



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

2

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.

Физиология и клеточная биология

PHYSIOLOGY AND CELL BIOLOGY

УДК 581.14:577.175.1:621.321

ВЛИЯНИЕ ПОЛИХРОМАТИЧЕСКОГО LED-ОСВЕЩЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМ СООТНОШЕНИЕМ КРАСНОГО И СИНЕГО ДИАПАЗОНОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* ДИКОГО ТИПА И МУТАНТОВ *wei8-1tar1-1* И *ahk2*

Т. Н. КУДЕЛИНА¹⁾, А. С. КРИВОБОК²⁾, Т. Н. БИБИКОВА³⁾, О. В. МОЛЧАН¹⁾

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

²⁾Институт медико-биологических проблем РАН, Хорошевское шоссе, 76а, 123007, г. Москва, Россия

³⁾Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Ленинские горы, 1, 119991, г. Москва, Россия

Аннотация. Изучено влияние полихроматического LED-освещения, включающего все области видимой части спектра, с варьируемым (от 1 до 6) соотношением красного и синего диапазонов (К/С) на рост и развитие растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2*. При полихроматическом LED-освещении с К/С = 4 у растений *A. thaliana* дикого типа отмечено увеличение массы растения, содержания фотосинтетических пигментов, поверхностной плотности листьев, длины главного корня, количества и длины боковых корней. Установлено, что дальнейшее увеличение соотношения К/С до значения К/С = 6 не приводит к большей активации физиолого-биохимических процессов. Показано ключевое значение гистидинкиназы АНК2 и участие белков ТАА и TAR1 в стимуляции роста вегетативных органов и формирования фотосинтетического аппарата у растений *A. thaliana* в ответ на повышение доли красного света и увеличение соотношения К/С в сложных полихроматических композициях.

Ключевые слова: LED-освещение; красный свет; синий свет; триптофанаминотрансфераза; ТАА; TAR1; гистидинкиназа; АНК2; *Arabidopsis thaliana*; мутант *wei8-1tar1-1*; мутант *ahk2*; фотосинтетический аппарат.

Образец цитирования:

Куделина ТН, Кривобок АС, Бибилова ТН, Молчан ОВ. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением красного и синего диапазонов на рост и развитие растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2*. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:4–15.
EDN: FHRWXY

For citation:

Kudolina TN, Krivobok AS, Bibikova TN, Molchan OV. Effect of polychromatic LED lighting with various red – blue ratio on the growth and development of *Arabidopsis thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2:4–15. Russian.
EDN: FHRWXY

Сведения об авторах см. на с. 15.

Information about the authors see p. 15.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (гранты № Б19РМ-065 и Б21М-097) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № Бел_мол_а 19-54-04015), а также в рамках государственной программы «Наукоёмкие технологии и техника» (научно-исследовательская работа «Разработать критерии адаптации растений к условиям искусственных мини-экосистем», № гос. регистрации 20240098).

EFFECT OF POLYCHROMATIC LED LIGHTING WITH VARIOUS RED – BLUE RATIO ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF *ARABIDOPSIS THALIANA* WILD TYPE PLANTS AND *wei8-1tar1-1* AND *ahk2* MUTANTS

T. N. KUDELINA^a, A. S. KRIVOBOK^b, T. N. BIBIKOVA^c, O. V. MOLCHAN^a

^aV. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

^bInstitute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences,
76a Horoshevskoe Highway, Moscow 123007, Russia

^cLomonosov Moscow State University, 1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

Corresponding author: T. N. Kudelina (10tan10@mail.ru)

Abstract. The effect of polychromatic LED lighting, including all regions of the visible spectrum, with a variable (from 1 to 6) red – blue ratio (R/B) on the growth of *Arabidopsis thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants was studied. Under polychromatic LED lighting with a R/B = 4, *A. thaliana* wild type plants showed an increase in plant weight, content of photosynthetic pigments, surface density of leaves, length of the main root, and the number and length of lateral roots. A further increase in the R/B ratio to R/B = 6 did not lead to greater activation of physiological and biochemical processes. The key importance of histidine kinase AHK2 and the participation of TAA and TAR1 proteins in the stimulation of vegetative organ growth and photosynthetic apparatus formation in *A. thaliana* plants in response to an increase in the red level and the R/B ratio in complex polychromatic compositions was shown.

Keywords: LED lighting; red light; blue light; tryptophan aminotransferase; TAA; TAR1; histidine kinase; AHK2; *Arabidopsis thaliana*; *wei8-1tar1-1* mutant; *ahk2* mutant; photosynthetic apparatus.

Acknowledgements. The work was carried out with the financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grants No. B19RM-065 and B21M-097) and the Russian Foundation for Basic Research (grant No. Bel_mol_a 19-54-04015), as well as within the framework of the state programme «Science-intensive technologies and equipment» (research work «Develop criteria for plant adaptation to the conditions of artificial mini-ecosystems», state registration No. 20240098).

Введение

Светильники на основе светодиодов (*light emission diodes*, LED) обладают многочисленными преимуществами и огромным потенциалом для использования в качестве дополнительных или основных источников освещения растений [1–5]. Они позволяют получать свет с практически любым спектральным составом в области физиологически активной радиации и тем самым создавать спектр для регуляции определенных биологических процессов [6]. Главным достоинством LED-освещения является возможность эффективной оптимизации световых режимов культивирования в течение суточного цикла и онтогенеза в целом [2]. Однако, несмотря на то что исследовать влияние LED-освещения на различные аспекты ростовых и физиолого-биохимических процессов растений начали достаточно давно, многие вопросы остаются нерешенными [1]. В частности, не выявлены оптимальные для разных растений и целей культивирования соотношения длин волн в полихроматических спектрах освещения. Тем не менее установлено, что свет – один из самых важных, эффективных и экологически безопасных факторов регуляции морфогенеза различных культур, поскольку рост, развитие и метаболизм растений значительно изменяются под воздействием освещения разного спектрального состава [1]. Возможно, это происходит в результате влияния света на фитогормональную систему. Например, известно, что многие аспекты метаболизма и регуляции двух важнейших групп гормонов растений, ауксинов и цитокининов, являются светозависимыми [7; 8]. Световые сигналы окружающей среды оказывают влияние на синтез, транспорт и распределение ауксина у растений, а также реакцию на него в отдельных клетках [7]. Цитокинины

могут имитировать эффект освещения и способствовать формированию ряда свойств, характерных для проростков, выращенных на свету, т. е. в некоторых случаях они заменяют освещение, по крайней мере частично [9]. Предполагается, что действие света и цитокининов осуществляется через общие промежуточные звенья сложной цепочки передачи сигналов, которые пока точно не установлены [8]. Так, свет может оказывать значительное влияние на функционирование фитогормональных систем, взаимодействие которых играет ключевую роль в онтогенезе растений. В большей степени пластичность роста и развития растений достигается за счет световой модуляции сигнальных систем ауксинов и цитокининов [7; 9].

Таким образом, механизмы влияния на растительный организм отдельных диапазонов излучения и их соотношения в полихроматических спектрах требуют дальнейшего изучения и представляют значительный фундаментальный и прикладной интерес [1]. Важной задачей видится определение механизмов взаимодействия светового и фитогормонального сигналов.

В качестве модельного объекта для изучения физиологии растений широко используется арабидопсис (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.). Анализ процессов роста и развития мутантов *A. thaliana* с избирательным подавлением функции индивидуальных генов или групп генов является одним из ключевых подходов при исследовании влияния на растительный организм внешних факторов. По этой причине целью данной работы было оценить влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением красного и синего диапазонов (К/С) на морфогенез растений *A. thaliana* дикого типа, а также мутантов *wei8-1tar1-1* с пониженным содержанием ауксинов и мутантов *ahk2* с инактивированным геном рецептора цитокининов – гистидинкиназы АНК2.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись растения *A. thaliana* дикого типа (экотип Columbia-0), мутанты *wei8-1tar1-1*, семена которых были предоставлены кафедрой биологии растений и микроорганизмов Университета штата Северная Каролина (США) [10], и мутанты *ahk2*, полученные лабораторией экспрессии генома растений Института физиологии растений имени К. А. Тимирязева РАН из коллекции семян ABRC Университета штата Огайо (США) [11]. Мутанты *wei8-1tar1-1* ввиду отсутствия ключевых ферментов основного ТАА/УС-пути синтеза ауксина, триптофанамиотрансфераз ТАА и TAR1, были установлены по продуктам ферментативной реакции с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Они характеризуются более низким уровнем индолил-3-уксусной кислоты и при этом имеют минимальные фенотипические отличия от растений дикого типа [10]. У инсерционных нокаут-мутантов *ahk2* с инактивированным геном гистидинкиназы АНК2 мутантные аллели были идентифицированы с использованием праймеров методом полимеразной цепной реакции [11]. Растения *A. thaliana* дикого типа рассматривали как пример сбалансированной и отлаженной работы всех участников ауксинового и цитокининового ответа. В работе использовали модифицированный способ культивирования арабидопсиса в стерильных условиях на фитогеле, при котором вся корневая система в процессе вегетации располагается вдоль поверхности водопроницаемой гидратцеллюлозной пленки [12]. Растения выращивали в стерильной питательной среде Мурасиге и Скуга на основе фитогеля в квадратных (120 × 120 мм) чашках Петри на поверхности гидратцеллюлозной пленки. Перед посадкой семена стерилизовали и размещали на поверхности пленки из расчета два растения на чашку. Далее чашки на 4 сут помещали в холодильник (4 °С) для стратификации, после чего переносили в климатическую камеру (24 °С), где закрепляли в вертикальном положении. Растения освещали люминесцентными (LL) светильниками и LED-светильниками при 24-часовом фотопериоде. В спектральном составе регулируемого LED-освещения, содержащем все длины волн от 400 до 800 нм, варьировали соотношение К/С от К/С = 1 до К/С = 6 при суммарной доле красного и синего света (73,0 ± 2,6) % от общей плотности потока фотонов, равной 100 мкмоль · м⁻² · с⁻¹ (см. таблицу, рис. 1). При LL-освещении плотность потока фотонов также составляла 100 мкмоль · м⁻² · с⁻¹. Спектральные характеристики освещения определяли с использованием спектрорадиометра МС-12 (Институт прикладных физических проблем имени А. Н. Севченко БГУ, Беларусь).

После прорастания семян начиная с 3-х суток чашки фотографировали раз в сутки, затем в серии последовательных изображений с помощью графического редактора *GIMP* определяли длину главного корня, количество и длину боковых корней. На 25-е сутки вегетации оценивали сухую массу корней и розетки листьев, количество, площадь и поверхностную плотность листьев¹, содержание и соотношение фотосинтетических пигментов [13].

В рамках исследования проведено пять повторных экспериментов в пять отдельных периодов времени. В общей сложности для каждого варианта освещения использовано 20 растений.

¹Терминология количественных характеристик при изучении роста, продуктивности и фотосинтеза сельскохозяйственных растений : метод. указания / ВАСХНИЛ, ВНИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова ; сост.: М. И. Зеленский, О. Д. Быков. Л. : ВНИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова, 1982. 45 с.

Характеристика вариантов освещения
Characteristics of lighting options

Характеристика освещения	Диапазон длин волн, нм	Вариант освещения				
		LL	LED1	LED2	LED3	LED4
Доля красного света в общей плотности потока фотонов, %	400–499	24 ± 1	35 ± 3	25 ± 1	15,0 ± 0,6	11,0 ± 0,5
	500–599	21 ± 5	15 ± 2	14 ± 2	14 ± 2	14 ± 1
	600–699	51 ± 1	38 ± 3	50 ± 3	60 ± 2	63 ± 2
	700–800	4,0 ± 0,5	12 ± 1	11 ± 1	11 ± 1	12 ± 1
Соотношение К/С	–	2	1	2	4	6

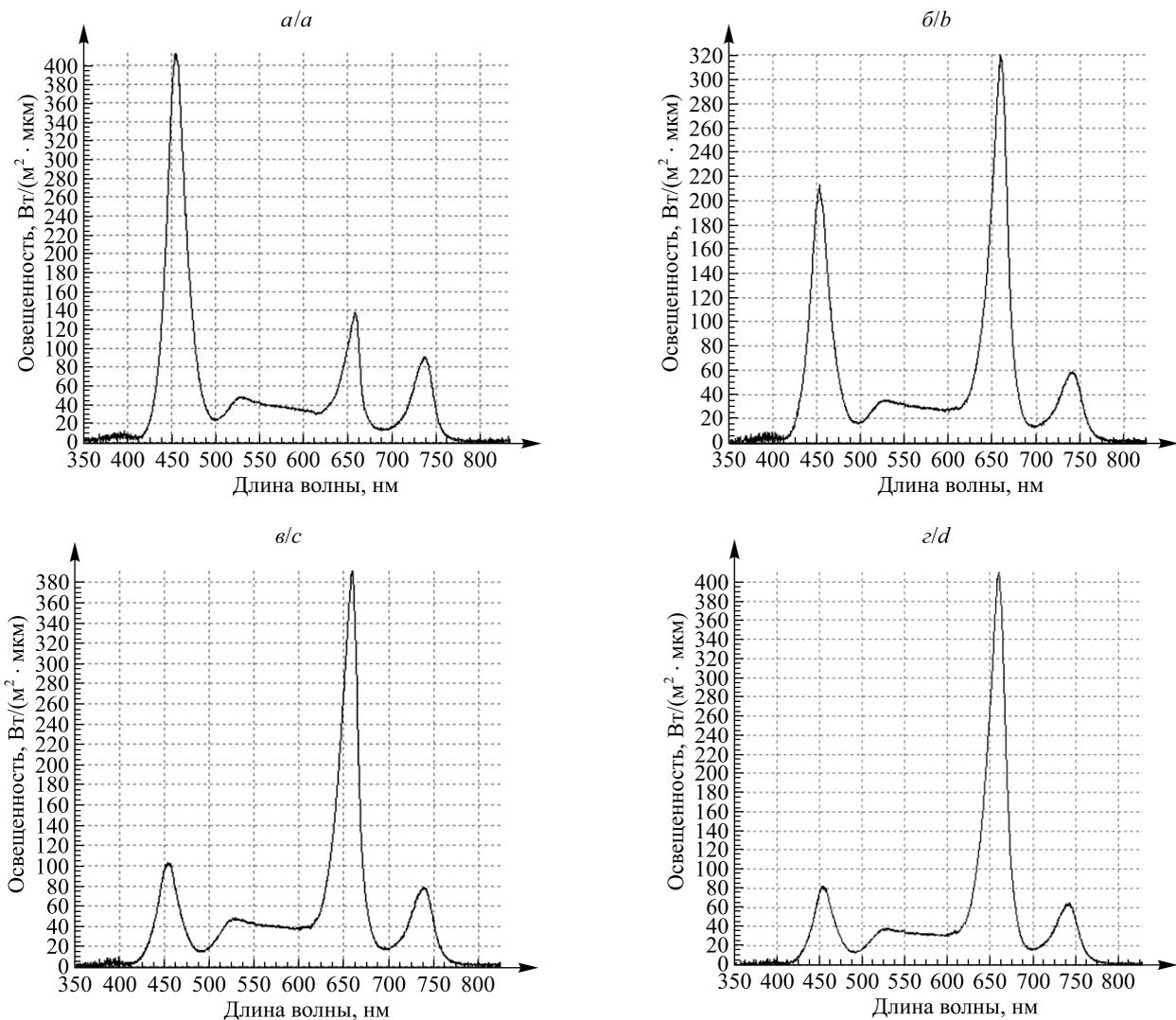


Рис. 1. Спектры LED-освещения: а – LED1; б – LED2; в – LED3; г – LED4

Fig. 1. Spectra of LED lighting: a – LED1; b – LED2; c – LED3; d – LED4

Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли в программах *Excel 2019 (Microsoft)* и *Statistica* (версия 8; *StatSoft*). Данные проверяли на нормальность распределения (тест Шапиро – Уилка) и однородность дисперсии (тест Левена). Статистический анализ проводили с использованием метода однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, $p \leq 0,05$). Средние значения нормально распределенных данных сравнивали с помощью *t*-критерия Стьюдента².

На графиках приведены средние значения и ошибка средней величины ($X \pm Sx$).

²Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика : учеб. пособие для биол. фак. ун-тов. 3-е изд., испр. Минск : Выш. шк., 1973. 320 с.

Результаты и их обсуждение

Самым большим накоплением сухой массы корней и розетки листьев, максимальными количеством, площадью и поверхностной плотностью листьев характеризовались растения *A. thaliana* дикого типа при LED3- и LED4-освещении (рис. 2). У мутантов *wei8-1tar1-1* при LED3- и LED4-освещении сухая масса и поверхностная плотность листьев были значительно меньше таковых у растений дикого типа, тогда как при LED1- и LED2-освещении различия между диким типом и мутантом практически отсутствовали. Это обстоятельство может указывать на то, что максимальный стимулирующий эффект, оказываемый полихроматическим LED-освещением с преобладанием красного диапазона и высоким соотношением К/С в спектре (варианты LED3 и LED4) на накопление сухой массы, скорее всего, достигается при активации пути синтеза ауксинов с участием белков TAA и TAR1. В то же время мутанты *ahk2* характеризовались наибольшим накоплением сухой массы, максимальными количеством и площадью листьев при LED1-освещении, а при LED2-, LED3- и LED4-освещении практически не различались по данным параметрам, т. е. повышение доли красного света и увеличение соотношения К/С в спектре не стимулировали рост мутантов *ahk2*. Также при LED2-, LED3- и LED4-освещении отмечена значительно меньшая вегетативная масса мутантов *ahk2* по сравнению с таковой растений дикого типа. Наблюдаемые эффекты могут указывать на важную роль гистидинкиназы АНК2, рецептора цитокининов, в стимуляции роста растений при действии света с повышенным соотношением К/С. Предложенная гипотеза согласуется с имеющимися в литературе данными о значимом участии цитокининов в формировании фотосинтетического аппарата (ФСА), фотосинтетических процессах и продуктивности растений [14].

