нижнем – округло-обрубленные, имеют размер $(25,0\text{--}37,5\text{--}51,0(-70,0)) \times (1,8\text{--}2,0\text{--}3,0(-4,0))$ мкм (по моде $45,0 \times 3,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $45,1 \pm 10,7 \times 2,6 \pm 0,5$ мкм, $n = 77$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(6,9\text{--}13,0\text{--}22,0(-33,0))$ (по моде 16,7; среднее значение (со стандартным отклонением) $18,1 \pm 6,5$, $n = 77$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--}2\text{--}4(-8))$ шт., но чаще 3 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Rubus idaeus* L., Брестская область, Барановичский район, д. Полонка (MSKU-F 17641, коллектор А. М. Воль, дата сбора 20.08.2011), Гродненская область, Дятловский район, д. Заречье (MSKU-F 11355, коллектор А. И. Пасюк, дата сбора 15.07.2014), Минская область, Воложинский район, окрестности д. Бузуны (MSKU-F 17169, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 01.10.2023), г. Минск (MSKU-F 10480, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 28.09.2023; MSKU-F 17757/1, коллектор В. Д. Поликсенова, дата сбора 09.2023), Пуховичский район, аг. Голоцк (MSKU-F 11357/1, коллектор В. И. Дементей, дата сбора 19.07.2014; MSKU-F 11360/1, коллектор В. И. Дементей, дата сбора 13.09.2014; MSKU-F 11358/1, коллектор В. И. Дементей, дата сбора 02.09.2013), Несвижский район, д. Саска Липка (MSKU-F 17363, коллекторы И. А. Федюшко, Л. С. Драчан, дата сбора 21.08.2022) и окрестности д. Саска Липка (MSKU-F 17369, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 23.08.2023), Мядельский район, окрестности д. Калиновка (MSKU-F 17640, коллектор не указан на этикетке, дата сбора 29.06.2012).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Микромицет *S. tirolensis* был выделен как самостоятельный вид после молекулярной ревизии вида *Septoria rubi* Westend. В работе [11] показано, что данный микромицет поражает исключительно листья растения *Rubus idaeus*, а также отличается более широкими конидиями $(2,5\text{--}3,0(-3,5))$ мкм и большим количеством перегородок $((1\text{--}3\text{--}7(-9))$ шт.).

Если рассматривать растения разных видов рода *Rubus*, включая *R. idaeus*, то они также поражаются микромицетом *Sphaerulina westendorpii* Verkley, Quaedvl. & Crous (syn. *Septoria rubi* Westend.), который отличается тем, что формирует пятна с широкой пурпурной каймой и конидии размером $24,0\text{--}45,0(-50,0) \times 1,8\text{--}2,2$ мкм с $(0\text{--}2\text{--}3(-5))$ перегородками [6; 11].

Род *Spiraea* L.

Septoria magnusiana Allesch., Ber. Bayer. Bot. Ges. 2(Anhang): 9 (1892) (см. вклейку, рис. 25).

Анаморфа: *S. magnusiana* Allesch.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна бесформенные или округлой формы, охряного либо кофейного цвета, с розовой каймой. Пикниды погруженные, диаметром 37,5–150,0 мкм, сгруппированы или рассеяны с верхней, реже с нижней стороны листовой пластинки. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии *I*-, *C*- или *S*-образные, веретеновидные, прямые либо слегка изогнутые, на обоих концах заостренные или у основания обрубленные, могут содержать липидные капли, имеют размер $(13,0\text{--}19,0\text{--}27,0(-35,0)) \times 2,0\text{--}3,0(-4,0)$ мкм (по моде $25,0 \times 3,0$ мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) $23,2 \pm 5,2 \times 2,6 \pm 0,5$ мкм, $n = 66$ шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет $(4,3\text{--}7,3\text{--}10,6(-17,0))$ (по моде 8,3; среднее значение (со стандартным отклонением) $9,1 \pm 2,6$, $n = 66$ шт.). Перегородки в количестве $(0\text{--}1\text{--}3(-5))$ шт., но чаще 3 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на листьях *Spiraea* sp., Минская область, Дзержинский район, д. Станьково (MSKU-F 11960, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 20.09.2023), г. Минск (MSKU-F 8305, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.09.2023), Минский район, аг. Прилуки (MSKU-F 8477, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 20.09.2023).

Общее распространение: Европа, Азия.

Примечание. Обнаружение *S. magnusiana* можно ожидать и на растениях других видов рода *Spiraea*, а также рода *Filipendula*, которые, кроме вышеуказанного микромицета, могут поражаться следующими септориоподобными грибами, отмеченными в соседних с Беларусью странах: *S. ascochytoides* Sacc. (конидии размером $18,0\text{--}20,0 \times 2,5\text{--}3,0$ мкм с 1 перегородкой), *S. ulmariae* Oudem. (конидии размером $20,0\text{--}50,0 \times 1,0\text{--}1,5$ мкм с неясными перегородками) [6].

Семейство Sapindaceae Juss. (syn. Aceraceae Juss., Hippocastanaceae DC.)

Род *Acer* L.

Septoria seminalis Sacc., Michelia 2(6): 167 (1880) (см. вклейку, рис. 26).

Анаморфа: *S. seminalis* Sacc.

Телеоморфа: неизвестна.

Описание ex planta. Пятна продолговатой формы, охряные, без каймы. Пикниды погруженные, диаметром 55,0–100,0 мкм, рассеяны по всей поверхности крылаток. Оболочка пикниды угловатой текстуры. Конидии S-образные, реже I-образные, палочковидно-веретеновидные, на верхнем конце суженно-округлые, а на нижнем – обрубленные, имеют размер (6,0–)12,0–19,0(–27,0) × (1,3–)1,5–2,0(–2,5) мкм (по моде 15,0 × 2,0 мкм; среднее значение (со стандартным отклонением) 15,5 ± 4,4 × 1,9 ± 0,3 мкм, n = 89 шт.), при этом отношение длины к ширине конидии составляет (3,6–)6,5–10,2(–14,0) (по моде 10,0; среднее значение (со стандартным отклонением) 8,5 ± 2,7, n = 89 шт.). Перегородки в количестве 0–1 шт., но чаще 1 шт. четко прослеживаются.

Растение-хозяин и местонахождение в Беларуси: на крылатках *Acer negundo* L., Минская область, Копыльский район, г. Копыль (MSKU-F 17359/1, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.08.2023), г. Минск (MSKU-F 17360, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 16.09.2023; MSKU-F 17361, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 30.10.2023; MSKU-F 17362, коллектор И. А. Федюшко, дата сбора 13.07.2023).

Общее распространение: Европа.

Примечание. Обнаружение *S. seminalis* можно ожидать и на растениях других видов рода *Acer*. Этот фитопатоген в основном поражает крылатки, а также семядольные листья молодых растений клена. На листьях стоит ожидать обнаружение множества других видов пикнидиальных септориоподобных микромицетов, отмеченных на территории соседних с Беларусью стран: *S. acerella* Sacc. (конидии размером 20,0–25,0 × 1,0–2,0 мкм без перегородок или с 1–3 перегородками), *S. acerina* Peck (конидии размером 32,0–40,0 × 1,0–1,5 мкм без перегородок), *S. incondita* Roberge ex Desm. (конидии размером 25,0–70,0 × 2,0–3,0 мкм с одной или несколькими перегородками), *S. negundinis* Ellis & Everh. (конидии размером 24,0–30,0 × 2,0–3,0 мкм с 3 перегородками), *S. schirajewskii* Bubák & Serebrian. (конидии размером 13,0–19,0 × 2,0–3,0 мкм без перегородок) [6], а также *Sphaerulina aceris* (Lib.) Verkley, Quaedvl. & Crous (syn. *Septoria pseudoplatani* Roberge ex Desm.) (конидии размером (32,0–)37,0–47,0(–50,0) × 3,0–4,0 мкм с (1–)3 перегородками) [2].

Заключение

Идентифицированные 26 видов пикнидиальных септориоподобных микромицетов из родов *Septoria*, *Sphaerulina*, *Phaeoseptoria* и *Rhabdospora*, которые были выявлены на 26 видах цветковых растений из 10 семейств флоры Беларуси (Asteraceae (11 видов микромицетов), Rosaceae (4 вида), Brassicaceae (3 вида), Cyperaceae (2 вида) и Betulaceae, Lamiaceae, Onagraceae, Plantaginaceae, Ranunculaceae, Sapindaceae (по 1 виду микромицетов)), впервые указываются для микобиоты республики.

Среди обнаруженных фитопатогенов 10 видов микромицетов (*Septoria alliariae*, *S. astericola*, *S. crataegophila*, *S. endiviae*, *S. erysimi*, *S. matricariae*, *S. sisymbrii*, *S. sleumeri*, *Sphaerulina oxyacanthae* и *Rhabdospora intybi*) могут быть отнесены к чужеродному компоненту микобиоты, поскольку они приурочены к растениям-хозяевам из адвентивной фракции флоры Беларуси.

Виды *Septoria crataegophila* и *Sphaerulina oxyacanthae*, по мнению автора, стоит рассматривать среди группы ацервулярных септориоподобных микромицетов, учитывая особенности строения их конидиом.

Приведенные данные позволяют дополнить сведения о морфометрических характеристиках, таксономическом разнообразии, аборигенных и чужеродных пикнидиальных септориоподобных микромицетах Беларуси, а также обозначить провизорные виды.

Библиографические ссылки

1. Федюшко ИА. Состояние изученности пикнидиальных септориоподобных микромицетов в Беларуси. В: Сергеев ЮВ, Кураков АВ, Белозерская ТА, Волобуев СВ, Бурова СА, Кононенко ГП и др., редакторы. *Современная микология в России. Том 10, Материалы Международного микологического форума. Выпуск 2, Экология, биоразнообразие и охрана грибов*. Москва: Национальная академия микологии; 2024. с. 83–85.
2. Quaedvlieg W, Verkley GJM, Shin H-D, Barreto RW, Alfenas AC, Swart WJ, et al. Sizing up *Septoria*. *Studies in Mycology*. 2013;75:307–390. DOI: 10.3114/sim0017.
3. Федюшко ИА. Новые для Беларуси виды пикнидиальных септориоподобных микромицетов. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;2:72–87. EDN: CPXKYN.
4. Скворцов АК. Гербарий. *Пособие по методике и технике*. Москва: Наука; 1977. 199 с.
5. Морочковський СФ, Радзівський ГГ, Зерова МЯ, Дудка ІО, Сміцька МФ, Роженко ГЛ. *Визначник грибів України. Том 3, Незавершені гриби*. Зеров ДК, редактор. Київ: Наукова думка; 1971. 696 с.
6. Тетеревникова-Бабаян ДН. *Грибы рода септория в СССР*. Мельник ВА, редактор. Ереван: Издательство Академии наук Армянской ССР; 1987. 479 с.
7. Бызова ЗМ, Васягина МП, Деева НГ, Калымбетов БК, Писарева НФ, Шварцман СР. *Флора спорных растений Казахстана. Том 5, Несовершенные грибы – Fungi imperfecti (Deuteromycetes). Книга 3, Сферопсидные – Sphaeropsidales*. Шварцман СР, редактор. Алматы: Издательство Академии наук Казахской ССР; 1970. 557 с.

8. Бондарцев АС. *Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа*. Савич ВП, редактор. Москва: Издательство Академии наук СССР; 1953. 1106 с.
9. 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.
10. Кабаков РИ. *Р в действии. Анализ и визуализация данных в программе R*. Москва: ДМК Пресс; 2014. 580 с.
11. Verkley GJM, Quaedvlieg W, Shin H-D, Crous PW. A new approach to species delimitation in *Septoria*. *Studies in Mycology*. 2013;75:213–305. DOI: 10.3114/sim0018.
12. Дубовик ДВ, Дмитриева СА, Ламан НА, Лебедько ВН, Левкович АВ, Масловский ОМ. *Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредные растения*. Парфенов ВИ, Пугачевский АВ, редакторы. Минск: Беларуская навука; 2020. 407 с.
13. Kuhnholz-Lordat G, Barry JP. Quelques micromycètes parasites intéressants du sud de la France. *Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France*. 1949;65(1):121–131.
14. Brunaud P. Champignons à ajouter a la flore mycologique des environs de Saintes (2^e série). *Bulletin de la Société botanique de France*. 1887;34:428–432.
15. Unamuno LM. Hongos microscópicos de los alrededores de La Vid (Burgos). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*. 1929;29:387–402.
16. Hollós L. Új gombák Kecskemét vidékéről. VII. *Annales historico-naturales Musei Nationalis Hungarici*. 1910;8:1–10.
17. Sydow H. Mycotheca germanica. Fasc. XXIX–XXXVI (no. 1401–1800). *Annales mycologici*. 1921;19(1–2):132–144.
18. Ellis JB. New fungi. *The American Naturalist*. 1882;16:810–811.
19. Ranojević N. Zweiter Beitrag zur Pilzflora Serbiens. *Annales mycologici*. 1910;8(3):347–402.
20. Rabenhorst GL. *Fungi Europaei exsiccati, Klotzschii herbarii vivi mycologici continuatio. Editio nova. Series secunda. Cent. 11: no. 1001 – no. 1100*. Dresden: [s. n.]; 1866.

Получена 24.07.2024 / исправлена 25.10.2024 / принята 19.12.2024.
Received 24.07.2024 / revised 25.10.2024 / accepted 19.12.2024.

УДК 595.44:574.472

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СООБЩЕСТВ ЭПИГЕЙНЫХ ПАУКОВ (ARANEAE) В ХВОЙНЫХ ЛЕСАХ НА СЕВЕРЕ БЕЛАРУСИ

Н. Г. КОЗУЛЬКО¹⁾, Е. М. ЖУКОВЕЦ¹⁾, А. А. СЕМЕНЯК¹⁾

¹⁾Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Представлены материалы по видовому составу и таксономической структуре комплексов эпигейных пауков в хвойных лесах на территории республиканских ландшафтных заказников «Освейский», «Красный Бор» и «Синьша» (Витебская область) в поздневесенний – раннелетний период. Всего зарегистрировано 95 видов пауков. В заказнике «Освейский» обнаружено 38 видов, в заказнике «Красный Бор» – 73 вида, в заказнике «Синьша» – 61 вид. В разных биотопах выявлено 38–55 видов. В зависимости от участка преобладали *Trochosa terricola*, *Tapinocyba pallens*, *Pocadicnemis pumila*, *Hygrolycosa rubrofasciata*, *Alopecosa taeniata*, *Agroeca brunnea*, *Walckenaeria cucullata*, *Xysticus obscurus* и *Trochosa spinipalpis*. Анализ бета-разнообразия показал значимые различия в видовой структуре сообществ пауков. В гидромезоморфных сосняках, а также в сосновых лесах заказника «Синьша» формируются более сходные группировки беспозвоночных.

Ключевые слова: пауки; Araneae; видовое разнообразие; таксономическая структура; заказник; хвойные леса; Беларусь.