Накопление сухой массы растением может характеризовать активность ФСА. Важным показателем, определяющим его работу, является количество фотосинтетических пигментов – хлорофиллов и каротиноидов. Освещение разного спектрального состава влияет на их синтез и функционирование всего ФСА [15]. В настоящей работе варианты освещения с К/С = 4 и К/С = 6 стимулировали образование каротиноидов и хлорофилла *a* у растений *A. thaliana* дикого типа, содержание хлорофилла *b* не зависело от спектрального состава света (рис. 3). Поскольку при LED3- и LED4-освещении также отмечено большее накопление сухой массы розетки листьев, увеличение содержания фотосинтетических пигментов при данных вариантах освещения, скорее всего, было обусловлено стимуляцией фотосинтетической активности полихроматическим светом с повышенным соотношением К/С. Важным показателем состояния пула фотосинтетических пигментов является соотношение хлорофилла *a* и хлорофилла *b*, которое обычно составляет около 3 отн. ед. [16]. В настоящем исследовании соотношение хлорофилла *a* и хлорофилла *b* в листьях растений *A. thaliana* дикого типа также было выше при LED3- и LED4-освещении по сравнению с таковым при других вариантах освещения. Соотношение хлорофиллов и каротиноидов практически не зависело от спектра освещения. Увеличение содержания хлорофилла *a* и соотношения хлорофилла *a* и хлорофилла *b* при использовании освещения с К/С = 4 и К/С = 6, вероятно, было связано с ростом числа пигмент-белковых комплексов [17; 18], а также с изменением их пигментного состава.

У мутантов *wei8-1tar1-1* LED3- и LED4-освещение также стимулировало образование хлорофилла *a* и хлорофилла *b* по сравнению с эффектами LED1- и LED2-освещения. Соотношение хлорофилла *a* и хлорофилла *b* не изменялось, т. е. увеличение количества пигмент-белковых комплексов не сопровождалось изменением их пигментного состава. У мутантов *ahk2*, наоборот, при LED3- и LED4-освещении содержание хлорофиллов было меньше, чем при LED1- и LED2-освещении, при этом соотношение хлорофилла *a* и хлорофилла *b* не менялось. Таким образом, предполагается, что отсутствие ферментов синтеза ауксина TAA и TAR1 снижало эффективность образования дополнительных пигмент-белковых комплексов и предотвращало изменение их структуры при действии света с повышенным соотношением К/С. Полученные результаты также свидетельствуют о ключевой роли гистидинкиназы АНК2 в регуляции формирования ФСА светом с высокой долей красной области в спектре. Кроме того, стоит отметить, что достоверных различий в эффектах, оказываемых LED3- и LED4-освещением на рост растений и формирование пула фотосинтетических пигментов, ни у растений дикого типа, ни у мутантов не выявлено.

Хорошо известно, что ауксин и цитокинин являются ключевыми гормонами, которые контролируют клеточную архитектуру первичного корня и образование новых боковых корней у растений *A. thaliana*. В настоящей работе длина главного корня у растений дикого типа и мутантных растений до 6-х суток различалась незначительно, но начиная с 7-х суток значение данного параметра у образцов дикого типа становится достоверно больше, чем у мутантов (рис. 4, *a, в, д, ж, и*). К 12-м суткам у растений дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* при LED3- и LED4-освещении главный корень был длиннее, чем при других вариантах освещения. Важно отметить, что мутанты *ahk2* имели максимальные различия с растениями дикого типа, особенно при LED3- и LED4-освещении, в то время как мутанты *wei8-1tar1-1* меньше отличались. У мутантов *ahk2* максимальная длина главного корня отмечена при LED1- и LED2-освещении, что, возможно, обусловлено активацией при освещении с более высокой долей синего света общих для цитокининов и криптохромов промежуточных посредников передачи сигналов, не связанных с активностью гистидинкиназ [8].

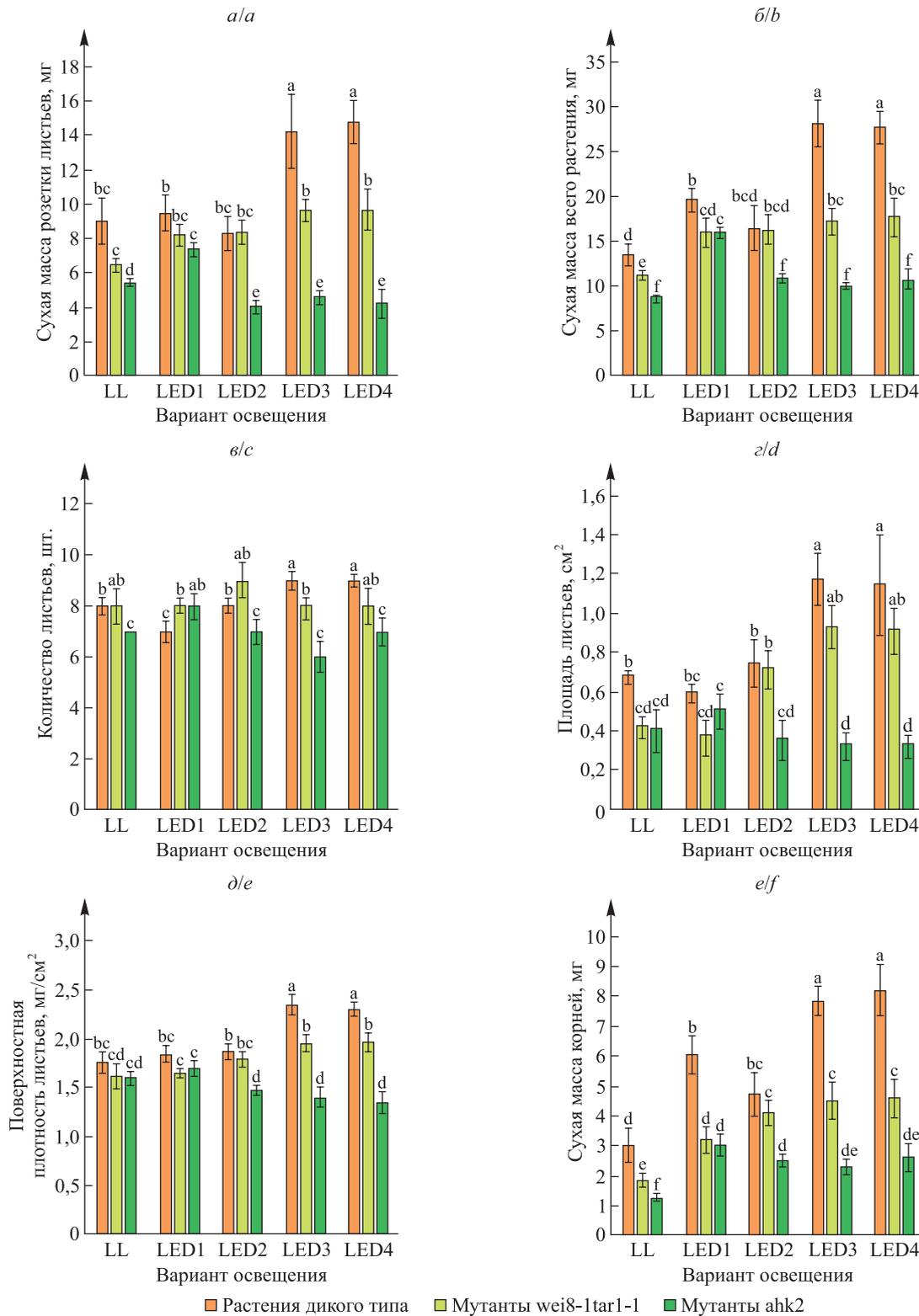


Рис. 2. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением К/С на накопление сухой массы розетки листьев (а) и сухой массы всего растения (б), количество (в), площадь (г) и поверхностную плотность (д) листьев, сухую массу корней (е) у 25-дневных растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2*. Разными буквами обозначены статистически достоверно различающиеся значения каждого параметра ($p \leq 0,05$)

Fig. 2. Effect of polychromatic LED lighting with different red – blue ratio (R/B) on the accumulation of dry mass of leaf rosettes (a) and dry mass of whole plant (b), the number (c), area (d) and surface density (e) of leaves, dry mass of roots (f) in 25-day-old *A. thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants. Different letters indicate statistically significant differences in the values of each parameter ($p \leq 0.05$)

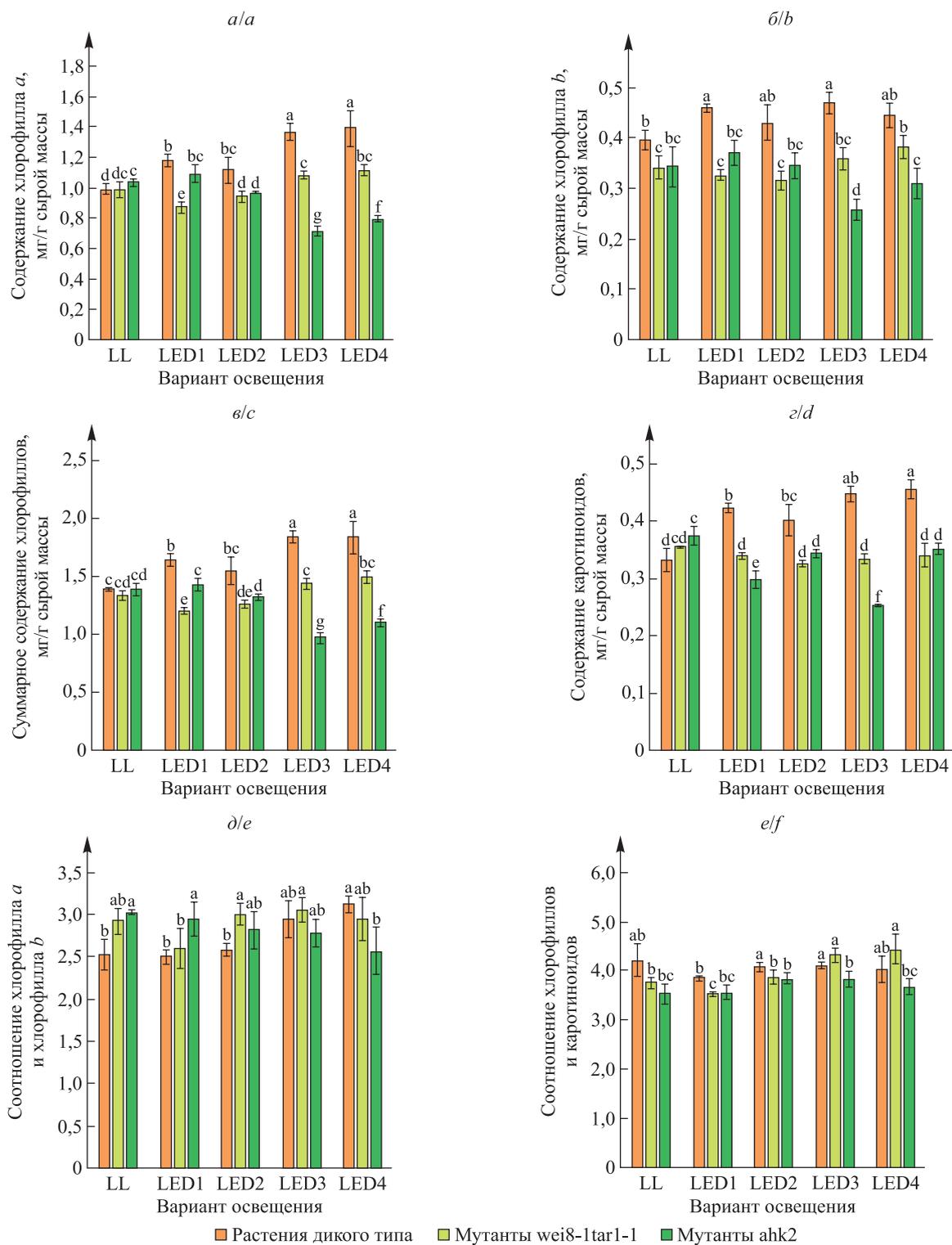


Рис. 3. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением К/С на содержание фотосинтетических пигментов в листьях 25-дневных растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов wei8-1tar1-1 и ahk2: а – содержание хлорофилла а; б – содержание хлорофилла б; в – суммарное содержание хлорофиллов; г – содержание каротиноидов; д – соотношение хлорофилла а и хлорофилла б; е – соотношение хлорофиллов и каротиноидов. Разными буквами обозначены статистически достоверно различающиеся значения каждого параметра ($p \leq 0,05$)

Fig. 3. Effect of polychromatic LED lighting with different R/B ratio on the content of photosynthetic pigments in leaves of 25-day-old *A. thaliana* wild type plants and wei8-1tar1-1 and ahk2 mutants: а – chlorophyll a content; б – chlorophyll b content; в – the ratio of chlorophylls and carotenoids. Different letters indicate statistically significant differences in the values of each parameter ($p \leq 0.05$)

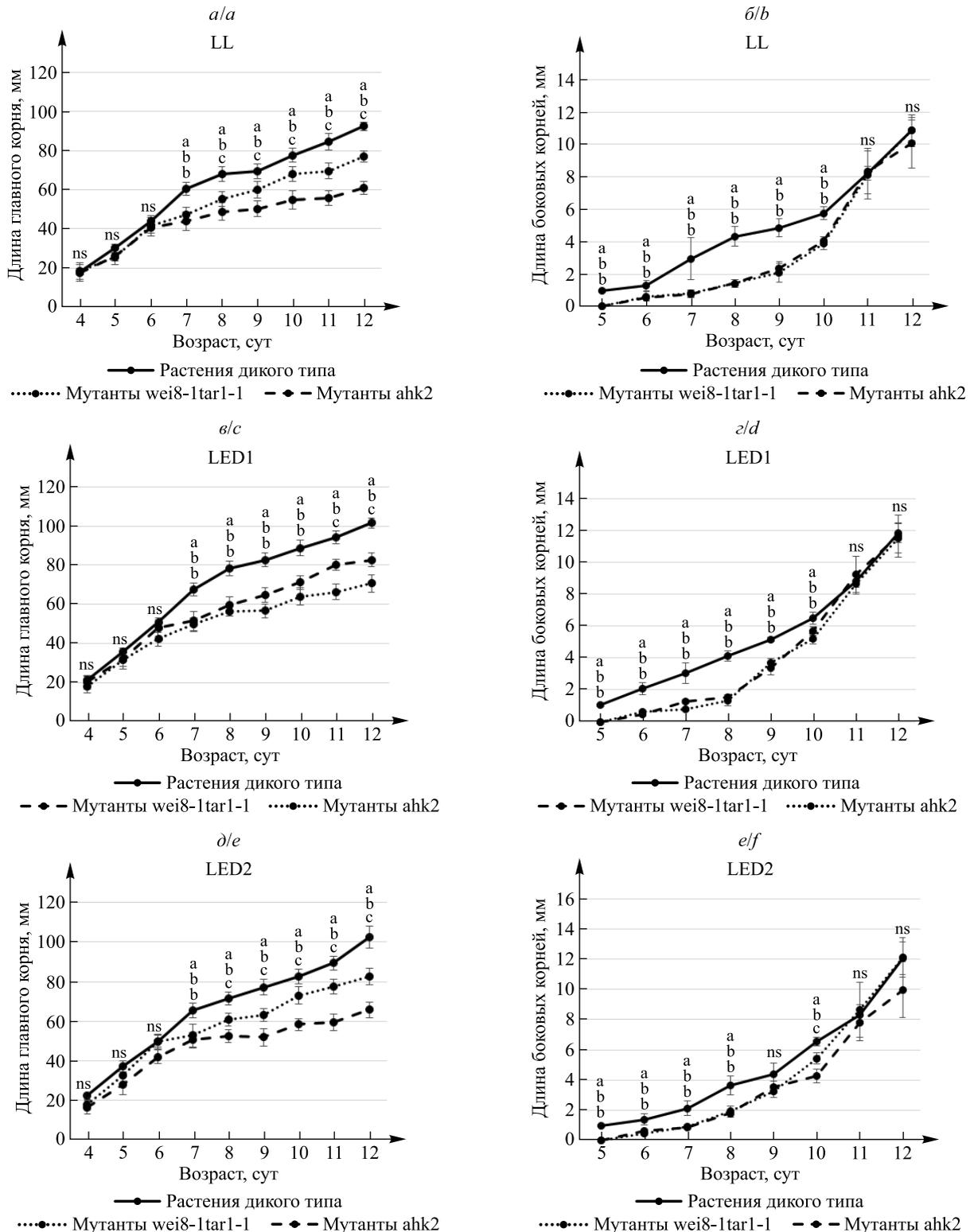


Рис. 4. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением К/С на длину главного (а, в, д) и боковых (б, г, е) корней у растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* различного возраста (начало).

Варианты освещения: а, б – LL; в, г – LED1; д, е – LED2. Разными буквами обозначены статистически достоверно различающиеся значения каждого параметра ($p \leq 0,05$). Обозначение «ns» указывает на отсутствие достоверных различий между сравниваемыми значениями

Fig. 4. Effect of polychromatic LED lighting with different R/B ratio on the length of main (a, c, e) and lateral (b, d, f) roots in *A. thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants of different ages (beginning).

Lighting options: a, b – LL; c, d – LED1; e, f – LED2. Different letters indicate statistically significant differences in the values of each parameter ($p \leq 0.05$). The notation «ns» indicates the absence of significant differences between the compared values

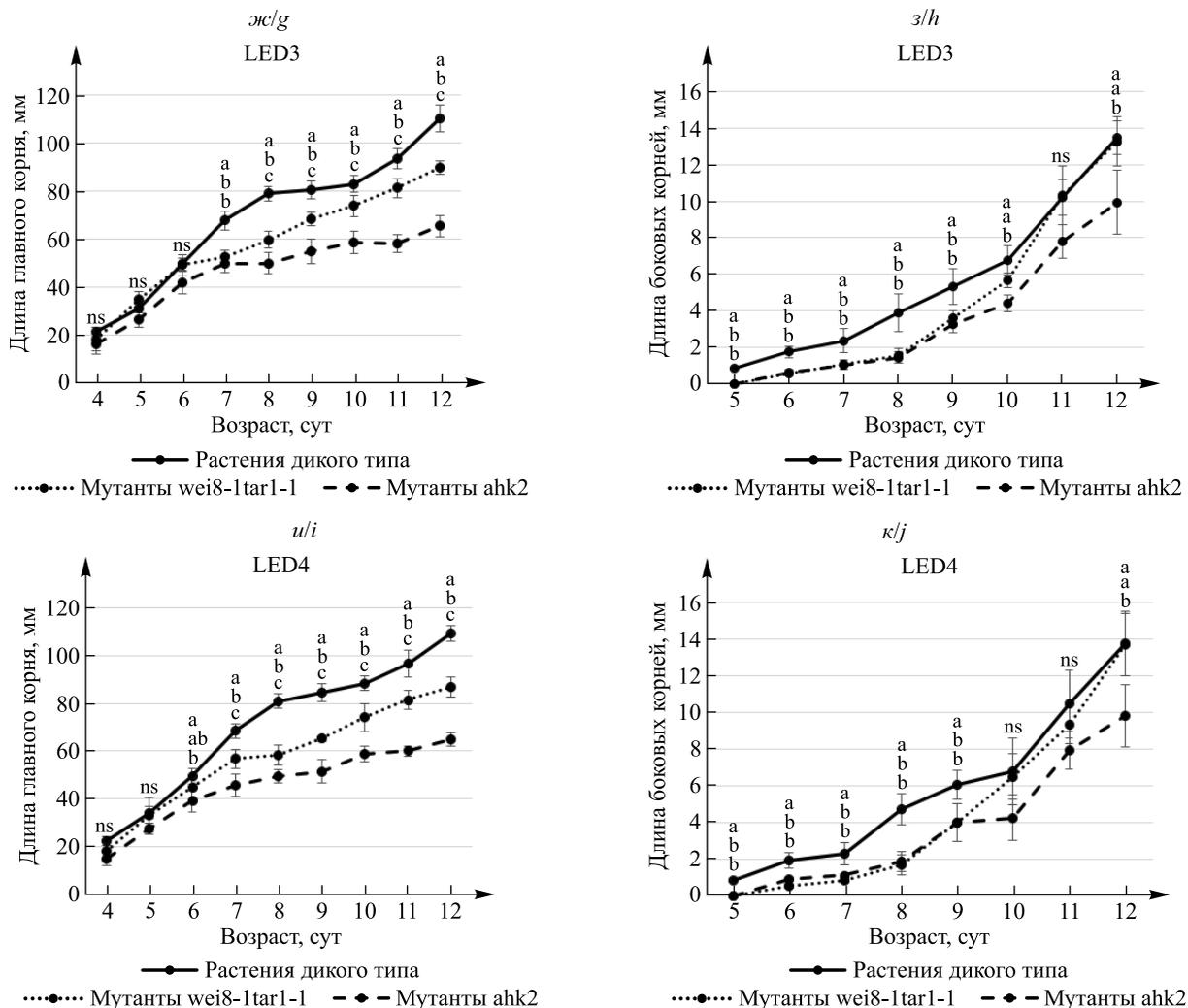


Рис. 4. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением К/С на длину главного (ж, и) и боковых (з, к) корней у растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* различного возраста (окончание).

Варианты освещения: ж, з – LED3; и, к – LED4. Разными буквами обозначены статистически достоверно различающиеся значения каждого параметра ($p \leq 0,05$).

Обозначение «ns» указывает на отсутствие достоверных различий между сравниваемыми значениями

Fig. 4. Effect of polychromatic LED lighting with different R/B ratio on the length of main (g, i) and lateral (h, j) roots in *A. thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants of different ages (ending).

Lighting options: g, h – LED3; i, j – LED4. Different letters indicate statistically significant differences in the values of each parameter ($p \leq 0.05$).

The notation «ns» indicates the absence of significant differences between the compared values

Образование и рост боковых корней в ответ на экологические сигналы позволяют растениям эффективно осваивать корнеобитаемую среду. Развитие корневой системы определяет перспективы роста растения и возможность обеспечения достаточного уровня поглощения воды и элементов минерального питания, позволяет прогнозировать адаптивный потенциал. Так, у растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* количество (рис. 5) и длина (рис. 4, б, з, е, з, к) боковых корней при LED3- и LED4-освещении были больше, чем при LED1- и LED2-освещении. Кроме того, у растений дикого типа при LED3- и LED4-освещении боковые корни образовывались на 5-е сутки, а при LED1- и LED2-освещении – на сутки позже. У мутантов *ahk2*, напротив, установлены образование большего количества боковых корней при LED1- и LED2-освещении и максимальная длина боковых корней при LED1-освещении. По сравнению с LL-освещением наиболее эффективными для образования и роста боковых корней у растений *A. thaliana* дикого типа были все варианты LED-освещения, у мутантов *wei8-1tar1-1* – LED3- и LED4-освещение, у мутантов *ahk2* – только LED1-освещение. Важно обратить внимание на то, что отсутствие белков TAA и TAR1 не было значимым для стимуляции удлинения боковых корней светом с высоким соотношением К/С, так как мутанты *wei8-1tar1-1* по данному параметру не отличались от растений дикого типа при всех вариантах освещения. Вместе с тем количество боковых корней у мутантов *wei8-1tar1-1* было меньше, чем у растений дикого типа, особенно при LED3- и LED4-освещении. У мутантов *ahk2* при LED3- и LED4-освещении отмечено уменьшение как длины, так и количества боковых корней.

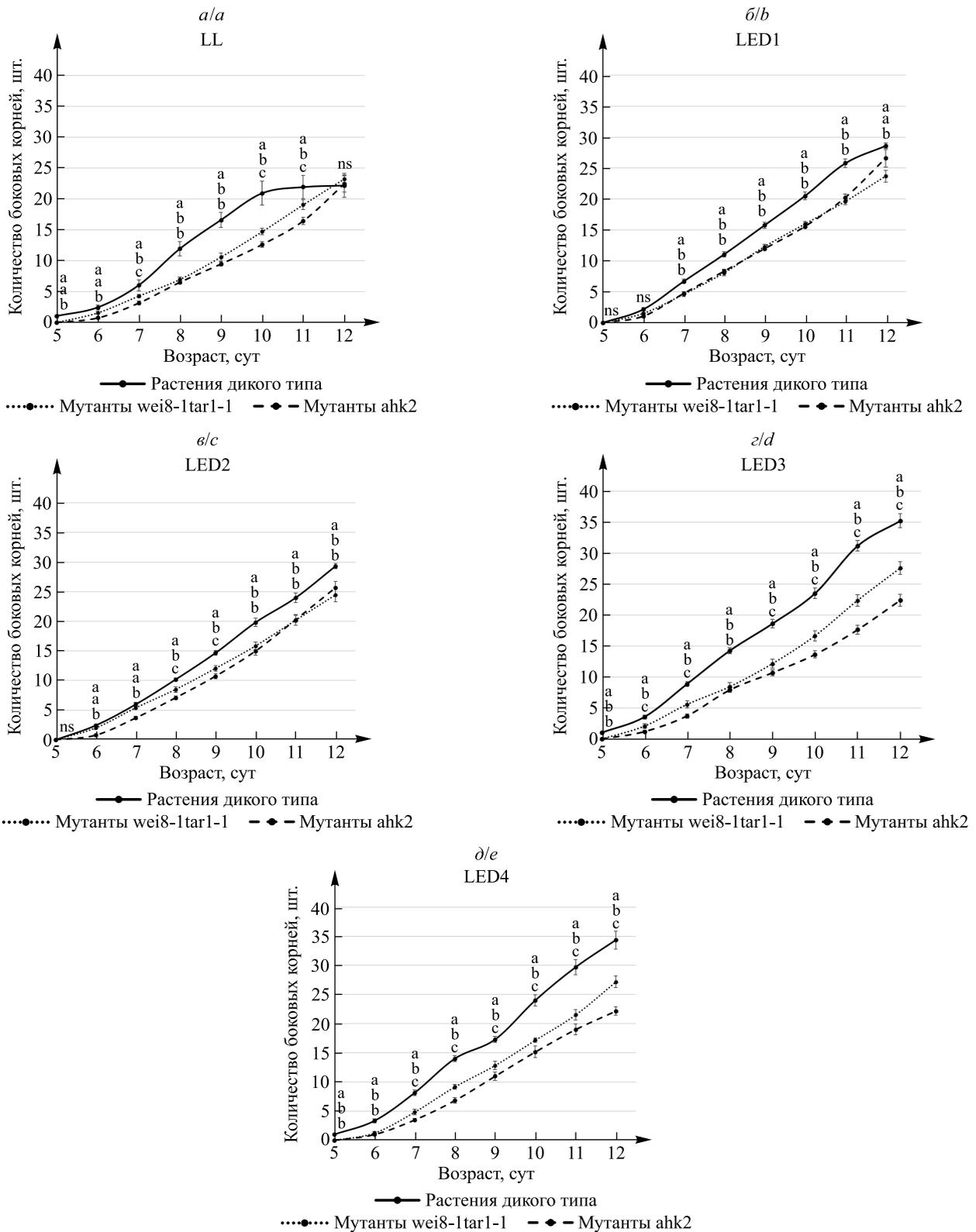


Рис. 5. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением К/С на количество боковых корней у растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* различного возраста.

Варианты освещения: а – LL; б – LED1; в – LED2; г – LED3; д – LED4.

Разными буквами обозначены статистически достоверно различающиеся значения параметра ($p \leq 0,05$).

Обозначение «ns» указывает на отсутствие достоверных различий между сравниваемыми значениями

Fig. 5. Effect of polychromatic LED lighting with different R/B ratio on the number of lateral roots in *A. thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants of different ages.

Lighting options: a – LL; b – LED1; c – LED2; d – LED3; e – LED4.

Different letters indicate statistically significant differences in the values of parameter ($p \leq 0.05$).

The notation «ns» indicates the absence of significant differences between the compared values

Полученные данные, вероятнее всего, указывают на стимуляцию роста главного корня и образования, но не роста боковых корней светом с высоким соотношением К/С в результате активации триптофан-аминотрансфераз TAA и TAR1. Отсутствие у мутантов *ahk2*, в отличие от растений *A. thaliana* дикого типа, увеличения длины главного корня, образования и роста боковых корней и накопления сухой массы корневой системы при LED3- и LED4-освещении с повышенным соотношением К/С, так же как и в случае с надземной частью растения, может свидетельствовать об участии рецепторов гистидинкиназы АНК2 в реализации эффектов освещения данного спектрального состава.

Заключение

Впервые изучено влияние полихроматических спектральных композиций, включающих все области видимой части спектра, с варьируемым соотношением К/С (от К/С = 1 до К/С = 6) на рост и развитие растений *A. thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2*. Увеличение доли красного света и соотношения К/С в полихроматических спектральных композициях до значений $(60 \pm 2) \%$ и К/С = 4 соответственно (вариант освещения LED3) приводило к увеличению массы растений, содержания хлорофиллов и каротиноидов, площади и поверхностной плотности листьев, длины главного корня, количества и длины боковых корней у растений *A. thaliana* дикого типа. Повышение доли красного света до $(63 \pm 2) \%$ и увеличение соотношения К/С до К/С = 6 (вариант освещения LED4) не сопровождалось большей, чем при LED3-освещении, стимуляцией ростовых процессов.

Скорее всего, при полихроматическом освещении с высоким соотношением К/С стимуляция накопления сухой массы надземной части и корней, увеличения площади и поверхностной плотности листьев, роста главного корня и образования боковых корней, повышения содержания фотосинтетических пигментов происходила с участием триптофан-аминотрансфераз TAA и TAR1, которые играют ключевую роль в образовании индолил-3-уксусной кислоты из триптофана через индолил-3-пировиноградную кислоту [19]. Менее эффективное, чем у растений *A. thaliana* дикого типа, увеличение данных показателей у мутантов *wei8-1tar1-1* свидетельствует о возможном участии белков TAA и TAR1 в вышеперечисленных процессах, хотя, вероятно, при их отсутствии могут включаться другие пути синтеза или активации пула конъюгатов ауксина. В то же время значительное уменьшение сухой массы надземной части и корней, длины главного корня, количества и длины боковых корней, содержания фотосинтетических пигментов у мутантов *ahk2*, выращенных при освещении с высоким соотношением К/С, по сравнению с аналогичными параметрами растений дикого типа, возможно, указывает на ключевое значение гистидинкиназы АНК2 в регуляции роста вегетативных органов и формирования ФСА у растений *A. thaliana* светом с повышенным уровнем красного диапазона в спектре.

С определенной долей вероятности результаты, полученные на модельных растениях, таких как *A. thaliana*, могут быть применимы и к другим видам [20]. Сравнение данных, установленных для арабидопсиса и других культур, представляется важным для выявления общих и специфических механизмов фотоморфогенеза [21].

Библиографические ссылки

1. Sena S, Kumari S, Kumar V, Husen A. Light emitting diode (LED) lights for the improvement of plant performance and production: a comprehensive review. *Current Research in Biotechnology*. 2024;7:100184. DOI: 10.1016/j.crbiot.2024.100184.
2. Закурин АО, Щенникова АВ, Камионская АМ. Светокультура растениеводства защищенного грунта: фотосинтез, фотоморфогенез и перспективы применения светодиодов. *Физиология растений*. 2020;67(3):246–258. DOI: 10.31857/S0015330320030227.
3. Stamford JD, Stevens J, Mullineaux PM, Lawson T. LED lighting: a grower's guide to light spectra. *HortScience*. 2023;58(2):180–196. DOI: 10.21273/HORTSCI16823-22.
4. Paradiso R, Proietti S. Light-quality manipulation to control plant growth and photomorphogenesis in greenhouse horticulture: the state of the art and the opportunities of modern LED systems. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2022;41(2):742–780. DOI: 10.1007/s00344-021-10337-y.
5. Fylladitakis ED. Controlled LED lighting for horticulture: a review. *Open Journal of Applied Sciences*. 2023;13(2):175–188. DOI: 10.4236/ojapps.2023.132014.
6. Sipos L, Boros IF, Csambalik L, Székely G, Jung A, Balázs L. Horticultural lighting system optimization: a review. *Scientia Horticulturae*. 2020;273:109631. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109631.
7. Halliday KJ, Martínez-García JF, Josse E-M. Integration of light and auxin signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2009;1(6):a001586. DOI: 10.1101/cshperspect.a001586.
8. Vandenbussche F, Habricot Y, Condiff AS, Maldiney R, Van Der Straeten D, Ahmad M. HY5 is a point of convergence between cryptochrome and cytokinin signalling pathways in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*. 2007;49(3):428–441. DOI: 10.1111/j.1365-3113X.2006.02973.x.
9. Chory J, Reinecke D, Sim S, Washburn T, Brenner M. A role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis* (det mutants have an altered response to cytokinins). *Plant Physiology*. 1994;104(2):339–347. DOI: 10.1104/pp.104.2.339.

10. Stepanova AN, Robertson-Hoyt J, Yun J, Benavente LM, Xie D-Y, Doležal K, et al. TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell*. 2008;133(1):177–191. DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.047.
11. Данилова МН, Кудрякова НВ, Воронин ПЮ, Оельмоллер Р, Кузнецов ВВ, Кулаева ОН. Мембранные рецепторы цитокинина и их регуляторная роль в реакции растений *Arabidopsis thaliana* на фотоокислительный стресс в условиях водного дефицита. *Физиология растений*. 2014;61(4):466–475. DOI: 10.7868/S001533031404006X.
12. Кривобок АС, Коновалова ИО, Куделина ТН, Смолянина СО, Лиленберг АИ, Бибикина ТН. Применение гидратцеллюлозной пленки для исследования роста и развития корневой системы модельного растения *Arabidopsis thaliana* L. *Биотехнология*. 2020;36(1):36–43. EDN: SDXEBF.
13. von Wettstein D. Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Experimental Cell Research*. 1957;12(3):427–506. DOI: 10.1016/0014-4827(57)90165-9.
14. Cortleven A, Schmölling T. Regulation of chloroplast development and function by cytokinin. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(16):4999–5013. DOI: 10.1093/jxb/erv132.
15. Shafiq I, Hussain S, Raza MA, Iqbal N, Asghar MA, Raza A, et al. Crop photosynthetic response to light quality and light intensity. *Journal of Integrative Agriculture*. 2021;20(1):4–23. DOI: 10.1016/S2095-3119(20)63227-0.
16. Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 1987;148:350–382. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
17. Lichtenthaler HK, Babani F. Light adaptation and senescence of the photosynthetic apparatus. Changes in pigment composition, chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic activity. In: Papageorgiou GC, Govindjee, editors. *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*. Dordrecht: Springer; 2004. p. 713–736 (Advances in photosynthesis and respiration; volume 19). DOI: 10.1007/978-1-4020-3218-9_28.
18. Lichtenthaler HK, Babani F, Navrátil M, Buschmann C. Chlorophyll fluorescence kinetics, photosynthetic activity, and pigment composition of blue-shade and half-shade leaves as compared to sun and shade leaves of different trees. *Photosynthesis Research*. 2013;117(1–3):355–366. DOI: 10.1007/s11120-013-9834-1.
19. Brumos J, Robles LM, Yun J, Vu TC, Jackson S, Alonso JM, et al. Local auxin biosynthesis is a key regulator of plant development. *Developmental Cell*. 2018;47(3):306–318. DOI: 10.1016/j.devcel.2018.09.022.
20. Leonelli S. *Arabidopsis*, the botanical *Drosophila*: from mouse cress to model organism. *Endeavour*. 2007;31(1):34–38. DOI: 10.1016/j.endeavour.2007.01.003.
21. Spaninks K, van Lieshout J, van Ieperen W, Offringa R. Regulation of early plant development by red and blue light: a comparative analysis between *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:599982. DOI: 10.3389/fpls.2020.599982.

Получена 07.05.2025 / исправлена 06.06.2025 / принята 06.06.2025.
Received 07.05.2025 / revised 06.06.2025 / accepted 06.06.2025.

Авторы:

Татьяна Николаевна Куделина – научный сотрудник лаборатории биофотоники и стрессоустойчивости растений.
Анна Святославовна Кривобок – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник лаборатории культивирования растений в системах жизнеобеспечения в автономных обитаемых сооружениях.
Татьяна Николаевна Бибикина – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник кафедры физиологии растений биологического факультета.
Ольга Викторовна Молчан – кандидат биологических наук, доцент; заведующий лабораторией биофотоники и стрессоустойчивости растений.