SPECIES DIVERSITY OF EPIGEAL SPIDER ASSEMBLAGES (ARANEAE) IN CONIFEROUS FORESTS IN THE NORTH OF BELARUS

M. H. KAZULKA^a, E. M. ZHUKOVETS^a, A. A. SEMENIAK^a

^aScientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: M. H. Kazulka (kazulka.mikalai@gmail.com)

Abstract. The article presents materials on the species composition and taxonomic structure of epigeal spider assemblages in coniferous forests on the territory of republican landscape reserves «Osveisky», «Krasny Bor» and «Sinsha» (Vitebsk Region) in the late spring – early summer period. A total of 95 species of spiders were recorded. In the reserve «Osveisky», 38 species were found, in the reserve «Krasny Bor» – 73 species, and in the reserve «Sinsha» – 61 species.

Образец цитирования:

Козулько НГ, Жуковец ЕМ, Семеняк АА. Видовое разнообразие сообществ эпигейных пауков (Araneae) в хвойных лесах на севере Беларуси. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:70–79.
EDN: BMGUVD

For citation:

Kazulka MH, Zhukovets EM, Semeniak AA. Species diversity of epigeal spider assemblages (Araneae) in coniferous forests in the north of Belarus. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:70–79. Russian.
EDN: BMGUVD

Авторы:

Николай Георгиевич Козулько – младший научный сотрудник лаборатории наземных беспозвоночных животных.
Евгений Михайлович Жуковец – научный сотрудник лаборатории наземных беспозвоночных животных.
Алексей Алексеевич Семеняк – научный сотрудник лаборатории наземных беспозвоночных животных.

Authors:

Mikalai H. Kazulka, junior researcher at the laboratory of terrestrial invertebrates.
kazulka.mikalai@gmail.com
Evgeni M. Zhukovets, researcher at the laboratory of terrestrial invertebrates.
emzhukovets@mail.ru
Alexey A. Semeniak, researcher at the laboratory of terrestrial invertebrates.
semeniak95@gmail.com

In different biotopes, 38–55 species were identified. Depending on the habitat, *Trochosa terricola*, *Tapinocyba pallens*, *Pocadicnemis pumila*, *Hygrolycosa rubrofasciata*, *Alopecosa taeniata*, *Agroeca brunnea*, *Walckenaeria cucullata*, *Xysticus obscurus* and *Trochosa spinipalpis* dominated. Analysis of beta-diversity showed significant differences in the species composition of spiders, which were more similar in the wetter pine forests, as well as in the pine forests of the reserve «Sinsha».

Keywords: spiders; Araneae; species diversity; taxonomic structure; reserve; coniferous forests; Belarus.

Введение

Пауки (Araneae) – отряд паукообразных, насчитывающий в мировой фауне более 52 тыс. описанных видов¹. В экологическом плане они достаточно разнообразны и обладают таким набором морфофизиологических и поведенческих адаптаций, который позволил им широко расселиться на всех континентах, за исключением Антарктиды [1]. Пауки встречаются в различных наземных местообитаниях (подстилке, травяном, кустарниковом и древесном ярусах растительности, муравейниках, пещерах, норах млекопитающих и гнездах птиц, скоплениях разлагающихся органических материалов, человеческих постройках и т. д.) всех природных зон, где часто формируют сложные многовидовые сообщества. Являясь неспециализированными зоофагами, они играют важную роль в регуляции численности других групп беспозвоночных, прежде всего насекомых, на разных трофических уровнях [2; 3]. Высокое разнообразие и численность в экосистемах, быстрая реакция на изменения среды обитания, относительно хорошо разработанная систематика и изученность биологических и экологических особенностей видов позволяют использовать пауков в практике экологического мониторинга [4].

Белорусское Поозерье, занимающее северную часть Беларуси, представляет собой особый природный естественно-исторический регион, на формирование которого сильное влияние оказало последнее (валдайское) оледенение. Основным компонентом в структуре географического ландшафта данного региона являются леса, покрывающие около 35 % его площади. Они имеют выраженные черты широколиственно-темнохвойных лесов южнотаежного типа, где постоянным элементом в составе древостоя выступает ель европейская с участием некоторых видов широколиственных пород. Значительную часть территории занимают болота, представленные верховыми, переходными и низинными типами [5].

Фауна пауков Белорусского Поозерья изучена крайне фрагментарно. Большинство исследований в регионе проведены на территории Березинского биосферного заповедника² [6–8]. Данные о видовом составе и структурной организации комплексов паукообразных в различных типах ландшафтов все еще немногочисленны или вовсе отсутствуют.

В настоящей работе приводятся сведения о видовой структуре комплексов эпигейных пауков в хвойных лесах на территории республиканских ландшафтных заказников «Освейский», «Красный Бор» и «Синьша» в поздневесенний – раннелетний период.

Материалы и методы исследования

Заказники «Освейский», «Красный Бор» и «Синьша» расположены на крайнем севере Беларуси в Верхнедвинском и Россонском районах (рис. 1). Согласно геоботаническому районированию этот регион относится к Западно-Двинскому лесорастительному району подзоны широколиственно-еловых лесов. На территории заказников «Красный Бор» и «Синьша» преобладает лесная растительность (занимает около 80 % площади). В заказнике «Освейский» леса покрывают примерно 30 % площади, болота – около 22 %. В формационной структуре преобладают сосновые, еловые и мелколиственные древостои, охватывающие широкое разнообразие типологических рядов [9; 10]. Комплексы пауков изучали в сосновых и еловых лесах чернично-зеленомошной ассоциации (табл. 1). Исследованные участки характеризовались разным режимом увлажнения эдафотопы и на этом основании были отнесены к мезоморфной (биотопы С1, С2 и К1) и гидромезоморфной (биотопы К2 и О) категориям. Фитоиндикаторами более увлажненных местообитаний выступали сфагновые мхи.

Пауков собирали почвенными ловушками, которые представляли собой белые полистироловые стаканы объемом 250 мл с диаметром отверстия 72 мм, заполненные на треть 4 % раствором формалина. На каждом участке устанавливали 15 ловушек, объединенных в пять групп по три ловушки (расстояние между ловушками в группе было равным 1,5 м, а расстояние между группами – 15–20 м). Учеты проводили

¹World Spider Catalog. Version 25.5 : website. Bern, 2024. URL: <https://wsc.nmbe.ch/> (date of access: 06.10.2024).

²Шляхтенюк А. С. Фауна пауков (Aranei) луговых биогеоценозов Березинского биосферного заповедника. Минск, 1986. 12 с. Деп. в ВИНТИ 08.04.1986, № 2499-В86.

с конца апреля до конца первой декады июня 2023 г. (время экспозиции ловушек составляло 41–42 дня в зависимости от биотопа). Всего собрано 4153 экз. пауков, из них 3178 экз. (76,5 %) оказались половозрелыми и были определены до вида. Собранный материал хранится в 70 % этиловом спирте в коллекционных фондах Научно-практического центра НАН Беларуси по биоресурсам.