Authors:

Tatsiana N. Kudelina, researcher at the laboratory of biophotonics and plant stress resistance.
10tan10@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-4217-4455>
Anna S. Krivobok, PhD (biology); senior researcher at the laboratory of plant cultivation in life support systems in autonomous residential buildings.
nuxin@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7385-3958>
Tatiana N. Bibikova, PhD (biology); senior researcher at the department of plant physiology, faculty of biology.
bibikova@mail.bio.msu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4598-240X>
Olga V. Molchan, PhD (biology), docent; head of the laboratory of biophotonics and plant stress resistance.
olga_molchan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9673-4655>

ЦИТОПРОТЕКТОРНОЕ И АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СВОБОДНОГО И НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО КВЕРЦЕТИНА ПРИ *трет*-БУТИЛГИДРОПЕРОКСИД-ИНДУЦИРОВАННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ КЛЕТОК

А. И. ПОТАПОВИЧ¹⁾, Т. В. КОСТЮК¹⁾,
Т. Г. ШУТОВА²⁾, Т. В. РОМАНОВСКАЯ¹⁾, В. А. КОСТЮК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь
²⁾Институт химии новых материалов НАН Беларуси,
ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Исследовано цитопротекторное и антиоксидантное действие кверцетина, вносимого в культуральную среду в виде раствора в диметилсульфоксиде и в виде водной суспензии кверцетинсодержащих желатиновых наночастиц. Окислительный стресс в кератиноцитах линии HaCaT индуцирован путем добавления *трет*-бутилгидропероксида. Наличие окислительного стресса определено по снижению внутриклеточного содержания восстановленного глутатиона и SH-групп белков. Исследуемые препараты внесены в среду ДМЕМ без сыворотки непосредственно перед добавлением *трет*-бутилгидропероксида. Степень повреждения клеток оценена по выходу фермента лактатдегидрогеназы и с помощью теста на живые и мертвые клетки. Апоптотические и некротические клетки выявлены методом проточной цитофлуориметрии с использованием аналитического набора, включающего аннексин V, меченный флуорохромом FITC, и пропидия иодид. Полученные результаты свидетельствуют о том, что как свободный, так и наноструктурированный кверцетин эффективно предотвращают окислительное повреждение и гибель клеток, вызываемые *трет*-бутилгидропероксидом. Таким образом, включение кверцетина в желатиновые наночастицы позволяет использовать данное вещество в виде водных суспензий без снижения его антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности.

Образец цитирования:

Потапович АИ, Костюк ТВ, Шутова ТГ, Романовская ТВ, Костюк ВА. Цитопротекторное и антиоксидантное действие свободного и наноструктурированного кверцетина при *трет*-бутилгидропероксид-индуцированном повреждении клеток. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025; 2:16–24.
EDN: DGWMPZ

For citation:

Potapovich AI, Kostyuk TV, Shutava TG, Ramanouskaya TV, Kostyuk VA. Cytoprotective and antioxidant effects of free and nanostructured quercetin in *tert*-butyl hydroperoxide-induced cell damage. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2:16–24. Russian.
EDN: DGWMPZ

Авторы:

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

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

Татьяна Геннадьевна Шутова – кандидат химических наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории материалов и технологий ЖК-устройств.

Татьяна Владимировна Романовская – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры генетики биологического факультета.

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

Authors:

Alla I. Potapovich, PhD (biology), docent; leading researcher at the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.

pot-alla@rambler.ru

<https://orcid.org/0009-0001-1815-8557>

Tatyana V. Kostyuk, researcher at the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.

tanyasuhan@mail.ru

Tatsiana G. Shutava, PhD (chemistry), docent; leading researcher at the laboratory of materials and technologies of LCD devices.

shutova@ichnm.by

Tatsiana V. Ramanouskaya, PhD (biology), docent; associate professor at the department of genetics, faculty of biology.

Vladimir A. Kostyuk, doctor of science (chemistry), full professor; head of the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.

kostyuk@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0002-1246-4131>

Ключевые слова: кератиноциты линии HaCaT; *tert*-бутилгидропероксид; кверцетин; желатиновые наночастицы; окислительный стресс; проточная цитофлуориметрия.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Конвергенция-2025» (задание 3.03.11).

CYTOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF FREE AND NANOSTRUCTURED QUERCETIN IN *tert*-BUTYL HYDROPEROXIDE-INDUCED CELL DAMAGE

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

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

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

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

Abstract. The cytoprotective and antioxidant effects of quercetin introduced into the cultural medium in the form of a solution in dimethyl sulfoxide and as an aqueous suspension of quercetin-loaded gelatin nanoparticles were investigated. Oxidative stress in HaCaT keratinocytes was induced by the addition of *tert*-butyl hydroperoxide. Its presence was determined by a decrease in intracellular levels of reduced glutathione and SH groups of proteins. The studied preparations were introduced into the serum-free DMEM medium immediately prior to *tert*-butyl hydroperoxide addition. Cell damage was assessed by measuring lactate dehydrogenase release and through live and dead cell assays. Apoptotic and necrotic cells were identified via flow cytometry using the staining kit containing FITC-labelled annexin V and propidium iodide. The results demonstrate that both free and nanostructured quercetin effectively mitigate oxidative damage and cell death induced by *tert*-butyl hydroperoxide. These findings suggest that incorporating quercetin into gelatin nanoparticles allows the use of this substance in aqueous suspensions without compromising its antioxidant properties and cytoprotective activity.

Keywords: HaCaT keratinocytes; *tert*-butyl hydroperoxide; quercetin; gelatin nanoparticles; oxidative stress; flow cytometry.

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the state programme of scientific research «Convergence-2025» (assignment 3.03.11).

Введение

В контексте молекулярной фармакологии нанотехнологии открывают новые горизонты для разработки инновационных лекарственных форм. Их использование способствует расширению спектра применения молекулярных фармакологических средств – от улучшения проникновения веществ через биологические барьеры (например, гематоэнцефалический барьер) до создания новых методов диагностики и мониторинга состояния организма на молекулярном уровне. Нанотехнологии позволяют разрабатывать носители с функциональными поверхностными группами, способными взаимодействовать с определенными клетками или тканями, что повышает селективность доставки лекарств и эффективность лечения [1]. Включение веществ, обладающих высокой биологической активностью, но низкой растворимостью, таких как флавоноиды, в биосовместимые и биоразлагаемые наноструктуры может существенно повысить их биодоступность. Одним из наиболее фармакологически перспективных флавоноидов является кверцетин – мощный антиоксидант, оказывающий противовоспалительное действие. Исследования показывают, что он способен модулировать работу иммунной системы, снижать воспаление и защищать клетки от окислительного стресса [2]. Кверцетин рассматривается как потенциальное средство для профилактики и лечения различных заболеваний, включая паразитарные инфекции, сердечно-сосудистые и воспалительные патологии [3; 4]. В связи с низкой растворимостью кверцетина значительная часть перорально введенного вещества метаболизируется в кишечнике, и лишь небольшая

часть всасывается в порталные вены, что объясняет низкую биодоступность данного флавоноида. Для повышения эффективности его доставки используют наноносители на основе липидов – липосомы, наноструктурированные липидные носители, твердолипидные наночастицы (НЧ), мицеллы и гидрогели из природных или синтетических полимеров [5–7]. Ранее нами было показано, что в качестве средств доставки фармакологически активных субстанций в культивируемые клетки человека могут применяться желатиновые НЧ [8]. В настоящей работе исследовано цитопротекторное и антиоксидантное действие кверцетина, вносимого в культуральную среду в виде раствора в диметилсульфоксиде и в виде водной суспензии наноструктурированного кверцетина, включенного в НЧ, при *трет*-бутилгидропероксид-индуцированном повреждении кератиноцитов человека.

Материалы и методы исследования

Реагенты. В работе использовали модифицированную среду Игла (DMEM), акридиновый оранжевый, этидиумбромид, кверцетин, *трет*-бутилгидропероксид (*t*ВНР), желатин типа А (300 Блум) (*Sigma-Aldrich*, Германия), изотонический фосфатный буфер (рН 7,4) (*Lonza*, Бельгия), эмбриональную бычью сыворотку (*Capricorn Scientific*, Польша).

Клеточные культуры. Иммуортилизованная клеточная линия кератиноцитов человека HaCaT была предоставлена доктором Н. Фузенигом (Гейдельберг, Германия). Клетки культивировали во флаконах T25 (*Sarstedt*, США) в среде DMEM, содержащей 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, при стандартных условиях (37 °С; 5 % CO₂). Экспозицию с исследуемыми веществами проводили в 96- и 24-луночных планшетах (*Sarstedt*).

Получение желатиновых нанокапсул. Желатиновые нанокапсулы получали методом двухстадийной десольватации без использования поверхностно-активных веществ по модифицированной методике, приведенной в работе [9]. Средний гидродинамический диаметр желатиновых нанокапсул был равен (264 ± 5) нм. Для получения кверцетинсодержащих желатиновых НЧ (Кв-НЧ) к 15 мл водной дисперсии желатиновых нанокапсул с концентрацией 1,4 мг/мл добавляли по каплям 3 мл раствора кверцетина в этиловом спирте с концентрацией 0,24 мг/мл при постоянной обработке ультразвуком. Далее Кв-НЧ отделяли центрифугированием и редиспергировали в 2 мл дистиллированной воды. Полученный образец содержал около 0,052 ммоль кверцетина на 1 г НЧ.

Общая схема проведения экспериментов. Окислительный стресс инициировали добавлением *t*ВНР. Исследуемые препараты (раствор кверцетина в диметилсульфоксиде и водную суспензию Кв-НЧ) вносили в среду DMEM, не содержащую сыворотки, непосредственно перед добавлением *t*ВНР.

Нарушение целостности клеток оценивали по выходу из клеток фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и с помощью теста на живые и мертвые клетки, используя смесь флуоресцентных красителей акридинового оранжевого и этидиумбромида. Окрашенные клетки визуализировали и фотографировали с применением флуоресцентного микроскопа в сочетании с системой анализа изображений *Celena S (Logos Biosystems, Республика Корея)*. Активность ЛДГ определяли прямым спектрофотометрическим методом в 1 мл изотонического фосфатного буфера, содержащего 330 мкмоль/л пирувата и 100 мкмоль/л НАДН, по величине изменения оптической плотности при 340 нм за 1 мин с использованием спектрофотометра *Cary-50 (Varian, Австралия)*. Процент повреждения клеток рассчитывали путем деления активности ЛДГ в среде культивирования на суммарную активность ЛДГ в среде культивирования и лизатах адгезированных клеток.

Апоптотические и некротические клетки выявляли методом проточной цитофлуориметрии на приборе *LongCyte B5R3V3 (Challenbio, Китай)* с использованием аналитического набора, включающего аннексин V, меченный флуорохромом FITC (аннексин V-FITC), и пропидия иодид (PI) (*BioLegend, США*), согласно инструкции.

Содержание SH-групп глутатиона и тиолов белков определяли, используя реагент *ThioGlo-1 (SABiosciences, Италия)* [10]. При анализе образцов в лунки планшета добавляли 200 мкл раствора 10 ммоль/л додецилсульфата натрия, содержащего 10 мкмоль/л реагента *ThioGlo-1*. Планшет инкубировали на шейкере в темноте при комнатной температуре в течение 60 мин и измеряли интенсивность флуоресценции в лунках с использованием флуоресцентного спектрофотометра *Cary Eclipse (Varian)* при $\lambda_{\text{ex}} = 355$ нм, $\lambda_{\text{em}} = 535$ нм. Количество SH-групп в образцах рассчитывали с помощью калибровочного графика.

Статистический анализ. Полученные данные анализировали с использованием программы *Excel*. Результаты представляли как среднее значение ± стандартное отклонение. Для оценки статистической значимости (*p*) использовали двусторонний непарный критерий Стьюдента. Статистически достоверными считали значения $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Внесение *t*ВНР в концентрации 0,5 ммоль/л в среду культивирования кератиноцитов человека линии HaCaT приводит к снижению в ходе инкубации количества восстановленного глутатиона (GSH) и SH-групп белков (табл. 1). Эти результаты согласуются с данными различных авторов, показавших, что *t*ВНР способен инициировать в клетках гиперпродукцию активных форм кислорода и развитие окислительного стресса [11; 12], одним из важнейших маркеров которого является снижение внутриклеточного уровня GSH и SH-групп белков [10].

Таблица 1

Содержание GSH и SH-групп белков в кератиноцитах линии HaCaT через 1, 2 и 4 ч инкубации с *t*ВНР в концентрации 0,5 ммоль/л

Table 1

Content of GSH and SH groups of proteins in HaCaT keratinocytes after 1, 2 and 4 h of incubation with *t*ВНР at a concentration of 0.5 mmol/L

Время воздействия <i>t</i> ВНР, ч	Содержание GSH и SH-белков, нмоль на 1 мл лизата клеток
0 (контроль)	18,7 ± 1,0
1	18,4 ± 2,4
2	17,4 ± 1,2**
4	12,5 ± 1,2*

* $p \leq 0,000001$ относительно контроля.

** $p \leq 0,03$ относительно контроля.

Известно, что продукция избыточного количества активных форм кислорода приводит к ингибированию клеточного метаболизма, следствием чего может быть некротическая или апоптотическая гибель клеток [13]. Для выяснения механизма клеточной гибели, вызванной окислительным стрессом, инициируемым *t*ВНР, использовали метод двойного окрашивания (аннексин V-FITC и PI). Белок аннексин V избирательно связывается с фосфатидилсеринем (PS). В нормальных клетках PS расположен только на внутренней стороне плазматической мембраны и недоступен для аннексина V. Во время апоптоза асимметрия мембраны нарушается, и PS перемещается на внешнюю сторону мембраны, что позволяет ему связываться с аннексином V-FITC. В результате поверхность клеток демонстрирует зеленую флуоресценцию, при этом ядра некротических и поздних апоптотических клеток окрашиваются в красный цвет интеркалирующим красителем PI. Флуоресценцию клеток и соотношение нормальных, ранних апоптотических, некротических и поздних апоптотических клеток оценивали методом проточной цитофлуориметрии (рис. 1). Как следует из данных, представленных на рис. 1, через 4 ч инкубации с *t*ВНР почти половина всех клеток (примерно 43 %) находятся в состоянии апоптоза, тогда как количество некротических клеток составляет менее 7 %.

В последующих экспериментах было исследовано влияние кверцетина, вносимого в культуральную среду в виде раствора в диметилсульфоксиде и в виде водной суспензии Кв-НЧ, на количество в клетках GSH и SH-групп белков через 4 ч инкубации с *t*ВНР (табл. 2).

Таблица 2

Содержание GSH и SH-групп белков в кератиноцитах линии HaCaT через 4 ч инкубации с *t*ВНР в присутствии исследуемых препаратов и без них

Table 2

Content of GSH and SH groups of proteins in HaCaT keratinocytes after 4 h of incubation with *t*ВНР in the presence of the studied drugs and without them

Экспериментальные условия	Содержание GSH и SH-белков, нмоль на 1 мл лизата клеток
Контроль	18,9 ± 0,6
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л)	14,1 ± 0,6*
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и кверцетином (25 мкмоль/л)	18,7 ± 1,4**
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и кверцетином (50 мкмоль/л)	18,7 ± 0,6**

Окончание табл. 2
 Ending of the table 2

Экспериментальные условия	Содержание GSH и SH-белков, нмоль на 1 мл лизата клеток
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и Кв-НЧ (25 мкмоль/л)	19,6 ± 1,2**
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и Кв-НЧ (50 мкмоль/л)	19,5 ± 1,4**

* $p < 0,000\,001$ относительно контроля.

** $p < 0,000\,01$ относительно инкубации с *t*ВНР.

Установлено, что свободный и наноструктурированный кверцетин уже в концентрации 25 мкмоль/л полностью устраняет *t*ВНР-индуцированное снижение уровня GSH и SH-групп белков в кератиноцитах через 4 ч воздействия *t*ВНР, что может свидетельствовать об отсутствии окислительного стресса в этих клетках. Методом проточной цитофлуориметрии было оценено соотношение нормальных, ранних апоптотических, некротических и поздних апоптотических клеток через 4 ч инкубации с *t*ВНР в присутствии свободного и наноструктурированного кверцетина и без него (рис. 2).

Как видно из данных, представленных на рис. 2, внесение в культуральную среду свободного и наноструктурированного кверцетина совместно с *t*ВНР полностью устраняет его цитотоксический эффект: соотношение нормальных, ранних апоптотических, некротических и поздних апоптотических клеток в этих экспериментах (см. рис. 2, б и в) соответствует результатам, полученным для контрольных клеток (см. рис. 1, а).

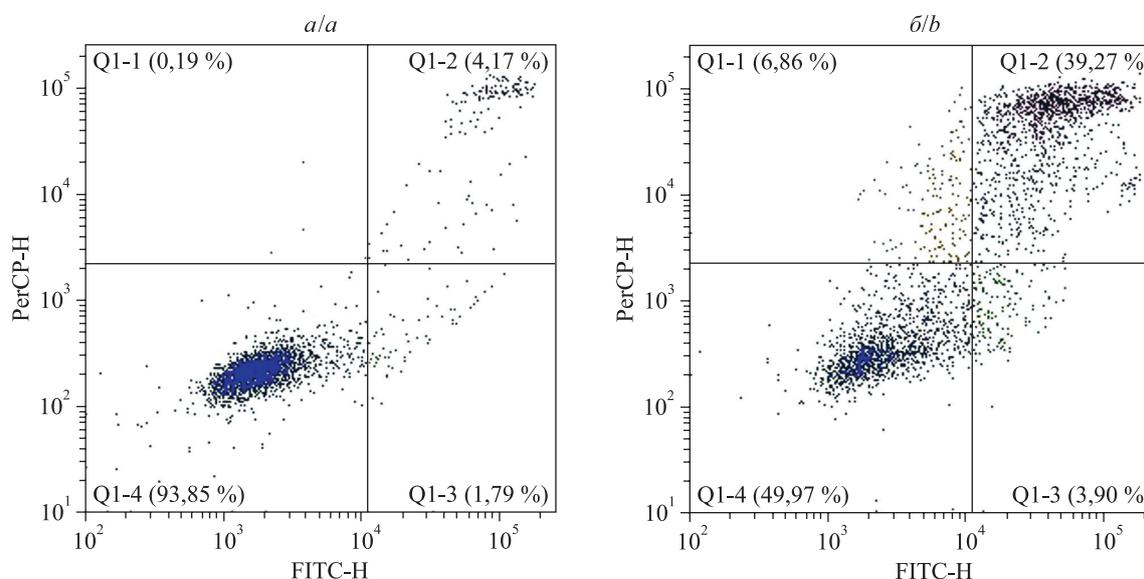


Рис. 1. Результаты оценки методом проточной цитофлуориметрии состояния контрольных клеток (а) и клеток через 4 ч инкубации с *t*ВНР в концентрации 0,75 ммоль/л (б).

Приведена интенсивность флуоресцентного сигнала 10 000 клеток (окрашивание аннексином V-FITC и PI).

Нижний левый квадрант представляет флуоресценцию нормальных клеток (аннексин V отрицательный, PI отрицательный), нижний правый квадрант – флуоресценцию ранних апоптотических клеток (аннексин V положительный, PI отрицательный), верхний правый квадрант – флуоресценцию поздних апоптотических клеток (аннексин V положительный, PI положительный), верхний левый квадрант – флуоресценцию некротических клеток (аннексин V отрицательный, PI положительный)

Fig. 1. Results of flow cytometry analysis of the state of control cells (a)

and cells after 4 h of incubation with *t*BHP at a concentration of 0.75 mmol/L (b).

Fluorescent signal intensity of 10 000 cells is shown (annexin V-FITC and PI staining).

The lower left quadrant represents the fluorescence of normal cells (annexin V negative, PI negative), the lower right quadrant – the fluorescence of early apoptotic cells (annexin V positive, PI negative), the upper right quadrant – the fluorescence of late apoptotic cells (annexin V positive, PI positive), the upper left quadrant – the fluorescence of necrotic cells (annexin V negative, PI positive)

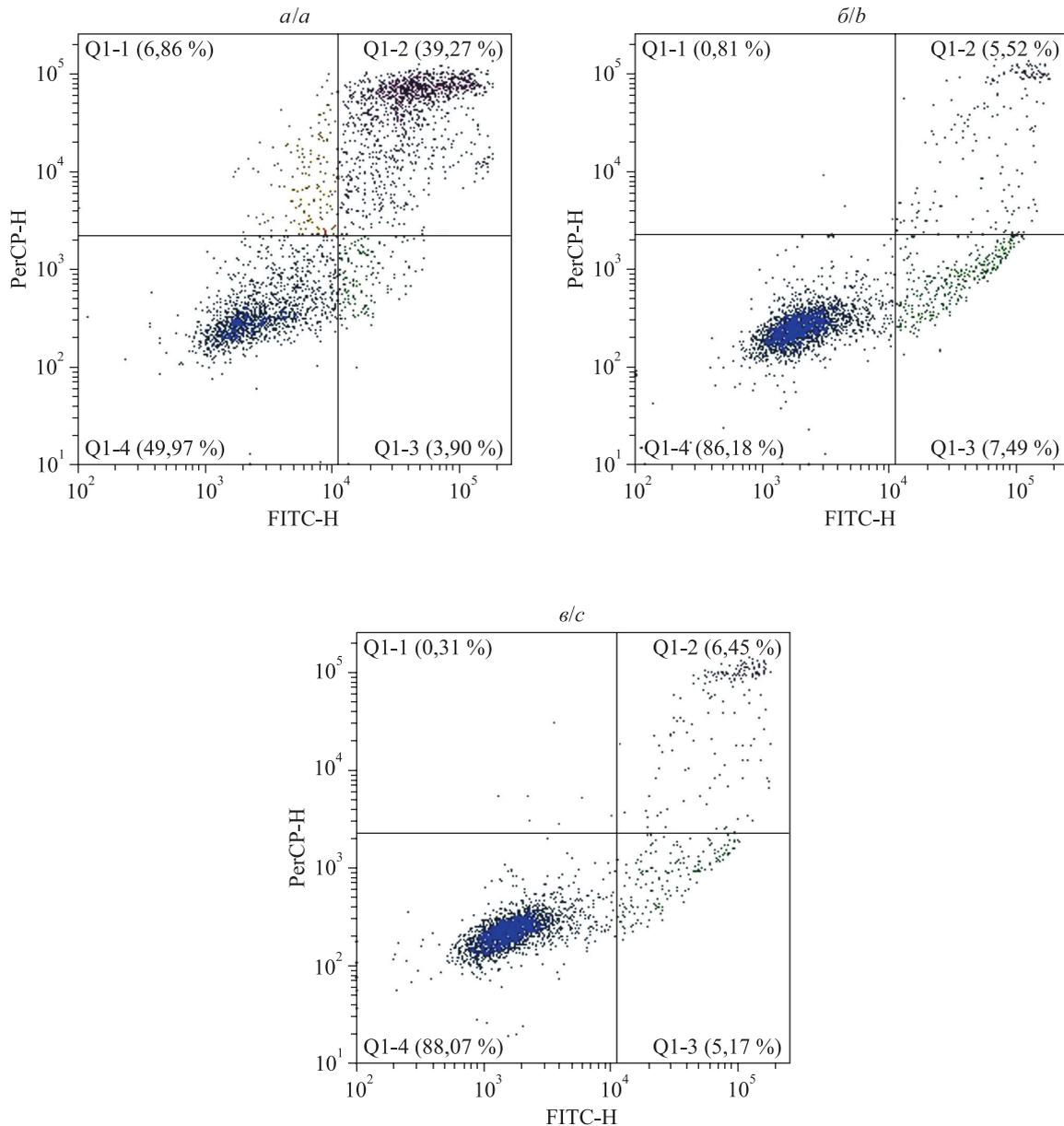


Рис. 2. Результаты оценки методом проточной цитофлуориметрии состояния клеток через 4 ч инкубации с *t*BHP в концентрации 0,75 ммоль/л без исследуемых препаратов (а), в присутствии 50 мкмоль/л свободного кверцетина (б) и 50 мкмоль/л наноструктурированного кверцетина (в). Приведена интенсивность флуоресцентного сигнала 10 000 клеток (окрашивание аннексином V-FITC и PI).

Нижний левый квадрант представляет флуоресценцию нормальных клеток (аннексин V отрицательный, PI отрицательный), нижний правый квадрант – флуоресценцию ранних апоптотических клеток (аннексин V положительный, PI отрицательный), верхний правый квадрант – флуоресценцию поздних апоптотических клеток (аннексин V положительный, PI положительный), верхний левый квадрант – флуоресценцию некротических клеток (аннексин V отрицательный, PI положительный)

Fig. 2. Results of flow cytometry analysis of cell state

after 4 h of incubation with *t*BHP at a concentration of 0.75 mmol/L without the studied drugs (a), in the presence of 50 μ mol/L free quercetin (b) and 50 μ mol/L nanostructured quercetin (c).

Fluorescent signal intensity of 10 000 cells is shown (annexin V-FITC and PI staining). The lower left quadrant represents the fluorescence of normal cells (annexin V negative, PI negative), the lower right quadrant – the fluorescence of early apoptotic cells (annexin V positive, PI negative), the upper right quadrant – the fluorescence of late apoptotic cells (annexin V positive, PI positive), the upper left quadrant – the fluorescence of necrotic cells (annexin V negative, PI positive)

Влияние свободного и наноструктурированного кверцетина, а также НЧ, не содержащих кверцетин, на *t*ВНР-индуцированное нарушение целостности клеток через 24 ч воздействия *t*ВНР оценивали по выходу из клеток цитоплазматического фермента ЛДГ (табл. 3).

Таблица 3

Количество неповрежденных кератиноцитов,
 оцениваемое по выходу из клеток фермента ЛДГ, через 24 ч инкубации с *t*ВНР
 в присутствии исследуемых препаратов и без них

Table 3

The number of intact keratinocytes,
 assessed by the release of the enzyme lactate dehydrogenase from the cells,
 after 24 h of incubation with *t*ВНР in the presence of the studied drugs and without them

Экспериментальные условия	Количество неповрежденных кератиноцитов, % к контролю
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) без кверцетина	13,0 ± 2,1*
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и кверцетином (25 мкмоль/л)	91,6 ± 3,4**
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и кверцетином (50 мкмоль/л)	97,2 ± 0,6**
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) без Кв-НЧ	13,0 ± 2,1*
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и Кв-НЧ (25 мкмоль/л)	81,4 ± 4,5**, ***
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и Кв-НЧ (50 мкмоль/л)	82,8 ± 1,8**, ***
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) без НЧ	10,0 ± 4,1*
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и НЧ (25 мкмоль/л)	11,6 ± 4,1*
Инкубация с <i>t</i> ВНР (0,5 ммоль/л) и НЧ (50 мкмоль/л)	12,2 ± 3,1*

* $p < 0,000\ 001$ относительно контроля.

** $p < 0,000\ 1$ относительно инкубации с *t*ВНР без исследуемых препаратов.

*** $p < 0,01$ относительно инкубации с *t*ВНР и кверцетином.

Установлено, что *t*ВНР в концентрации 0,5 ммоль/л оказывает выраженное цитотоксическое действие на кератиноциты линии HaCaT: через 24 ч инкубации с *t*ВНР количество неповрежденных клеток снижается до 13 %. Однако внесение в культуральную среду совместно с *t*ВНР свободного кверцетина в концентрации 25 мкмоль/л способствовало тому, что количество неповрежденных клеток через 24 ч инкубации с *t*ВНР составляло более 90 %, а внесение в культуральную среду совместно с *t*ВНР свободного кверцетина в концентрации 50 мкмоль/л полностью устраняло цитотоксическое действие *t*ВНР. Выраженную цитопротекторную активность проявлял и наноструктурированный кверцетин в концентрации 25 и 50 мкмоль/л (см. табл. 3).

Сохранение структурной целостности клеток при инкубации с *t*ВНР в течение 24 ч в присутствии свободного и наноструктурированного кверцетина подтверждают результаты теста на живые и мертвые клетки. Тест основан на способности акридинового оранжевого проникать в живые клетки и окрашивать цитоплазму и ядро в зеленый цвет, тогда как этидиумбромид проникает только в клетки, потерявшие целостность мембраны, окрашивая их ядра в оранжевый или красный цвет. Как видно из представленных микрофотографий (рис. 3), клетки после инкубации с *t*ВНР демонстрируют интенсивную красную флуоресценцию за счет окрашивания ядер этидиумбромидом (см. рис. 3, б). В том случае, когда инкубация с *t*ВНР проводилась в присутствии свободного (см. рис. 3, в) или наноструктурированного (см. рис. 3, г) кверцетина, клетки окрашивались только акридиновым оранжевым, сохраняя зеленую флуоресценцию, характерную для неповрежденных клеток (см. рис. 3, а).

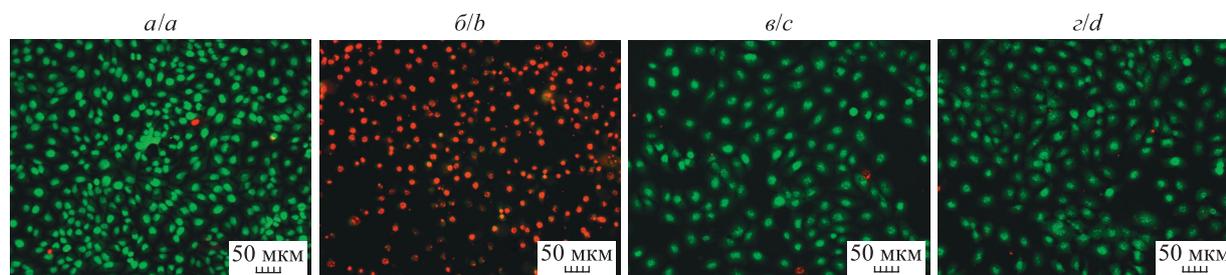


Рис. 3. Репрезентативные флуоресцентные микрофотографии кератиноцитов, окрашенных смесью акридинового оранжевого и этидиумбромидом: *a* – контрольные клетки; *б* – клетки через 24 ч инкубации с *t*ВНР (0,5 ммоль/л); *в* – клетки через 24 ч инкубации с *t*ВНР (0,5 ммоль/л) в присутствии 50 мкмоль/л свободного кверцетина; *з* – клетки через 24 ч инкубации с *t*ВНР (0,5 ммоль/л) в присутствии 50 мкмоль/л наноструктурированного кверцетина

Fig. 3. Representative fluorescent microphotographs of keratinocytes stained with the acridine orange and ethidium bromide system: *a* – control cells; *b* – cells after 24 h of incubation with *t*BHP (0.5 mmol/L); *c* – cells after 24 h of incubation with *t*BHP (0.5 mmol/L) in the presence of 50 μmol/L free quercetin; *d* – cells after 24 h of incubation with *t*BHP (0.5 mmol/L) in the presence of 50 μmol/L nanostructured quercetin

Полученные данные свидетельствуют о том, что добавление *t*ВНР в среду инкубации приводит к ингибированию клеточного метаболизма, повреждению кератиноцитов и снижению количества жизнеспособных клеток в результате апоптоза. При этом апоптотические клетки могут подвергаться вторичному некрозу, характеризующемуся повреждением плазматической мембраны и высвобождением внутриклеточных молекул во внеклеточное пространство. Показано, что как нативный кверцетин, так и кверцетин, инкапсулированный в желатиновые НЧ, эффективно защищают клетки от гибели, вызванной *t*ВНР. Учитывая выраженные антиоксидантные свойства кверцетина [2], можно предположить, что исследованные препараты предотвращают повреждение митохондрий, являющееся основным триггером апоптоза при окислительном стрессе [13].

Заключение

Целью данного исследования было оценить, как инкапсуляция в желатиновые НЧ влияет на антиоксидантную активность кверцетина. В работе использовалась клеточная модель *t*ВНР-индуцированного окислительного стресса, позволяющая изучать защитные свойства различных биологически активных веществ в условиях дисбаланса между свободными радикалами и антиоксидантами. Полученные результаты демонстрируют, что экзогенные антиоксиданты, в частности кверцетин, способны предотвращать оксидативное повреждение и гибель клеток, вызываемые *t*ВНР. Инкапсуляция в желатиновые НЧ позволяет использовать кверцетин в виде водных суспензий без снижения его антиоксидантного потенциала и цитопротекторной активности. Таким образом, покрытие кверцетина желатиновой оболочкой повышает биодоступность данного флавоноида и не препятствует реализации его биологической активности.

Библиографические ссылки

1. Wang X, Xu S, Liu Q, Ye X, He H, Zhang X, et al. Research progress on the application of nanomaterials in the diagnosis and treatment of venous thromboembolism. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2025;66:102820. DOI: 10.1016/j.nano.2025.102820.
2. Костюк ВА, Потапович АИ. *Биорадикалы и биоантиоксиданты*. Минск: БГУ; 2004. 174 с.
3. Kostyuk VA, Potapovich AI, Suhan TO, de Luca C, Korkina LG. Antioxidant and signal modulation properties of plant polyphenols in controlling vascular inflammation. *European Journal of Pharmacology*. 2011;658(2–3):248–256. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.02.022.
4. Sharma S, Thukral R, Singla LD, Singla N, Choudhury D. Quercetin-loaded solid lipid nanoparticles for enhanced anti-helminthic activity. *International Journal of Pharmaceutics*. 2025;672:125308. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2025.125308.
5. Tomou E-M, Papakyriakopoulou P, Saitani E-M, Valsami G, Pippa N, Skaltsa H. Recent advances in nanoformulations for quercetin delivery. *Pharmaceutics*. 2023;15(6):1656. DOI: 10.3390/pharmaceutics15061656.
6. Shawky S, Makled S, Awaad A, Boraie N. Quercetin loaded cationic solid lipid nanoparticles in a mucoadhesive *in situ* gel – a novel intravesical therapy tackling bladder cancer. *Pharmaceutics*. 2022;14(11):2527. DOI: 10.3390/pharmaceutics14112527.
7. Sahu T, Ratre YK, Chauhan S, Bhaskar LVKS, Nair MP, Verma HK. Nanotechnology based drug delivery system: current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;63:102487. DOI: 10.1016/j.jddst.2021.102487.

8. Потапович АИ, Сухан ТО, Шутова ТГ, Костюк ВА. Рецептор-опосредованный эндоцитоз – важный путь поступления желатиновых наночастиц в клетки. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2020;1:3–10. DOI: 10.33581/2521-1722-2020-1-3-10.

9. Coester CJ, Langer K, Von Briesen H, Kreuter J. Gelatin nanoparticles by two step desolvation: a new preparation method, surface modifications and cell uptake. *Journal of Microencapsulation*. 2000;17(2):187–193. DOI: 10.1080/026520400288427.

10. Tyurin VA, Tyurina YY, Borisenko GG, Sokolova TV, Ritov VB, Quinn PJ, et al. Oxidative stress following traumatic brain injury in rats: quantitation of biomarkers and detection of free radical intermediates. *Journal of Neurochemistry*. 2000;75(5):2178–2189. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2000.0752178.x.

11. Zhao W, Feng H, Sun W, Liu K, Lu J-J, Chen X. *tert*-Butyl hydroperoxide (*t*-BHP) induced apoptosis and necroptosis in endothelial cells: roles of NOX4 and mitochondrion. *Redox Biology*. 2017;11:524–534. DOI: 10.1016/j.redox.2016.12.036.

12. Yang H-C, Yu H, Ma T-H, Tjong W-Y, Stern A, Chiu DTY. *tert*-Butyl hydroperoxide (*t*BHP)-induced lipid peroxidation and embryonic defects resemble glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in *C. elegans*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(22):8688. DOI: 10.3390/ijms21228688.

13. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*. 2015;4:180–183. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.002.

Получена 30.05.2025 / исправлена 05.06.2025 / принята 05.06.2025.