Рис. 1. Схема региона исследований с местами установки ловушек
Fig. 1. Scheme of the study area with sampling sites

Таблица 1

Характеристика исследованных биотопов

Table 1

Characteristics of the studied biotopes

Параметры	Биотопы				
	C1	C2	K1	K2	O
Растительная ассоциация	Сосняк мшистый	Сосняк чернично-зеленомошный	Ельник чернично-зеленомошный	Сосново-еловый чернично-зеленомошный лес	Сосняк чернично-зеленомошный
Координаты	55° 55' 10" с. ш., 29° 22' 54" в. д.	55° 58' 24" с. ш., 29° 15' 14" в. д.	55° 59' 25" с. ш., 28° 35' 34" в. д.	55° 57' 50" с. ш., 28° 38' 49" в. д.	56° 05' 26" с. ш., 28° 11' 10" в. д.
Первый ярус древостоя	Сосна обыкновенная	Сосна обыкновенная, единично береза повислая	Ель обыкновенная, единично осина и береза повислая	Сосна обыкновенная, ель обыкновенная, единично осина и береза повислая	Сосна обыкновенная, единично ель обыкновенная и береза повислая

Окончание табл. 1
Ending of the table 1

Параметры	Биотопы				
	C1	C2	K1	K2	O
Подлесок	Единично рябина обыкновенная, крушина ломкая, можжевельник обыкновенный	Единично рябина обыкновенная, крушина ломкая	Единично крушина ломкая, можжевельник обыкновенный	Единично рябина обыкновенная, крушина ломкая, можжевельник обыкновенный	Единично рябина обыкновенная, крушина ломкая
Напочвенная растительность	Черника, марьянник луговой, мхи (<i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Hylocomium splendens</i> , <i>Dicranum</i> spp.)	Черника, брусника, вереск, марьянник луговой, майник двулистный, мхи (<i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Hylocomium splendens</i> , <i>Dicranum</i> spp.)	Черника, мхи (<i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Hylocomium splendens</i> , <i>Dicranum</i> spp.)	Черника, майник двулистный, мхи (<i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Hylocomium splendens</i>), местами крупные участки сфагнума	Черника, мхи (<i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Dicranum</i> sp.), местами крупные участки сфагнума
Количество отработанных ловушко-суток	615	492	615	630	462

При оценке структуры доминирования в сообществах использовалась шкала, предложенная О. Ренкеном [11]. В рамках этой шкалы выделяются следующие группы: доминанты (обилие вида составляет 5,0 % и более от общего числа особей), субдоминанты (2,00–4,99 %), рецеденты (1,00–1,99 %) и субрециденты (менее 1,0 %).

Для оценки альфа-разнообразия комплексов пауков рассчитывались индекс информационного разнообразия Шеннона и индекс выровненности видовых обилий Пielу. Полнота видового состава определялась как отношение наблюдаемого видового богатства (S_{obs}) к расчетному значению (S_{est}), полученному с помощью непараметрического эстиматора видового богатства Chao1. Помимо этого, методом разрежения видового богатства оценивалось теоретическое число видов (S_r) в биотопах при равночисленных выборках. В качестве основы для расчетов использовалось наименьшее количество учтенных особей среди биотопов ($N = 395$ экз.).

Бета-разнообразие сообществ пауков исследовалось с помощью анализа сходства (*analysis of similarities*, ANOSIM) с числом итераций 999, а также неметрического многомерного шкалирования (*non-metric multidimensional scaling*, NMDS) на основе меры расстояния Брея – Кертиса. При этом за единицу количественного учета принимались объединенные данные из ловушек, функционировавших в пределах одной группы. Если сработала только одна ловушка (остальные были повреждены дикими животными), данные из этой группы не включались в анализ. Расчеты проводились с использованием показателей уловистости пауков (число экземпляров, деленное на количество ловушко-суток).

Обработка данных и визуализация полученных результатов выполнялись в среде статистических вычислений и программирования R (версия 4.1.3) с применением пакетов *SpadeR*, *vegan* и *ggplot2* [12].

Результаты

Всего в хвойных лесах на территории заказников отмечено 95 видов пауков из 16 семейств. В заказнике «Освейский» обнаружено 38 видов, в заказнике «Красный Бор» – 73 вида, в заказнике «Синьша» – 61 вид. Наиболее разнообразным оказалось семейство Linyphiidae (38 видов, или 40,0 % от зарегистрированного видового состава), а самым многочисленным – семейство Lycosidae (1494 экз., или 47,0 % от всех учтенных особей). Массовыми видами являлись *Trochosa terricola* (31,4 %), *Tapinocyba pallens* (6,4 %), *Pocadicnemis pumila* (4,3 %), *Hygrolycosa rubrofasciata* (4,3 %), *Alopecosa taeniata* (4,2 %), *Agroeca brunnea* (4,0 %) и *Walckenaeria cucullata* (3,7 %). Суммарно на их долю приходилось 58,3 % от всех учтенных особей.

В разных биотопах отмечено 38–55 видов пауков. Прогнозируемый уровень видового богатства (S_{est}) на исследованных участках, за исключением ельника чернично-зеленомошного (биотоп K1), оказался намного выше наблюдаемого; количество невыявленных таксонов составило 25–31 %. Применение метода разрежения показало снижение видового богатства в биотопах C1, C2 и K2 в среднем на 14,2–16,7 %, в биотопе K1 практически на 6,0 %. Значения индексов разнообразия были достаточно близкими: индекс Шеннона варьировал в диапазоне 2,47–2,94, индекс Пielу – в диапазоне 0,68–0,74 (табл. 2).

Таблица 2

Показатели альфа-разнообразия сообществ пауков в исследованных биотопах

Table 2

Alfa-diversity metrics of spider communities in the studied biotopes

Показатели	Биотопы				
	C1	C2	K1	K2	O
Наблюдаемое число видов (S_{obs})	49	48	47	55	38
Прогнозируемое число видов, рассчитанное с помощью непараметрического эстиматора Chao1 (S_{est})	67	64	49	77	55
Соотношение S_{obs} и S_{est} , %	73,1	75,0	95,9	71,4	69,1
Число особей	886	749	521	627	395
Прогнозируемое число видов и стандартная ошибка при разрежении видового богатства до равночисленных выборок ($S_r \pm SE$)	40,8 $\pm$ 2,1	40,2 $\pm$ 2,1	44,3 $\pm$ 1,4	47,2 $\pm$ 2,2	–
Усредненное соотношение S_r и S_{obs} , %	83,3	83,8	94,3	85,8	–
Индекс Шеннона	2,77	2,85	2,77	2,94	2,47
Индекс Пиелу	0,71	0,74	0,72	0,73	0,68

Примечание. Биотопы: C1 – сосняк мшистый; C2 и O – сосняки чернично-зеленомошные; K1 – ельник чернично-зеленомошный; K2 – сосново-еловый чернично-зеленомошный лес.

В различных биотопах в состав доминирующего комплекса входили 3–5 видов (табл. 3). На территории заказника «Синьша» в сосняке мшистом (биотоп C1) доминантами являлись *Trochosa terricola*, *Tapinocyba pallens* и *Pocadicnemis pumila*. Субдоминантами были *Alopecosa taeniata*, *Ceratinella brevis*, *Pardosa lugubris*, *Walckenaeria cucullata*, *Hahnia pusilla*, *Walckenaeria mitrata*, *Zelotes clivicola*, *Haplodrassus soerenseni* и *Agroeca brunnea*. К рецедентам относились 11 видов, к субрецедентам – 26 видов.

В сосняке чернично-зеленомошном (биотоп C2) доминировали *Trochosa terricola*, *Alopecosa taeniata*, *Xysticus obscurus*, *Tapinocyba pallens* и *Walckenaeria cucullata*. К субдоминантам принадлежали *Pocadicnemis pumila*, *Zora nemoralis*, *Zelotes clivicola*, *Hahnia ononidum*, *Agroeca brunnea*, *Gnaphosa bicolor*, *Alopecosa aculeata*, *Haplodrassus soerenseni* и *Minyriolus pusillus*. Рецедентами являлись 4 вида, в группу субрецедентов входили 30 видов.