Received 30.05.2025 / revised 05.06.2025 / accepted 05.06.2025.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ РОСТОВЫХ ПАРАМЕТРОВ И АРХИТЕКТУРЫ ГЛАВНОГО КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕДИ И ЖЕЛЕЗА

М. И. АЛЕКСЕЕВА¹⁾, А. О. МУРАВИЦКАЯ¹⁾,
В. С. МАЦКЕВИЧ¹⁾, В. В. САМОХИНА¹⁾, В. В. ТАРИМА¹⁾,
П. О. МУЧИНСКАЯ¹⁾, Н. Л. ПШИБЫТКО¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК²⁾

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

²⁾Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Наночастицы, содержащие оксиды меди и железа, все более активно используются в сельском хозяйстве в качестве наноудобрений. Несмотря на это, остается нерешенным вопрос об их токсичности для растительного организма. Для ответа на него необходимо проводить исследования на модельных объектах в стандартизированных ростовых условиях. В настоящей работе представлены результаты экспериментов по влиянию наночастиц оксидов меди (далее – CuO-НЧ) и железа (далее – Fe₃O₄-НЧ) на ростовые параметры и архитектуру главного корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. в вертикальной культуре *in vitro*. Обработка CuO-НЧ в концентрациях 10 и 30 мг/л и Fe₃O₄-НЧ в концентрациях 30; 100 и 300 мг/л стимулировала рост главного корня *A. thaliana*, в то время как нанесение CuO-НЧ в концентрациях свыше 100 мг/л и Fe₃O₄-НЧ в концентрациях свыше 300 мг/л вызвало ингибирование данного процесса. Обнаружено, что CuO-НЧ имеют более низкую токсичность, чем ионная форма Cu²⁺ (CuCl₂), введенная в среду культивирования в таких же концентрациях, как и названные наночастицы. Обработка изучаемыми наночастицами привела к модификации архитектуры главного корня: диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса, длина зоны роста растяжением этого органа и его диаметр в зоне деления уменьшились после нанесения CuO-НЧ и увеличились после обработки Fe₃O₄-НЧ. Сделан вывод о том,

Образец цитирования:

Алексеева МИ, Муравицкая АО, Мацкевич ВС, Самохина ВВ, Тарима ВВ, Мучинская ПО, Пшибытко НЛ, Демидчик ВВ. Анализ изменения ростовых параметров и архитектуры главного корня *Arabidopsis thaliana* при воздействии наночастиц оксидов меди и железа. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:25–35.
EDN: JEAXZC

For citation:

Aliakseyeva MI, Muravitskaya AO, Mackievic VS, Samokhina VV, Tarima VV, Muchinskaya PA, Pshybytko NL, Demidchik VV. Analysis of changes in growth parameters and primary root architecture of *Arabidopsis thaliana* under the influence of copper and iron oxide nanoparticles. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2:25–35. Russian.
EDN: JEAXZC

Авторы:

Мария Игоревна Алексеева – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Анна Олеговна Муравицкая – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

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

Вероника Валерьевна Самохина – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Вероника Витальевна Тарима – студентка биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Самохина.

Полина Олеговна Мучинская – студентка биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Самохина.

Наталья Лёггиновна Пшибытко – кандидат биологических наук, доцент; заместитель декана по научной работе биологического факультета.

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси, профессор; главный научный сотрудник лаборатории роста и развития растений.

Authors:

Maryia I. Aliakseyeva, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. aliakseyevami@bsu.by

Anna O. Muravitskaya, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. muravitskayaao@bsu.by

Viera S. Mackievic, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. mackievic@bsu.by

Veranika V. Samokhina, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. samokhina@bsu.by

Veranika V. Tarima, student at the faculty of biology.

Palina A. Muchinskaya, student at the faculty of biology.

Natalia L. Pshybytko, PhD (biology), docent; deputy dean for scientific work, faculty of biology. pshybytko@bsu.by

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, full professor; chief researcher at the laboratory of plant growth and development. demidchik@botany.by

что CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ, используемые для производства наноудобрений, обладают относительно низкой токсичностью, при этом Fe₃O₄-НЧ проявляют выраженное корнестимулирующее действие при обработке в широком диапазоне концентраций.

Ключевые слова: наночастицы оксида меди; наночастицы оксида железа; *Arabidopsis thaliana*; рост и развитие растений; главный корень растения; наноудобрения.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проектов Б25КИ-086 и Б24-060-1, а также задания 2.04.5 «Установление закономерностей токсического воздействия металлсодержащих нанополлютантов атмосферы на физиологические процессы у высших растений» государственной программы научных исследований «Природные ресурсы и окружающая среда» на 2021–2025 гг. (№ гос. регистрации 20211705).

ANALYSIS OF CHANGES IN GROWTH PARAMETERS AND PRIMARY ROOT ARCHITECTURE OF *ARABIDOPSIS THALIANA* UNDER THE INFLUENCE OF COPPER AND IRON OXIDE NANOPARTICLES

M. I. ALIAKSEYEVA^a, A. O. MURAVITSKAYA^a,
V. S. MACKIEVIC^a, V. V. SAMOKHINA^a, V. V. TARIMA^a,
P. A. MUCHINSKAYA^a, N. L. PSHYBYTKO^a, V. V. DEMIDCHIK^b

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

^bV. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: M. I. Aliakseyeva (aliakseyevami@bsu.by)

Abstract. Nanoparticles containing copper and iron oxides are increasingly used in agriculture as nanofertilisers. Despite this, the question of their toxicity for plant organism remains unresolved. To address this, it is necessary to conduct researches on model objects under standardised conditions. This paper presented the results of experiments on the effect of copper oxide nanoparticles (here and further – CuO-NPs) and iron oxide nanoparticles (here and further – Fe₃O₄-NPs) on the growth parameters and primary root architecture of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. in vertical culture *in vitro*. Treatment with CuO-NPs at concentrations of 10 and 30 mg/L and Fe₃O₄-NPs at concentrations of 30; 100 and 300 mg/L stimulated the primary root growth of *A. thaliana*, while application of CuO-NPs at concentrations above 100 mg/L and Fe₃O₄-NPs at concentrations above 300 mg/L inhibited this process. It was found that CuO-NPs exhibit lower toxicity than the ionic form Cu²⁺ (CuCl₂) introduced into the gel medium at the same concentrations as the mentioned nanoparticles. Treatment with the studied nanoparticles led to a modification of the primary root architecture: the diameter of the primary root in the mature epidermis zone, the length of the elongation zone of this organ and its diameter in the division zone decreased after the application of CuO-NPs and increased after treatment with Fe₃O₄-NPs. It was concluded that CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs used for the production of nanofertilisers exhibit relatively low toxicity, while Fe₃O₄-NPs demonstrate a strong root-stimulating effect under the treatment at a wide range of concentrations.

Keywords: iron oxide nanoparticles; copper oxide nanoparticles; *Arabidopsis thaliana*; plant growth and development; plant root; nanofertilisers.

Acknowledgements. This work was carried out with financial support from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research within the framework of projects B25KI-086 and B24-060-1, as well as assignment 2.04.5 «Establishing the patterns of toxic effects of metal-containing atmospheric nanopollutants on physiological processes in higher plants» of the state programme of scientific research «Natural resources and environment» for 2021–2025 (state registration No. 20211705).

Введение

Нанотехнология представляет собой перспективную и быстро развивающуюся отрасль знаний, достижения которой находят все большее применение в биологии и связанных с ней практических областях, таких как сельское и лесное хозяйство, медицина, пищевая промышленность, биотехнология и экология. В сфере нанотехнологий ключевым материалом (наноматериалом) являются наночастицы (НЧ). К ним относятся твердофазные объекты, один из физических размеров которых не превышает 100 нм [1]. В последние годы НЧ размером менее 10 нм называют квантовыми точками, а НЧ размером менее 2 нм – клас-

терами. НЧ обладают уникальными физико-химическими характеристиками: исключительно высоким отношением площади поверхности к объему, особыми спектральными свойствами, высокой каталитической активностью, повышенной адсорбционной емкостью, способностью легче других твердых объектов проникать через гидрофобные барьеры, например биомембраны и органические полимеры [2]. По происхождению НЧ можно разделить на природные и синтетические НЧ, по химической природе – на органические, неорганические, углеродные и композитные НЧ [3].

Наиболее значимой по применению в практических целях группой НЧ являются металлсодержащие НЧ, в том числе НЧ чистых металлов (Ag, Ti, Cu, Zn, Au и др.), оксидов металлов (CuO, ZnO, Al₂O₃, TiO₂, Fe₃O₄), а также сульфидов, теллуридов и селенидов металлов [4]. Они входят в состав около 75 % зарегистрированных коммерческих нанопродуктов [4]. Самыми используемыми в нанотехнологии металлсодержащими НЧ являются НЧ серебра, называемые наносеребром (около 20 % зарегистрированных в мире нанопродуктов) [5]. Однако в последние годы все больший интерес приобретает возможность практического применения НЧ экологически безопасных металлов (Cu, Fe, Zn, Mn и др.) [6]. Уделение значительного внимания данным наноматериалам связано с их использованием в качестве агрохимических средств, в частности наноудобрений [7].

В случае необходимости масштабного применения НЧ как удобрений важна оценка их потенциальной токсичности [8–11]. Ее выполнение возможно только на основе использования стандартизированных подходов и модельных видов, что позволит экстраполировать полученные данные на другие растительные объекты. Следует отметить, что в последние годы при помощи металлсодержащих НЧ, являющихся носителями и одновременно источниками микроэлементов, разрабатываются методы адресной доставки и контролируемого высвобождения некоторых пестицидов и регуляторов роста растений, что требует адекватного контроля их биосовместимости и токсичности [8–10].

Существует значительное количество научных работ, посвященных изучению влияния металлсодержащих НЧ на рост, развитие и физиологические процессы растений. Установлено, что некоторые НЧ могут проникать в ткани корней и побегов, активно воздействуя на организм на морфологическом, физиологическом и молекулярном уровнях [12]. Начальным этапом поступления НЧ в ткани корней является их адсорбция на ризодерме. На поглощение НЧ корнями существенно влияют такие факторы, как размер, химический состав и поверхностный заряд НЧ. Общеизвестно, что эпидермис апексов корней и корневые волоски отличаются высокой проницаемостью для различных соединений, в том числе для металлсодержащих НЧ [13]. В этих тканях происходит усиленный везикулярный перенос клеточного материала, а клеточная стенка имеет исключительно рыхлую структуру, которая, по-видимому, более проницаема для НЧ. Мембранный транспорт НЧ не осуществляется через ионные каналы и транспортеры, однако он, вероятно, может выполняться при помощи эндоцитоза и (или) прямого прохождения через липидный бислой клеточной мембраны [14].

Влияние НЧ металлов может отражаться на протекании множества внутриклеточных процессов (от восприятия сигналов клеткой до регуляции экспрессии генов на уровнях транскрипции и трансляции) [15]. Некоторые НЧ, скорее всего, способны выступать в роли первичных посредников в системах клеточной сигнализации, воздействуя на Ca²⁺- и редокс-сигнальные каскады [15]. Потенциально НЧ способны активировать сигнальные пути, участвующие в развитии реакций на стресс, недостаток элементов минерального питания и фитогормоны [14; 16]. Металлсодержащие НЧ могут функционировать как регуляторы экспрессии ряда генов (*CAT*, *POD*, *GST*, *ATPS*, *APR*, *CS*, *GCL*, *P5CS1*, *P5GS2*), отвечающих за возникновение защитных реакций на воздействие абиотических стрессоров и патогенных организмов [13; 17; 18]. В то же время в высоких дозах металлсодержащие НЧ, кроме регуляторных эффектов, вызывают токсическое действие, оказывая ингибирующее влияние на рост и развитие растений [19]. Они могут подавлять прорастание семян, фотосинтез, протекание метаболических реакций, что приводит к снижению продуктивности и пищевой ценности растений [19].

Одним из главных токсических эффектов, обусловленных высокой концентрацией металлсодержащих НЧ, является генерация избыточного количества активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительное повреждение клеточных структур, в частности карбонилирование белков и углеводов, истощение пула восстановленных тиолов, полифенолов и аскорбата [12]. Также воздействие НЧ может приводить к нарушению водного обмена, ингибированию ряда ферментов первичного метаболизма и накоплению токсических вторичных метаболитов [20–22].

Цель настоящей работы – анализ изменений ростовых процессов и параметров архитектуры главного корня высших растений при влиянии металлсодержащих НЧ. В качестве объектов исследования были использованы растения важнейшего в биологии растений модельного вида *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., а также НЧ оксидов меди (далее – CuO-НЧ) и железа (далее – Fe₃O₄-НЧ), представляющие собой перспективную и, предположительно, малотоксическую группу НЧ.

Объект и методы исследования

Проростки *A. thaliana* экотипа Columbia-0 (Col-0) выращивались в стерильных условиях в течение 5–10 сут в зависимости от схемы опыта. Стерилизация семян проводилась гипохлоритом натрия (20 % водным раствором) в течение 15 мин. Культура целых растений *A. thaliana* инициировалась и поддерживалась в чашках Петри на поверхности стерильной среды Мурасиге и Скуга (*Duchefa Biochemie*, Нидерланды), содержащей стандартную смесь макро- и микроэлементов с добавлением 1,0 % сахарозы и 0,35 % желатановой камеди Phytigel™ (*Sigma-Aldrich*, США), pH устанавливался на уровне 6,0. После посадки в чашки Петри семена стратифицировались в темноте в течение 2 сут при температуре 4 °С. Дальнейшее культивирование растений осуществлялось в ростовой камере (*Binder*, Германия) с контролируемыми условиями (световым циклом 16 ч света и 8 ч темноты при температуре 22 °С).

В рамках работы были проведены две серии экспериментов, позволившие оценить влияние CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на рост и архитектуру главного корня *A. thaliana*. В качестве тест-растворов использовались суспензии CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ (*Sigma-Aldrich*) размером 40–50 нм, супернатанты этих НЧ и CuCl₂ в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л, которые были приготовлены на основе низкосолевого рабочего раствора, содержащего 0,1 ммоль/л CaCl₂ и 0,1 ммоль/л KCl (уровень pH 6,0 фиксировался с помощью буферов Tris и MES (1 и 2 ммоль/л соответственно)). В первом случае производилась однократная обработка апексов корней пятидневных проростков путем нанесения на них тест-раствора (5 мкл на один корень). Во втором случае осуществлялась пятикратная обработка апексов корней пятидневных проростков: тест-раствор в том же количестве наносили на корни раз в сутки на протяжении пяти дней. Контрольная группа растений обрабатывалась стерильным низкосолевым рабочим раствором таким же образом, как и растения, на которые наносились НЧ. Регистрация ростовых и морфометрических параметров корней проводилась на пятые сутки. Определялись и количественно описывались следующие параметры: диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса, длина зоны роста растяжением главного корня и диаметр главного корня в зоне деления. Измерения проводились с использованием программы *ImageJ* (США). Микроскопия апексов корней проростков *A. thaliana* осуществлялась с помощью инвертированного светового микроскопа Nikon Eclipse TS100F (*Nikon*, США).

Для обработки полученных результатов применялись стандартные методы вариационной статистики. Основными статистическими характеристиками послужили средняя арифметическая величина (\bar{X}), среднее квадратичное отклонение (σ) и ошибка средней величины (Sx). Достоверность различий по отношению к контролю рассчитывалась при помощи теста ANOVA.

Результаты и их обсуждение

В ходе выполнения работы были получены данные о влиянии CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л на рост и архитектуру главного корня *A. thaliana* после однократной (рис. 1 и 2) и пятикратной (рис. 3 и 4) обработки.

Однократная обработка 10 и 30 мг/л CuO-НЧ оказала стимулирующее действие на рост главного корня (см. рис. 1, а и б). Максимальное действие CuO-НЧ было зарегистрировано после нанесения этих НЧ в концентрации 10 мг/л: на пятые сутки прирост главного корня был больше на 25–30 %, чем прирост главного корня у контрольных образцов. Достоверные различия между контрольной группой растений и растениями, обработанными CuO-НЧ в более высоких концентрациях, не были обнаружены, что, вероятно, связано с развитием эффектов, стимулирующих рост, и одновременно токсических эффектов.

Воздействие ионной формы меди (Cu²⁺) в концентрациях 30; 100; 300 и 1000 мг/л привело к угнетению роста главного корня (см. рис. 1, в). Полученные данные коррелируют с информацией из источников [12; 23–25], согласно которым довольно небольшое превышение порогового значения концентрации такого важного микроэлемента, как медь, вызывает в растениях резкое развитие токсичности, приводящее к торможению роста клеток и органов. В то же время количество выделившихся из CuO-НЧ ионов Cu²⁺, вероятно, не превышает порогового значения и не вызывает токсических реакций. Ранее нами было показано, что по токсичности НЧ чистой меди сопоставимы с ионной формой меди [26]. В этой связи низкая токсичность CuO-НЧ наряду с обнаруженным эффектом стимуляции роста может представлять большой интерес для создания минеральных нанодобровений.

Эффект стимуляции удлинения главного корня также вызвали Fe₃O₄-НЧ. Он проявился после однократной обработки этими НЧ в концентрациях 10; 30; 100 и 300 мг/л, что привело к 20 % приросту (см. рис. 1, б). Рост главного корня также ускорился после однократного нанесения супернатанта Fe₃O₄-НЧ в любой концентрации, что свидетельствует о появлении пула водорастворимых, стимулирующих рост факторов при суспензировании Fe₃O₄-НЧ (см. рис. 1, в). Так, при воздействии данного супернатанта в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л произошло удлинение главного корня на 40; 24; 28; 33 и 27 % соответственно.