Таблица 3

Видовой состав и обилие пауков в исследованных биотопах

Table 3

Species composition and relative abundance of spiders in the studied biotopes

Вид	Обилие, %					Общее количество особей, экз.
	Биотоп C1	Биотоп C2	Биотоп K1	Биотоп K2	Биотоп O	
Семейство Araneidae						
Cercidia prominens (Westring, 1851)	+	+	2,1	1,1	1,0	29
Hypsosinga pygmaea (Sundevall, 1831)		+				1
H. sanguinea (C. L. Koch, 1844)		+				4
Семейство Cicurinidae						
Cicurina cicur (Fabricius, 1793)				+		1
Семейство Clubionidae						
Clubiona caerulescens L. Koch, 1867	+			+		5
C. subsultans Thorell, 1875			+	+		4

Продолжение табл. 3
Continuation of the table 3

Вид	Обилие, %					Общее количество особей, экз.
	Биотоп C1	Биотоп C2	Биотоп K1	Биотоп K2	Биотоп O	
Семейство Gnaphosidae						
<i>Drassyllus pusillus</i> (C. L. Koch, 1833)		+	+			2
<i>Gnaphosa bicolor</i> (Hahn, 1833)	1,4	2,8		+	1,0	40
<i>G. montana</i> (L. Koch, 1866)				+		1
<i>Haplodrassus signifer</i> (C. L. Koch, 1839)	+	1,7		+		20
<i>H. silvestris</i> (Blackwall, 1833)	+	+			1,0	14
<i>H. soerenseni</i> (Strand, 1900)	2,1	2,5	1,2	1,0	3,8	65
<i>Micaria micans</i> (Blackwall, 1858)				+		1
<i>Zelotes clivicola</i> (L. Koch, 1870)	2,5	4,5	+	2,6	+	76
<i>Z. latreillei</i> (Simon, 1878)	+	+				2
<i>Z. petrensis</i> (C. L. Koch, 1839)	+					1
<i>Z. subterraneus</i> (C. L. Koch, 1833)	+	+		+	+	10
Семейство Hahniidae						
<i>Hahnia helveola</i> Simon, 1875	+	+	+			5
<i>H. ononidum</i> Simon, 1875	1,9	3,1	1,0	+		47
<i>H. pusilla</i> C. L. Koch, 1841	3,2		+	1,1	1,3	41
Семейство Linyphiidae						
<i>Agyneta subtilis</i> (O. P.-Cambridge, 1863)			1,0	+		7
<i>Anguliphantes angulipalpis</i> (Westring, 1851)	+	+				2
<i>Centromerus arcanus</i> (O. P.-Cambridge, 1873)	1,4		+	+	2,5	27
<i>C. incilium</i> (L. Koch, 1881)	+					1
<i>C. sylvaticus</i> (Blackwall, 1841)	+					4
<i>Ceratinella brevis</i> (Wider, 1834)	4,0	+	+	1,3	+	51
<i>Cnephalocotes obscurus</i> (Blackwall, 1834)		+				4
<i>Diplocentria bidentata</i> (Emerton, 1882)	+	+	2,7			22
<i>Diplocephalus picinus</i> (Blackwall, 1841)			+			2
<i>Diplostyla concolor</i> (Wider, 1834)					+	1
<i>Dismodicus elevatus</i> (C. L. Koch, 1838)		+	1,0			9
<i>Erigonella hiemalis</i> (Blackwall, 1841)	+					1
<i>Macrargus rufus</i> (Wider, 1834)	+	+	+			5
<i>Maro minutus</i> O. P.-Cambridge, 1907				2,4		15
<i>Micrargus apertus</i> (O. P.-Cambridge, 1871)			1,0			5
<i>Microneta viaria</i> (Blackwall, 1841)				+		1
<i>Minyriolus pusillus</i> (Wider, 1834)	1,4	2,1	4,0	+	+	56
<i>Pelecopsis elongata</i> (Wider, 1834)			1,2			6
<i>Pocadicnemis pumila</i> (Blackwall, 1841)	6,5	4,8		2,9	6,1	136
<i>Sintula corniger</i> (Blackwall, 1856)				+		1

Продолжение табл. 3
Continuation of the table 3

Вид	Обилие, %					Общее количество особей, экз.
	Биотоп С1	Биотоп С2	Биотоп К1	Биотоп К2	Биотоп О	
<i>Tapinocyba pallens</i> (O. P.-Cambridge, 1873)	7,4	5,9	12,1	4,5	+	202
<i>Tenuiphantes cristatus</i> (Menge, 1866)				+		1
<i>T. flavipes</i> (Blackwall, 1854)			+			1
<i>T. menzei</i> (Kulczyński, 1887)	+					3
<i>T. tenebricola</i> (Wider, 1834)			+	+	+	5
<i>Thyreosthenius parasiticus</i> (Westring, 1851)		+				1
<i>Troxochrota scabra</i> Kulczyński, 1894	+	+		+		10
<i>Walckenaeria alticeps</i> (Denis, 1952)				+	+	7
<i>W. antica</i> (Wider, 1834)	1,5	1,7	2,1			37
<i>W. atrotibialis</i> (O. P.-Cambridge, 1878)			+			2
<i>W. cucullata</i> (C. L. Koch, 1836)	3,3	5,3	5,4	1,9	2,3	118
<i>W. dysderoides</i> (Wider, 1834)		+	+	+	1,3	16
<i>W. furcillata</i> (Menge, 1869)	+	+				2
<i>W. mitrata</i> (Menge, 1868)	2,6	+	+	+	1,3	32
<i>W. nudipalpis</i> (Westring, 1851)					+	1
<i>W. obtusa</i> Blackwall, 1836	1,0			+		11
<i>W. unicornis</i> O. P.-Cambridge, 1861					+	1
<i>Zornella cultrigera</i> (L. Koch, 1879)			+			1
<i>Семейство Liocranidae</i>						
<i>Agroeca brunnea</i> (Blackwall, 1833)	2,0	2,8	9,4	3,7	4,3	128
<i>A. proxima</i> (O. P.-Cambridge, 1871)					+	1
<i>Семейство Lycosidae</i>						
<i>Alopecosa aculeata</i> (Clerck, 1757)	1,5	2,7				33
<i>A. taeniata</i> (C. L. Koch, 1835)	4,0	6,5	+	5,4	3,3	133
<i>Aulonia albigera</i> (Walckenaer, 1805)				+		2
<i>Hygrolycosa rubrofasciata</i> (Ohlert, 1865)	+			15,6	8,6	135
<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)	3,7	1,5	1,3	+	5,3	75
<i>Piratula hygrophila</i> (Thorell, 1872)				2,4	+	16
<i>P. uliginosa</i> (Thorell, 1856)				1,3	3,0	20
<i>Trochosa spinipalpis</i> (F. O. P.-Cambridge, 1895)				12,9		81
<i>T. terricola</i> Thorell, 1856	35,7	30,0	31,3	20,9	41,5	999
<i>Семейство Mimetidae</i>						
<i>Ero furcata</i> (Villers, 1789)			+			2
<i>Семейство Miturgidae</i>						
<i>Zora nemoralis</i> (Blackwall, 1861)	1,1	4,7	1,7			54
<i>Z. spinimana</i> (Sundevall, 1833)	1,5	1,2	4,4	1,1	1,0	56
<i>Семейство Philodromidae</i>						
<i>Philodromus margaritatus</i> (Clerck, 1757)	+		+	+		3