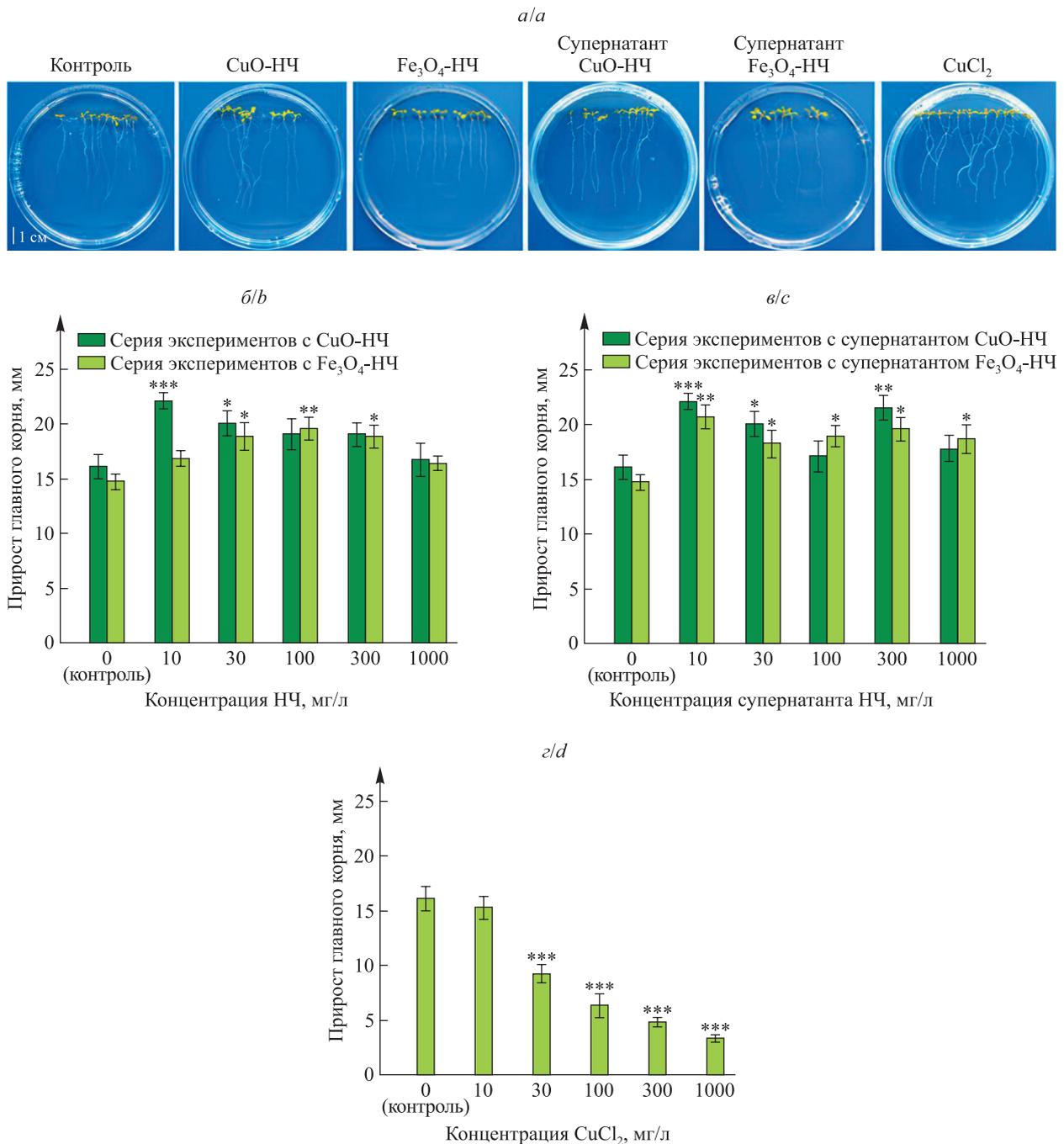


Рис. 1. Влияние однократной обработки CuO-НЧ, Fe₃O₄-НЧ и CuCl₂ на рост главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*:

a – внешний вид контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ, Fe₃O₄-НЧ, их супернатантами и CuCl₂ в концентрации 10 мг/л, на пятые сутки; *b* – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; *c* – прирост главного корня на пятые сутки после обработки супернатантами CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; *d* – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuCl₂ в различных концентрациях.

Данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 25-30$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 1. The effect of single treatment with copper oxide nanoparticles (here and further – CuO-NPs), iron oxide nanoparticles (here and further – Fe₃O₄-NPs) and CuCl₂ on the primary root growth of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*:

a – appearance of control samples and plants treated with CuO-NPs, Fe₃O₄-NPs, their supernatants and CuCl₂ at a concentration of 10 mg/L on the fifth day; *b* – primary root growth on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; *c* – primary root growth on the fifth day after treatment with supernatants of CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; *d* – primary root growth on the fifth day after treatment with CuCl₂ at various concentrations. Data are presented as $\bar{X} \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 25-30$.

Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively)

Однократная обработка CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ повлияла на изменение архитектуры главного корня *A. thaliana*, однако чувствительность разных зон корня по отношению к одним и тем же концентрациям НЧ отличалась (см. рис. 2). Воздействие CuO-НЧ в концентрациях 100; 300 и 1000 мг/л проявилось в уменьшении диаметра главного корня в зоне зрелого эпидермиса на 15; 17 и 20 % соответственно (см. рис. 2, б). Диаметр главного корня в зоне деления на уровне клеток ниши (меристем покоящегося центра) уменьшился после нанесения CuO-НЧ в концентрациях 30; 100; 300 и 1000 мг/л на 18; 19; 19 и 22 % соответственно (см. рис. 2, з). Зона роста растяжением главного корня оказалась невосприимчивой к однократной обработке CuO-НЧ: статистически достоверные различия между длинами данной зоны у контрольной группы растений и растений, на которые наносились НЧ, не были обнаружены (см. рис. 2, в).

После однократной обработки растений Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса увеличился (до 23 % по сравнению с данным параметром у контрольных образцов), что свидетельствует о высокой отзывчивости этой зоны на названные НЧ (см. рис. 2, б). Зона роста растяжением главного корня и его диаметр в зоне деления увеличились в ответ на обработку образцов Fe₃O₄-НЧ в концентрациях 100; 300 и 1000 мг/л (см. рис. 2, в и з).

Пятикратная обработка CuO-НЧ в концентрации 10 мг/л стимулировала рост главного корня *A. thaliana* (см. рис. 3, а и б). Аналогичный результат был получен после нанесения CuCl₂ в концентрации 10 мг/л (см. рис. 3, з). Более высокие концентрации либо не повлияли на рост главного корня (30; 100; 300 и 1000 мг/л CuO-НЧ, 30 мг/л CuCl₂), либо приводили к угнетению роста (100; 300 и 1000 мг/л CuCl₂). Нанесение супернатанта CuO-НЧ в концентрациях 10 и 30 мг/л ускорило рост главного корня (см. рис. 3, в). Статистически значимые различия между контрольной группой проростков и проростками, на которые наносился этот супернатант в других концентрациях, не были выявлены. Пятикратная обработка Fe₃O₄-НЧ вызвала эффект, похожий на эффект после однократной обработки этими НЧ (см. рис. 1, б, и рис. 3, б).

При анализе влияния пятикратной обработки CuO-НЧ на архитектуру главного корня *A. thaliana* было обнаружено, что нанесение этих НЧ в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л привело к уменьшению диаметра главного корня в зоне зрелого эпидермиса (см. рис. 4, б). Уменьшение длины зоны роста растяжением главного корня на 20; 21 и 24 % наблюдалось после воздействия 100; 300 и 1000 мг/л CuO-НЧ соответственно (см. рис. 4, в). Зона деления проявила меньшую чувствительность к CuO-НЧ: уменьшение диаметра главного корня в этой зоне было установлено после нанесения названных НЧ в концентрации 1000 мг/л (см. рис. 4, з).

Достоверные различия между такими параметрами, как диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса и длина зоны роста растяжением главного корня, у контрольной группы растений и растений, пятикратно обработанных Fe₃O₄-НЧ, не были обнаружены (см. рис. 4, б и в). В то же время однократное нанесение этих НЧ, особенно в случае с высокими концентрациями (100; 300 и 1000 мг/л), привело к изменению данных параметров (см. рис. 2, б и в). Обе серии экспериментов, предполагающие обработку Fe₃O₄-НЧ, показали проявление противоположного действия на диаметр главного корня в зоне деления: после однократной обработки этот параметр увеличился, а после пятикратной обработки произошло его уменьшение. Полученные результаты могут свидетельствовать как о постепенном снижении чувствительности главного корня к Fe₃O₄-НЧ, так и о возрастании токсического эффекта по мере накопления этих НЧ в тканях растений, подавлении положительного действия на ростовые процессы.

Негативное влияние CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на рост главного корня *A. thaliana*, проявившееся после обработки этими НЧ в высоких концентрациях, может быть связано с высвобождением ионов меди и железа в среду культивирования. Многие лабораторные исследования демонстрируют дозозависимую фитотоксичность CuO-НЧ [12; 27–29]. Укорочение корней после воздействия НЧ отмечалось для ряда растений при их выращивании в гидропонике, песке и почве [27]. Как указывалось выше, медь вызывает острую токсическую реакцию в растениях после ее применения в концентрациях, превышающих пороговое значение [28; 29]. В работах некоторых авторов показано, что обработка CuO-НЧ способна усиливать генерацию АФК и развитие окислительного стресса, приводя к окислительной дисфункции биомолекул [17; 23]. Также имеются данные о том, что эти НЧ могут быть токсическими для ряда растительных систем уже в концентрации 0,2 мг/л [27]. Согласно исследованиям [30; 31] в ответ на воздействие CuO-НЧ может наблюдаться резкое увеличение концентрации антиоксидантов, что указывает на активацию защитных механизмов от избытка АФК и развитие окислительного стресса.

Влияние Fe₃O₄-НЧ на рост и развитие растений было изучено в работах [32–34] на примере широкого диапазона модельных объектов. Железо является основным микроэлементом для высших растений, на получение которого из почвы они могут затрачивать до 50–60 % всей метаболической энергии [27; 35; 36]. Применение Fe₃O₄-НЧ в концентрации 10–40 мг/л способно стимулировать рост высших растений, как показано в исследовании [32] на примере риса, огурцов и пшеницы. Аналогичные результаты (усиленный рост, развитие корней и побегов) были получены на *A. thaliana* при размягчении клеточной стенки [37]. Некоторые исследователи связывают стимулирующий эффект от Fe₃O₄-НЧ с легкостью их поглощения и транспорта в клетках корня [34; 38]. Полученные в настоящей работе данные демонстрируют, что обработка Fe₃O₄-НЧ в довольно высоких концентрациях (100 и 300 мг/л) не вызывает токсического эффекта, данные НЧ могут быть использованы в качестве нанодобровений для стимуляции роста высших растений.

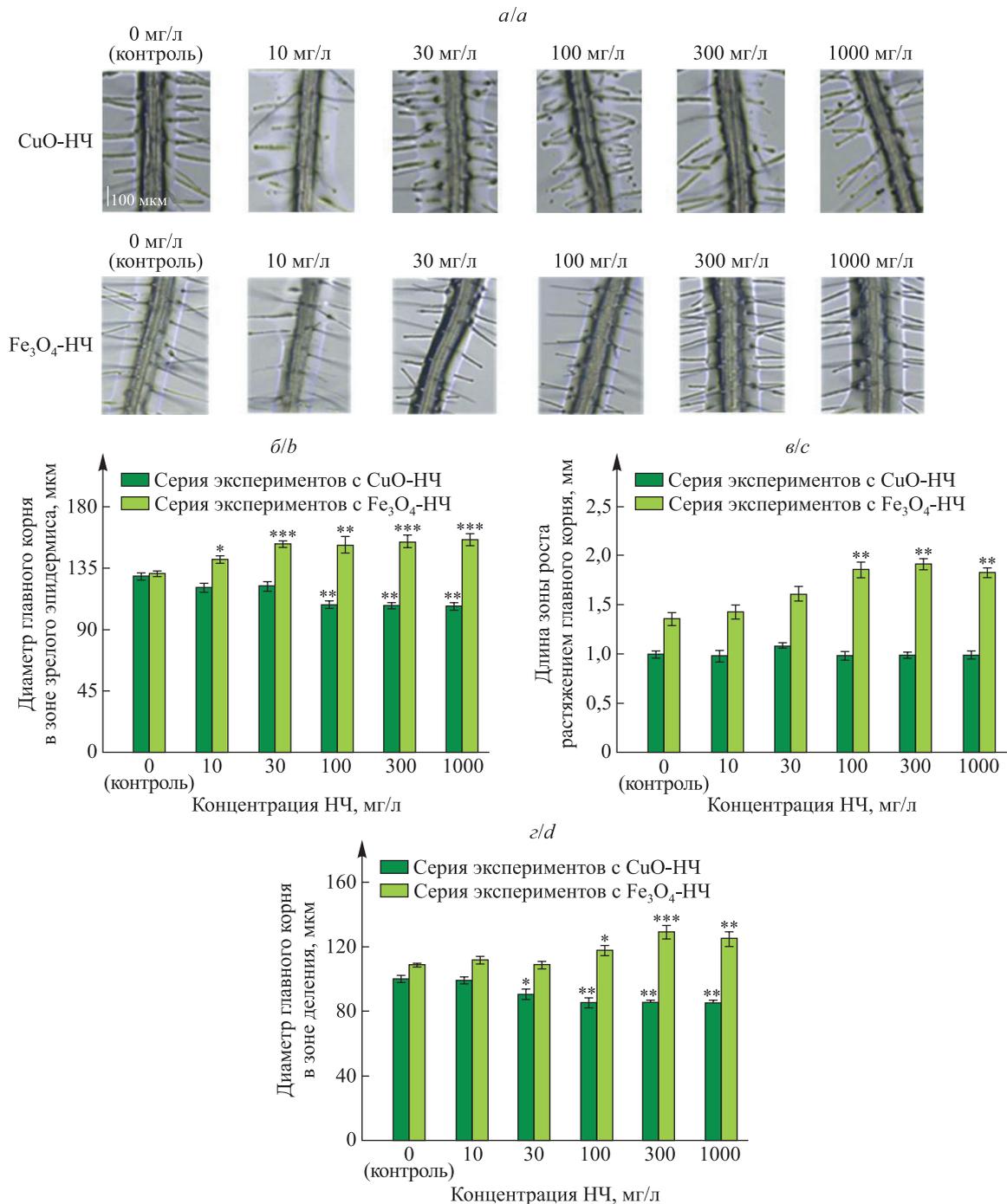


Рис. 2. Влияние однократной обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на архитектуру главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*: а – микрофотографии главного корня в зоне зрелого эпидермиса у контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях, на пятые сутки (увеличение ×100); б – диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; в – длина зоны роста растяжением главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; г – диаметр главного корня в зоне деления на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях. Данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 10-15$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 2. The effect of single treatment with copper oxide nanoparticles CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs on the primary root architecture of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*: а – microphotographs of the primary root in the mature epidermis zone of control samples and plants treated with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations on the fifth day (magnification ×100); б – diameter of the primary root in the mature epidermis zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; в – length of the elongation zone of the primary root on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; г – diameter of the primary root in the division zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations. Data are presented as $\bar{X} \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 10-15$. Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively)

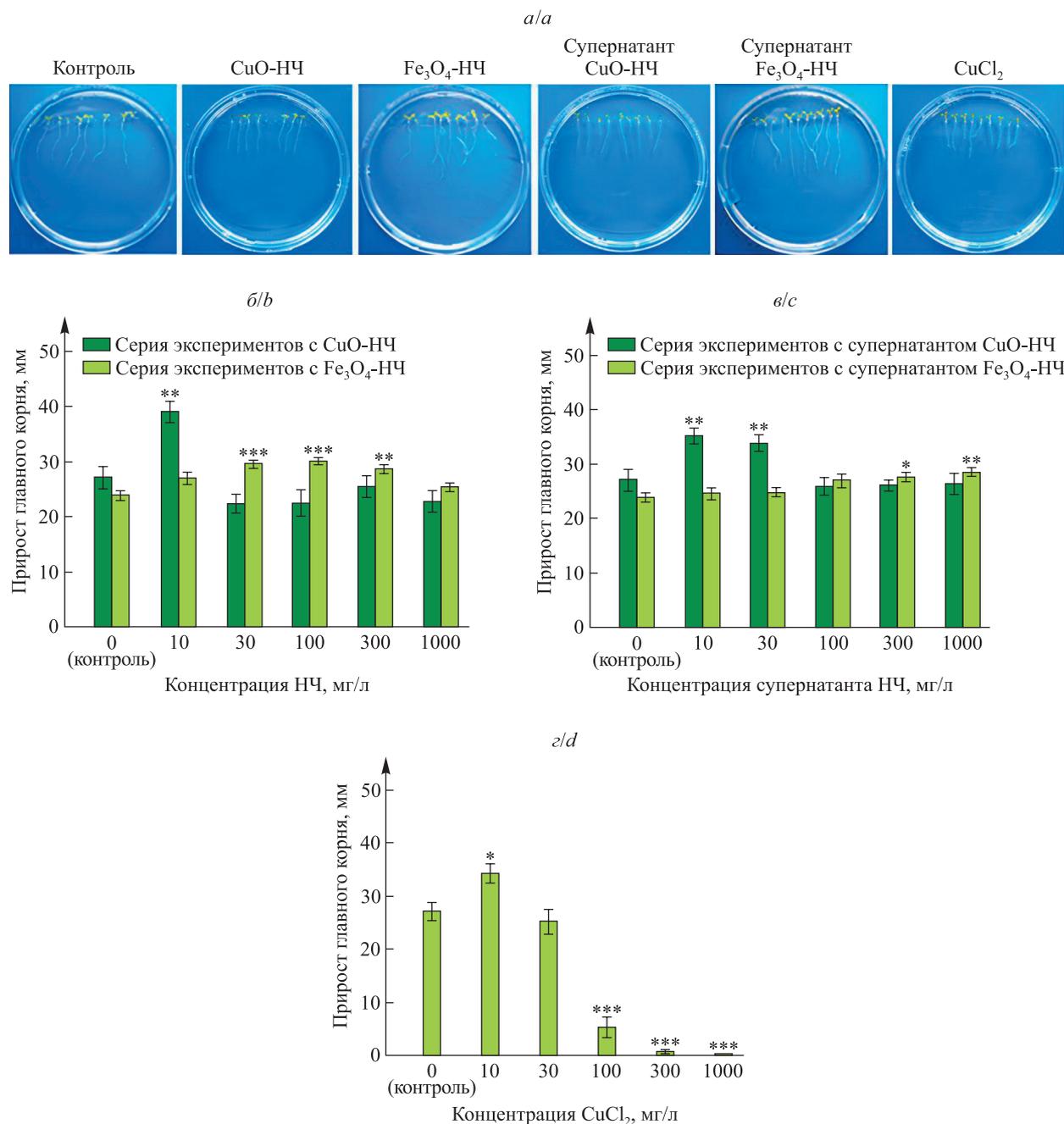


Рис. 3. Влияние пятикратной обработки CuO-НЧ, Fe₃O₄-НЧ и CuCl₂ на рост главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*:
 а – внешний вид контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ, Fe₃O₄-НЧ, их супернатантами и CuCl₂ в концентрации 10 мг/л, на пятые сутки; б – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; в – прирост главного корня на пятые сутки после обработки супернатантами CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; г – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuCl₂ в различных концентрациях.
 Данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 25-30$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 3. The effect of fivefold treatment with copper oxide nanoparticles CuO-NPs, Fe₃O₄-NPs and CuCl₂ on the primary root growth of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*:
 а – appearance of control samples and plants treated with CuO-NPs, Fe₃O₄-NPs, their supernatants and CuCl₂ at a concentration of 10 mg/L on the fifth day; б – primary root growth on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; в – primary root growth on the fifth day after treatment with supernatants of CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; г – primary root growth on the fifth day after treatment with CuCl₂ at various concentrations.
 Data are presented as $\bar{X} \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 25-30$. Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively)