Окончание табл. 3
Ending of the table 3

Вид	Обилие, %					Общее количество особей, экз.
	Биотоп C1	Биотоп C2	Биотоп K1	Биотоп K2	Биотоп O	
Семейство Phrurolithidae						
<i>Phrurolithus festivus</i> (C. L. Koch, 1835)	+			+		5
Семейство Salticidae						
<i>Euophrys frontalis</i> (Walckenaer, 1802)		+		+	+	8
<i>Evarcha falcata</i> (Clerck, 1757)	+	+		+	+	8
<i>Neon reticulatus</i> (Blackwall, 1853)	+	+	+	+		10
<i>Pseudeuophrys erratica</i> (Walckenaer, 1826)			+	+		3
Семейство Tetragnathidae						
<i>Pachygnatha clercki</i> Sundevall, 1823					+	1
<i>P. degeeri</i> Sundevall, 1830	+					1
<i>P. listeri</i> Sundevall, 1830	1,2	+	1,3	1,1	1,3	31
Семейство Theridiidae						
<i>Crustulina guttata</i> (Wider, 1834)			+			2
<i>Euryopis flavomaculata</i> (C. L. Koch, 1836)	+	+	+	1,4		21
<i>Lasaeola prona</i> (Menge, 1868)				+		1
<i>Paidiscura pallens</i> (Blackwall, 1834)					+	1
<i>Pholcomma gibbum</i> (Westring, 1851)		+	+			2
<i>Platnickina tincta</i> (Walckenaer, 1802)				+		1
<i>Robertus lividus</i> (Blackwall, 1836)	+	+				3
<i>R. scoticus</i> Jackson, 1914			+		+	4
Семейство Thomisidae						
<i>Ozyptila atomaria</i> (Panzer, 1801)		+		+		4
<i>O. praticola</i> (C. L. Koch, 1837)			1,5			8
<i>O. trux</i> (Blackwall, 1846)		+	2,3	+	+	20
<i>Xysticus audax</i> (Schränk, 1803)		+	+	+		7
<i>X. luctuosus</i> (Blackwall, 1836)	+	+	+	2,2	+	23
<i>X. obscurus</i> Collett, 1877	1,9	6,0	2,1	2,6	2,5	99

Примечания: 1. Биотопы: С1 – сосняк мшистый; С2 и О – сосняки чернично-зеленомошные; К1 – ельник чернично-зеленомошный; К2 – сосново-еловый чернично-зеленомошный лес. 2. Знаком «плюс» обозначены субреценденты. 3. Полужирным начертанием выделены доминанты.

На территории заказника «Красный Бор» комплекс доминирующих видов в ельнике чернично-зеленомошном (биотоп К1) был представлен *Trochosa terricola*, *Tapinocyba pallens*, *Agroeca brunnea* и *Walckenaeria cucullata*. В число субдоминантов входили *Zora spinimana*, *Minyriolus pusillus*, *Diplocentria bidentata*, *Ozyptila trux*, *Cercidia prominens*, *Walckenaeria antica* и *Xysticus obscurus*. К группе рецендентов относились 10 видов, к группе субрецендентов – 26 видов.

В сосново-еловом чернично-зеленомошном лесу (биотоп К2) доминировали *Trochosa terricola*, *Hygrolycosa rubrofasciata*, *Trochosa spinipalpis* и *Alopecosa taeniata*. Субдоминантами являлись *Tapinocyba pallens*, *Agroeca brunnea*, *Pocadicnemis pumila*, *Xysticus obscurus*, *Zelotes clivicola*, *Maro minutus*, *Piratula hygrophila* и *Xysticus luctuosus*. К рецендентам принадлежали 9 видов, к субрецендентам – 34 вида.

В число доминирующих видов в сосняке чернично-зеленомошном в заказнике «Освейский» (биотоп О) входили *Trochosa terricola*, *Hygrolycosa rubrofasciata*, *Pocadicnemis pumila* и *Pardosa lugubris*. К субдоминантам относились *Agroeca brunnea*, *Haplodrassus soerenseni*, *Alopecosa taeniata*, *Piratula uliginosa*, *Centromerus arcanus*, *Xysticus obscurus* и *Walckenaeria cucullata*. Рецендентами являлись 8 видов, субрецендентами – 19 видов.

Анализ бета-разнообразия показал наличие статистически значимых различий в видовой структуре комплексов пауков в исследованных биотопах (ANOSIM: $R = 0,58$, $p = 0,001$). На диаграмме NMDS-ординации сообщества беспозвоночных в биотопах C1 и C2, а также в биотопах K2 и O формируют отдельные кластеры. Обособленно от них группируются пауки в ельнике чернично-зеленомошном (биотоп K1). При этом экологические пространства аранеокомплексов в гидромезоморфных сосняках (биотопы K2 и O) сильно перекрываются (рис. 2).

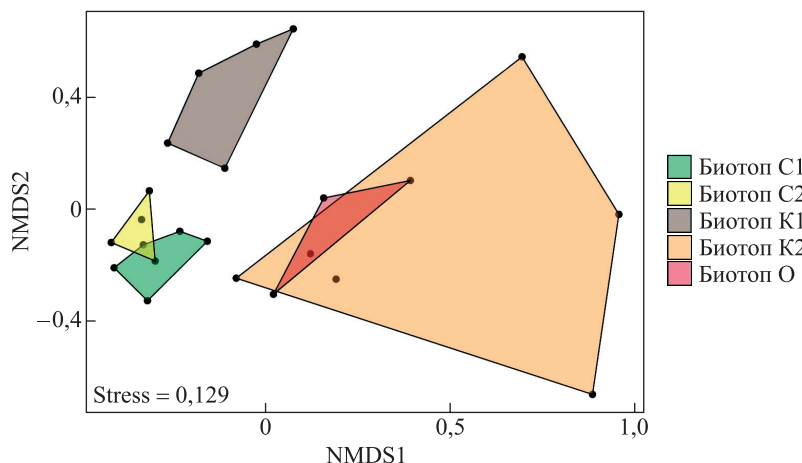


Рис. 2. Диаграмма NMDS-ординации сходства сообществ пауков в хвойных лесах

Fig. 2. NMDS plot of the similarity of spider communities in coniferous forests

Обсуждение результатов

В ходе работы выявлены особенности видовой структуры сообществ эпигейных пауков в наиболее характерных типах хвойных лесов на севере Беларуси. Поскольку сбор материала проводился в течение лишь небольшой части вегетационного сезона (с конца апреля до конца первой декады июня), исследования не позволили установить полное разнообразие сообществ пауков. В частности, не учтены активные в ранневесенний, летний и осенне-зимний периоды виды. Несмотря на это, в различных биотопах выявлено 38–55 видов, что сопоставимо с видовым разнообразием аранеокомплексов в сосновых лесах Брестского Полесья [13], но выше такового в Березинском биосферном заповеднике [8]. Исследованные сообщества пауков в поздневесенний – раннелетний период характеризовались относительно высокими значениями индексов разнообразия, близкими к их значениям в других сосняках [13].

Сосново-еловый лес в заказнике «Красный Бор» (биотоп K2) характеризуется выраженной неоднородностью микрорельефа, повышением влажности почвы в западинах и локальных понижениях, благоприятных для развития сфагнумов, а также формированием сплошного покрова из зеленых мхов на возвышениях. В сравнении с другими биотопами здесь формируется наиболее разнообразное сообщество пауков (55 видов). Примечательно, что в гидромезоморфном сосняке в заказнике «Освейский» (биотоп O), где в структуре напочвенной растительности также велико участие сфагновых мхов, зарегистрирован наименее богатый видовой состав (38 видов). Эта тенденция сохранилась при анализе теоретического числа видов в биотопах при равночисленных выборках, а также при оценке полноты видового состава с помощью непараметрического эстиматора Chao1 (см. табл. 2).

Структура доминирования в сообществах пауков характеризовалась специфичностью видового состава и численного обилия. Общим доминантом был *Trochosa terricola*. Этот вид населяет преимущественно леса, однако встречается и в открытых местообитаниях (луга, поля, вырубки и болота), куда проникает из соседних лесных биоценозов. В хвойных лесах он является наиболее массовым видом [8; 13–18]. Обычные в лесных биоценозах виды *Tapinocyba pallens*, *Pocadicnemis pumila*, *Alopecosa taeniata*, *Walckenaeria cucullata*, *Agroeca brunnea* и *Xysticus obscurus* входили в группу доминантов одновременно на 1–3 участках, при этом в других биотопах они переходили в группу субдоминантов, рецедентов и субрецидентов.

Только в гидромезоморфных сосняках доминировал *Hygrolycosa rubrofasciata*. Этот вид предпочитает хорошо увлажненные местообитания и может быть встречен на болотах, в заболоченных хвойных и лиственных лесах, а также на вырубках, полях и лугах [14; 19]. В биотопе K2 высокой численности также достигал *Trochosa spinipalpis*, встречающийся в заболоченных сосняках [14; 16] и на болотах [20].

Анализ бета-разнообразия выявил специфические особенности организации комплексов эпигейных пауков. Сходные условия обитания в сосняках заказника «Синьша» (биотопы C1 и C2) и гидромезоморфных лесах (биотопы K2 и O) способствуют формированию более близких по видовому составу

и уловистости сообществ беспозвоночных. Так, только в переувлажненных сосняках доминировал *Hygrolycosa rubrofasciata* и встречался *Piratula uliginosa* (субдоминант и рецедент в биотопах О и К2 соответственно). С другой стороны, здесь отсутствовал *Zora nemoralis* (субдоминант в биотопе С2 и рецедент в биотопах С1 и К1). Отдельно группируется сообщество пауков в ельнике чернично-зеленомошном (биотоп К1). Оно характеризуется относительно высоким обилием видов *Agroeca brunnea*, *Diplocentria bidentata*, *Minyriolus pusillus*, *Ozyptila trux* и *Zora spinimana* и отсутствием или низкой численностью таких массовых в других биотопах видов, как *Alopecosa taeniata*, *Pocadicnemis pumila* и *Zelotes clivicola*.

Заключение

Таким образом, выявлены особенности видовой организации сообществ эпигейных пауков в хвойных лесах на севере Беларуси в поздневесенний – раннелетний период. В различных биотопах отмечено 38–55 видов. Наибольшим видовым разнообразием отличалось семейство Linyphiidae. Самым многочисленным оказалось семейство Lycosidae. Комплексы пауков характеризовались специфичностью видового состава и численного обилия. В разных биотопах преобладали *Trochosa terricola*, *Tapinocyba pallens*, *Pocadicnemis pumila*, *Hygrolycosa rubrofasciata*, *Alopecosa taeniata*, *Agroeca brunnea*, *Walckenaeria cucullata*, *Hystricus obscurus* и *Trochosa spinipalpis*. Более сходные группировки пауков формируются в гидромезоморфных лесах, а также в сосняках заказника «Синьша».

Библиографические ссылки

1. Canals M, Veloso C, Solís R. Adaptation of the spiders to the environment: the case of some Chilean species. *Frontiers in Physiology*. 2015;6:220. DOI: 10.3389/fphys.2015.00220.
2. Nentwig W. The prey of spiders. In: Nentwig W, editor. *Ecophysiology of spiders*. Berlin: Springer-Verlag; 1987. p. 249–263. DOI: 10.1007/978-3-642-71552-5_18.
3. Nyffeler M. Prey selection of spiders in the field. *The Journal of Arachnology*. 1999;27(1):317–324.
4. McGeogh MA. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biological Reviews*. 1998;73(2): 181–201. DOI: 10.1111/j.1469-185X.1997.tb00029.x.
5. Мерзвинский ЛМ, Пиловец ГИ, Михеева ТМ, Становая ЮЛ, Колмаков ПЮ, Яцына АП и др. *Биологическое разнообразие Белорусского Поозерья*. Мерзвинский ЛМ, редактор. Витебск: Витебский государственный университет имени П. М. Машерова; 2011. 413 с.
6. Шляхтенко АС. Фаунистические комплексы пауков на пойменных лугах с различным типом хозяйственного использования. В: Сушеня ЛМ, Арзамасов ИТ, Безденежных ВА, Вязович ЮА, Галковская ГА, Долбик МС и др., редакторы. *Биологические основы освоения, реконструкции и охраны животного мира Белоруссии. Тезисы докладов 5-й зоологической конференции; 20–21 декабря 1983 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Наука и техника; 1983. с. 83–84.
7. Приставко ВП, Жуковец ЕМ. Пауки (Aranei) как объект экологического мониторинга в Березинском заповеднике. *Энтомологическое обозрение*. 1987;66(1):184–189.
8. Shavanova T. The spider fauna (Arachnida: Aranei) in various types of pine forests in the Berezinsky State Biosphere Reserve, Belarus. In: Růžicka V, editor. *Proceedings of the 15th European colloquium of arachnology; 1994 July 11–15; České Budějovice, Czech Republic*. České Budějovice: Institute of Entomology; 1995. p. 162–168.
9. Лобанок ПИ, составитель. *Заповедные территории Беларуси*. Минск: Беларуская энцыклапедыя імя Петруся Броўкі; 2008. 416 с.
10. Левы СВ, редактор. *Тэрыторыі, важныя для птушак у Беларусі*. Мінск: Рыфтур-прынт; 2015. 152 с.
11. Renkonen O. Statistisch-ökologische Untersuchungen über die terrestrische Käferwelt der finnischen Bruchmoore. *Annales Botanici Societatis Zoologicae-Botanicae Fennicae Vanamo*. 1938;6(1):1–231.
12. R Core Team. *R: a language and environment for statistical computing. Version 4.1.3* [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2022 [cited 2023 June 14]. Available from: <http://www.r-project.org/>.
13. Федосенко ЕИ. Структура и сезонная динамика видового разнообразия пауков в сосняках черничных и мшистых заказника «Прибужское Полесье». *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук*. 2022;67(1):84–90. DOI: 10.29235/1029-8940-2022-67-1-84-90.
14. Олигер ТИ. *Пауки юго-восточного Приладожья. К 30-летию Нижне-Свирского государственного природного заповедника*. Марусик ЮМ, редактор. Санкт-Петербург: Издательство Санкт-Петербургского государственного университета; 2010. 341 с. (Труды Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей. Серия 4; том 89).
15. Rėlys V, Dapkus D. Similarities between epigeic spider communities in a peatbog and surrounding pine forest: a study from southern Lithuania. In: Toft S, Scharff N, editors. *European arachnology – 2000. Proceedings of the 19th European colloquium of arachnology; 2000 July 17–22; Aarhus, Denmark*. Aarhus: Aarhus University Press; 2002. p. 207–214.
16. Biteniekytė M, Rėlys V. Epigeic spider communities of a peat bog and adjacent habitats. *Revista Ibérica de Aracnología*. 2007; 15:81–87.
17. Woźny M. Wpływ wilgotności podłoża na zgrupowania pajaków oraz dynamika liczebności gatunków dominujących borów sosnowych Wzgórz Ostrzeżowskich. *Acta Universitatis Wratislaviensis. Prace Zoologiczne*. 1992;23:25–82.
18. Karpiński J. Pająki (Araneida) w biocenozie Białowieżskiego Parku Narodowego. *Roczniki Nauk Leśnych*. 1956;14:163–200.
19. Ahtiainen JJ, Alatalo RV, Kotiaho JS, Mappes J, Parri S, Vertainen L. Sexual selection in the drumming wolf spider *Hygrolycosa rubrofasciata*. In: Toft S, Scharff N, editors. *European arachnology – 2000. Proceedings of the 19th European colloquium of arachnology; 2000 July 17–22; Aarhus, Denmark*. Aarhus: Aarhus University Press; 2002. p. 129–137.
20. Koponen S. Ground-living spiders in bogs in northern Europe. *The Journal of Arachnology*. 2002;30(2):262–267. DOI: 10.1636/0161-8202(2002)030[0262:GLSIBI]2.0.CO;2.

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

УДК 602.3:579.23(075.8) + 602.3:582.28(075.8)

Василенко С. Л. Биотехнология прокариот и грибов : электрон. учеб.-метод. комплекс с креатив. компонентом для спец.: 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика» / С. Л. Василенко, В. В. Лысак ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2024. 109 с. : 60 ил. Библиогр.: с. 108–109. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/322892>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 11.12.2024, № 018011122024. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов 1-й ступени высшего образования специальностей 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика». Содержание ЭУМК посвящено изучению основных направлений использования микроорганизмов в биотехнологическом производстве, организации биотехнологического производства и основных этапов процесса культивирования прокариот и грибов, а также принципов, подходов и методов молекулярной биологии, применяемых для целенаправленного конструирования микроорганизмов – продуцентов значимых для практической деятельности человека целевых продуктов.

УДК 606:63(075.8)

Дитченко Т. И. Биотехнология эукариот : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец.: 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика» / Т. И. Дитченко ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2024. 221 с. Библиогр.: с. 219–221. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/322924>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 11.12.2024, № 018211122024. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальности 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика».

В ЭУМК содержатся лекционный материал, лабораторный практикум, примерные задания для управляемой самостоятельной работы студентов, задания открытого типа, вопросы для подготовки к зачету, темы проектов, список литературы.

УДК 581(075.8) + 582(075.8)

Ботаника и микология : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец.: 6-05-0511-02 «Биохимия», 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика» / БГУ ; сост.: А. К. Храмцов, С. Г. Сидорова. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2024. 170 с. Библиогр.: с. 168–170. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/323429>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 23.12.2024, № 019923122024. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальностей 6-05-0511-02 «Биохимия», 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика». Содержание ЭУМК призвано сформировать у студентов целостную систему знаний о строении, биологических особенностях, систематике и происхождении высших растений, водорослей, грибов, грибоподобных организмов и лишайников, их значении в природе и жизни человека, а также возможностях и перспективах практического использования.

УДК 577.2(075.8)

Николайчик Е. А. Молекулярная биология : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец.: 6-05-0511-01 «Биология», 6-05-0511-02 «Биохимия», 6-05-0511-03 «Микробиология», 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-06 «Биотехнология»,

7-07-0511-01 «Фундаментальная и прикладная биотехнология» / Е. А. Николайчик, А. М. Ходосовская ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2024. 67 с. Библиогр.: с. 44, 66–67. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/324550>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 08.01.2025, № 000208012025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальностей 6-05-0511-01 «Биология», 6-05-0511-02 «Биохимия», 6-05-0511-03 «Микробиология», 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-06 «Биотехнология», 7-07-0511-01 «Фундаментальная и прикладная биотехнология». Содержание ЭУМК предполагает изучение фундаментальных основ функционирования клеток и многоклеточных организмов на молекулярном уровне. ЭУМК также включает практический раздел, содержащий вопросы для закрепления материала, изложенного в ходе лекций, на практических занятиях. Раздел контроля знаний призван облегчить подготовку к итоговой аттестации по дисциплине.

УДК 577.21(075.8) + 575.113(075.8)

Геномика : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец.: 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-01 «Биология», 7-07-0511-01 «Фундаментальная и прикладная биотехнология» / Ю. В. Дюбо, А. И. Левданская, М. А. Шارانгович [и др.] ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2024. 89 с. Библиогр.: с. 53, 88–89. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/324549>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 08.01.2025, № 000308012025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов, обучающихся по специальностям 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-01 «Биология», 7-07-0511-01 «Фундаментальная и прикладная биотехнология».

Содержание ЭУМК предполагает изучение наиболее актуальных вопросов геномики. ЭУМК также включает практический раздел, содержащий указания к практическим занятиям, позволяющие получить навык работы с данными высокопроизводительного секвенирования. На практических занятиях также закрепляется материал, изложенный в ходе лекций. Раздел контроля знаний призван облегчить подготовку к итоговой аттестации по дисциплине.

УДК 577.121(075.8) + 612.015.34(075.8)

Крытынская Е. Н. Ксенобиология : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)» / Е. Н. Крытынская ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 152 с. Библиогр.: с. 150–152. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/325336>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 03.02.2025, № 001403022025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) по учебной дисциплине «Ксенобиология» предназначен для обучающихся по биологическим специальностям. ЭУМК доработан, он включает четыре раздела. Содержание ЭУМК предполагает создание условий, содействующих освоению студентами программы дисциплины.

УДК 579.22(075.8)

Лысак В. В. Физиология микроорганизмов : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 6-05-0511-03 «Микробиология» / В. В. Лысак ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 182 с. : 61 ил. Библиогр.: с. 181. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/326293>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 19.02.2025, № 002419022025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов, получающих общее высшее образование по специальности 6-05-0511-03 «Микробиология». Содержание ЭУМК посвящено изучению основных физиологических процессов, протекающих в клетках микроорганизмов, и механизмов их регуляции.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

Губич О. И., Шпак А. П. Изучение гепатопротекторных и антиоксидантных свойств османтуса душистого (<i>Osmanthus fragrans</i>) на экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени <i>in vivo</i>	4
Черней И. С., Диченко Я. В., Чецевик В. Т. Молекулярные мишени белков адгезии биопленки <i>Candida tropicalis</i> для эфирных масел <i>Humulus lupulus</i> и <i>Artemisia absinthium</i>	12

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Капустин М. А., Чубарова А. С., Лодыгин А. Д., Ржепаковский И. В., Дудчик Н. В., Цыганков В. Г., Курченко В. П. Технология получения нанокомплексов куркуминоидов с циклодекстринами, исследование их свойств и биологической активности	24
--	----

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Иванюкович В. А., Мельнов С. Б., Ма Мин. Интерпретация динамики энтропии при проведении генетических исследований методом снижения мультифакторной размерности	40
--	----

БИОРАЗНООБРАЗИЕ

Федюшко И. А. Пикнидиальные септориоподобные микромицеты Беларуси. Первое дополнение к списку видов	47
Козулько Н. Г., Жуковец Е. М., Семеняк А. А. Видовое разнообразие сообществ эпигейных пауков (Araneae) в хвойных лесах на севере Беларуси	70
Аннотации депонированных в БГУ работ	80

CONTENTS

BIOCHEMISTRY

<i>Hubich A. I., Shpak A. P.</i> The investigation of hepatoprotective and antioxidant properties of <i>Osmanthus fragrans</i> on experimental model of chronic alcoholic liver damage <i>in vivo</i>	4
<i>Chernei I. S., Dzichenka Y. U., Cheshchevik V. T.</i> Molecular targets of <i>Candida tropicalis</i> bio-film adhesion proteins for <i>Humulus lupulus</i> and <i>Artemisia absinthium</i> essential oils	12

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

<i>Kapustin M. A., Chubarova H. S., Lodygin A. D., Rzhepakovsky I. V., Dudchik N. V., Tsygankow V. G., Kurchenko V. P.</i> Technology for nanocomplexes of curcuminoids with cyclodextrins production, investigation of their properties and biological activity	24
--	----

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

<i>Ivaniukovich U. A., Melnov S. B., Ma Min.</i> Entropy dynamics interpretation in genetic studies with the multifactor dimensionality reduction method	40
--	----

BIODIVERSITY

<i>Fiadziushka I. A.</i> Pycnidial <i>Septoria</i> -like micromycetes of Belarus. First addition to the list of species	47
<i>Kazulka M. H., Zhukovets E. M., Semeniak A. A.</i> Species diversity of epigeal spider assemblages (Araneae) in coniferous forests in the north of Belarus	70
Indicative abstracts of the papers deposited in BSU	80

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. 2025**

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. Пишкова*
Корректор *Л. А. Меркуль*

© БГУ, 2025

**Experimental Biology
and Biotechnology.
No. 1. 2025**

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'*

© BSU, 2025