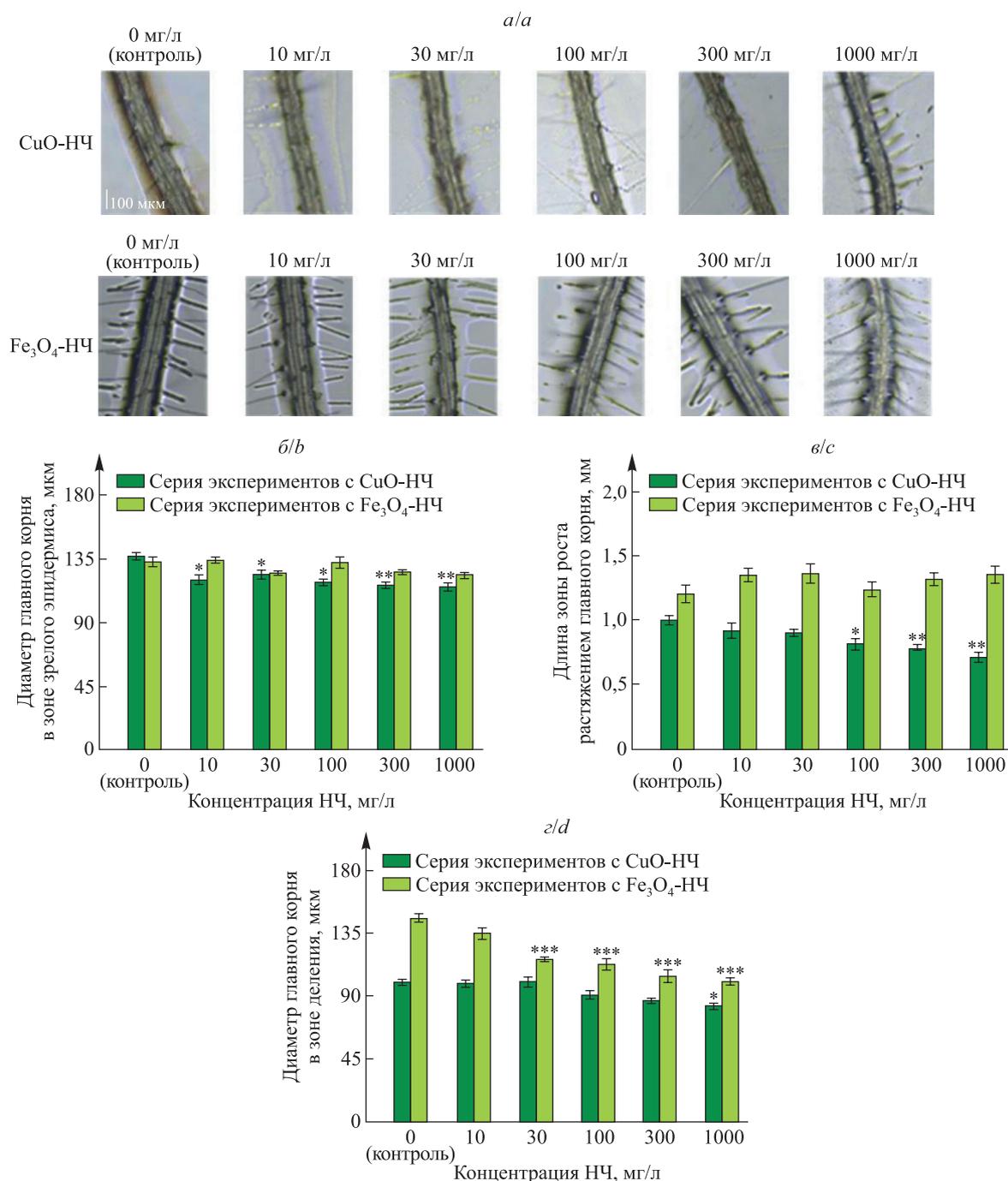


Рис. 4. Влияние пятикратной обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на архитектуру главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*: а – микрофотографии главного корня в зоне зрелого эпидермиса у контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях, на пятые сутки (увеличение ×100); б – диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; в – длина зоны роста растяжением главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; г – диаметр главного корня в зоне деления на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях. Данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 10-15$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 4. The effect of fivefold treatment with copper oxide nanoparticles CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs on the primary root architecture of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*: а – microphotographs of the primary root in the mature epidermis zone of control samples and plants treated with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations on the fifth day (magnification ×100); б – diameter of the primary root in the mature epidermis zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; в – length of the elongation zone of the primary root on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; г – diameter of the primary root in the division zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations. Data are presented as $\bar{X} \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 10-15$. Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively)

Заклучение

Проанализирована модификация роста и архитектуры главного корня *A. thaliana* после однократной и пятикратной (раз в сутки) обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ, обладающими значительным потенциалом для использования их в качестве наноудобрений. Установлено, что эффект стимуляции роста проявляется после нанесения CuO-НЧ в концентрации 30 мг/л и Fe₃O₄-НЧ в концентрации 300 мг/л. Более высокие концентрации названных НЧ либо не изменяют рост главного корня, либо ингибируют его. Влияние CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на архитектуру главного корня проявляется в уменьшении его диаметра в зоне зрелого эпидермиса и зоне деления, а также длины зоны роста растяжением этого органа в присутствии CuO-НЧ и увеличении данных параметров на фоне обработки Fe₃O₄-НЧ (до 1000 мг/л). Таким образом, на примере модельного объекта при соблюдении стандартизированных условий выращивания продемонстрировано, что CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ, используемые для производства наноудобрений, обладают низкой фитотоксичностью, при этом Fe₃O₄-НЧ проявляют выраженное корнестимулирующее действие при обработке в концентрациях 10; 30; 100 и 300 мг/л.

Библиографические ссылки

1. Zhang P, Ma Y, Zhang Z. Interactions between engineered nanomaterials and plants phytotoxicity uptake translocation, and biotransformation. In: Siddiqui MH, Al-Wahaibi MH, Mohammad F, editors. *Nanotechnology and plant sciences: nanoparticles and their impact on plants*. Berlin: Springer; 2015. p. 77–99. DOI: 10.1007/978-3-319-14502-0_5.
2. Wang P, Lombi E, Zhao F, Kopittke PM. Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. *Trends in Plant Science*. 2016; 21(8):699–712. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.04.005.
3. Thiruvengadam M, Chi HY, Kim S-H. Impact of nanopollution on plant growth, photosynthesis, toxicity, and metabolism in the agricultural sector: an updated review. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2024;207:108370. DOI: 10.1016/j.plaphy.2024.108370.
4. Khan MU, Ullah H, Honey Sh, Talib Z, Abbas M, Umar A, et al. Metal nanoparticles: synthesis approach, types and applications – a mini review. *Nano-Horizons*. 2023;2:1–21. DOI: 10.25159/NanoHorizons.87a973477e35.
5. Duman H, Eker F, Akdaşçi E, Witkowska AM, Bechelany M, Karav S. Silver nanoparticles: a comprehensive review of synthesis methods and chemical and physical properties. *Nanomaterials*. 2024;14(18):1527. DOI: 10.3390/nano14181527.
6. Peters R, Brandhoff P, Weigel S, Marvin HJP, Bouwmeester H, Aschberger K, et al. Inventory of nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector. *EFSA Supporting Publications*. 2014;11(7):621E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2014.EN-621.
7. Toksha BG, Sonawale VAM, Vanarase A, Bornare DT, Tonde Sh, Hazra Ch, et al. Nanofertilizers: a review on synthesis and impact of their use on crop yield and environment. *Environmental Technology & Innovation*. 2021;24:101986. DOI: 10.1016/j.eti.2021.101986.
8. Grillo R, Mattos BD, Antunes DR, Forini MML, Monikh FA, Rojas OJ. Foliage adhesion and interactions with particulate delivery systems for plant nanobionics and intelligent agriculture. *Nano Today*. 2024;37:101078. DOI: 10.1016/j.nantod.2021.101078.
9. Kah M, Tufenkji N, White JC. Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection. *Nature Nanotechnology*. 2019; 14(6):532–540. DOI: 10.1038/s41565-019-0439-5.
10. Vega-Vásquez P, Mosier NS, Irudayaraj J. Nanoscale drug delivery systems: from medicine to agriculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8:79. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00079.
11. Servin A, Elmer W, Mukherjee A, de la Torre-Roche R, Hamdi H, White JC, et al. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research*. 2015;17(2):92. DOI: 10.1007/s11051-015-2907-7.
12. Rastogi A, Zivcak M, Sytar O, Kalaji HM, He X, Mbarki S, et al. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in Chemistry*. 2017;5:10.3389. DOI: 10.3389/fchem.2017.00078.
13. Francis DV, Abdalla AK, Mahakham W, Sarmah AK, Ahmed ZFR. Interaction of plants and metal nanoparticles: exploring its molecular mechanisms for sustainable agriculture and crop improvement. *Environment International*. 2024;190(2):108859. DOI: 10.1016/j.envint.2024.108859.
14. Sosan A, Svistunenko D, Straltsova D, Tsiurkina K, Smolich I, Lawson T, et al. Engineered silver nanoparticles are sensed at the plasma membrane and dramatically modify the physiology of *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Journal*. 2016;85(2):245–257. DOI: 10.1111/tpj.13105.
15. Javaid A, Munir N, Abideen Z, Duarte B, Siddiqui ZSh, Haq R, et al. The potential effects of nanoparticles in gene regulation and expression in mammalian, bacterial and plant cells – a comprehensive review. *Plant Nano Biology*. 2025;11:100145. DOI: 10.1016/j.plana.2025.100145.
16. Zanella D, Bossi E, Gornati R, Faria N, Powell J, Bernardini G. The direct permeation of nanoparticles through the plasma membrane transiently modifies its properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2019;1861(10):182997. DOI: 10.1016/j.bbamem.2019.05.019.
17. Nair PMG, Chung IM. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21(22):12709–12722. DOI: 10.1007/s11356-014-3210-3.
18. Nair PMG, Chung IM. Evaluation of stress effects of copper oxide nanoparticles in *Brassica napus* L. seedlings. *3 Biotech*. 2017;7(5):293. DOI: 10.1007/s13205-017-0929-9.
19. Wang X, Xie H, Wang P, Yin H. Nanoparticles in plants: uptake, transport and physiological activity in leaf and root. *Materials*. 2023;16(8):3097. DOI: 10.3390/ma16083097.
20. Naz S, Gul A, Zia M. Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET Nanobiotechnology*. 2020;14(1):1–13. DOI: 10.1049/iet-nbt.2019.0176.
21. Chung IM, Venkidasamy B, Thiruvengadam M. Nickel oxide nanoparticles cause substantial physiological, phytochemical, and molecular-level changes in Chinese cabbage seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;139:92–101. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.03.010.

22. Ali Sh, Mehmood A, Khan N. Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation. *Journal of Nanomaterials*. 2021;1:1–17. DOI: 10.1155/2021/6677616.
23. Демидчик ВВ, Соколик АИ, Юрин ВМ. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений. *Успехи современной биологии*. 2001;121(5):511–525. EDN: YXZQIH.
24. Lequeux H, Hermans Ch, Lutts S, Verbruggen N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010;48(8):673–682. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.05.005.
25. Xu E, Liu Y, Gu D, Zhan X, Li J, Zhou K, et al. Molecular mechanisms of plant responses to copper: from deficiency to excess. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):6993. DOI: 10.3390/ijms25136993.
26. Кирисюк ЮВ, Демидчик ВВ. Влияние наночастиц меди на рост каллусной культуры, полученной из незрелых зародышей *Triticum aestivum* L. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2017;1:23–30.
27. Feigl G. The impact of copper oxide nanoparticles on plant growth: a comprehensive review. *Journal of Plant Interactions*. 2023;18(1):2243098. DOI: 10.1080/17429145.2023.2243098.
28. Festa RA, Thiele DJ. Copper: an essential metal in biology. *Current Biology*. 2011;21(21):R877–R883. DOI: 10.1016/j.cub.2011.09.040.
29. Koppitke PM, Dart PJ, Menzies NW. Toxic effects of low concentrations of Cu on nodulation of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution*. 2007;145(1):309–315. DOI: 10.1016/j.envpol.2006.03.007.
30. Shaw AK, Ghosh S, Kalaji HM, Bosa K, Brestic M, Zivcak M, et al. Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental and Experimental Botany*. 2014;102:37–47. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2014.02.016.
31. Song G, Hou W, Gao Y, Wang Y, Lin L, Zhang Z, et al. Effects of CuO nanoparticles on *Lemna minor*. *Botanical Studies*. 2016;57:3. DOI: 10.1186/s40529-016-0118-x.
32. Rui M, Ma Ch, Hao Y, Guo J, Rui Y, Tang X, et al. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). *Section Plant Nutrition*. 2016;7:815. DOI: 10.3389/fpls.2016.00815.
33. Feng Y, Kreslavski VD, Shmarev AN, Ivanov AA, Zharmukhamedov SK, Kosobryukhov A, et al. Effects of iron oxide nanoparticles (Fe₃O₄) on growth, photosynthesis, antioxidant activity and distribution of mineral elements in wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Plants*. 2022;11(14):1894. DOI: 10.3390/plants11141894.
34. Zia-ur-Rehman M, Naeem A, Khalid H, Rizwan M, Ali S, Azhar M. Responses of plants to iron oxide nanoparticles. *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*. 2018;1:221–238. DOI: 10.1016/B978-0-12-811487-2.00010-4.
35. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press; 1995. XV, 889 p.
36. Bergmann W, editor. *Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis*. Jena: Gustav Fischer; 1992. 788 p.
37. Kim J-H, Lee Y, Kim E-J, Gu S, Sohn E, Seo YS, et al. Exposure of iron nanoparticles to *Arabidopsis thaliana* enhances root elongation by triggering cell wall loosening. *Environmental Science & Technology*. 2014;48(6):3477–3485. DOI: 10.1021/es4043462.
38. Bombin S, LeFebvre M, Sherwood J, Xu Y, Bao Y, Ramonell KM. Developmental and reproductive effects of iron oxide nanoparticles in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(10):24174–24193. DOI: 10.3390/ijms161024174.

Получена 09.04.2025 / исправлена 05.05.2025 / принята 08.05.2025.
Received 09.04.2025 / revised 05.05.2025 / accepted 08.05.2025.

УДК 577.352.4

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ pH-ГРАДИЕНТА МИТОХОНДРИЙ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В СИНАПТОСОМАХ МОЗГА КРЫС

С. В. ГРИНЕВИЧ¹⁾, С. В. ФЕДОРОВИЧ¹⁾

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

Аннотация. Изменение метаболизма может влиять на различные трансмембранные потенциалы синаптических митохондрий и антиоксидантные системы защиты клетки. Изучено влияние таких процессов, как удаление глюкозы из инкубационной среды и замена глюкозы на кетоновое тело β -гидроксибутират (БГБ) в количестве 8 ммоль/л, на pH-градиент митохондрий, образование свободных радикалов и уровень восстановленного глутатиона в синапсосомах мозга крыс. Установлено, что замена в инкубационной среде глюкозы на БГБ приводит к повышению митохондриального захвата флуоресцентного зонда акридинового оранжевого, отражающему увеличение pH-градиента митохондрий. В то же время это воздействие не повлияло на уровень флуоресценции зонда 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата, что свидетельствует об отсутствии изменений в образовании свободных радикалов. Также БГБ был неэффективен в качестве антиоксиданта при окислительном стрессе, вызванном внесением в инкубационную среду 1 ммоль/л пероксида водорода или экстраклеточным закислением до уровня pH 6,0. Полное удаление глюкозы из инкубационной среды вызвало небольшое, но статистически достоверное увеличение пула восстановленного глутатиона. Ингибитор пентозофосфатного шунта – 6-аминоникотинамид (1 ммоль/л) – вызвал парадоксальное увеличение содержания восстановленного глутатиона. Сделан вывод о том, что изменение метаболического статуса синапсосом может повлиять на pH-градиент синаптических митохондрий и уровень восстановленного глутатиона.

Образец цитирования:

Гриневич СВ, Федорович СВ. Метаболическая регуляция pH-градиента митохондрий и окислительного стресса в синапсосомах мозга крыс. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:36–43.
EDN: OHNTEL

For citation:

Hrynevich SV, Fedorovich SV. Metabolic regulation of mitochondrial pH gradient and oxidative stress in rat brain synaptosomes. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2:36–43. Russian.
EDN: OHNTEL

Авторы:

Светлана Владимировна Гриневич – кандидат биологических наук; доцент кафедры биохимии биологического факультета.

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

Authors:

Svetlana V. Hrynevich, PhD (biology); associate professor at the department of biochemistry, faculty of biology.

svetlana14grinevich@gmail.com

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

fedorovich@bsu.by

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

Ключевые слова: синапс; синаптосома; митохондрия; свободный радикал; кетогенная диета; гипогликемия.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б19-01) и Белорусского государственного университета (грант ректора на имя С. В. Федоровича).

METABOLIC REGULATION OF MITOCHONDRIAL pH GRADIENT AND OXIDATIVE STRESS IN RAT BRAIN SYNAPTOSOMES

S. V. HRYNEVICH^a, S. V. FEDOROVICH^a

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

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

Abstract. Metabolic changes may affect different transmembrane potentials of synaptic mitochondria and antioxidant cell defence systems. The influence of processes such as the glucose withdrawing from the incubation medium and its replacing with the ketone body β -hydroxybutyrate (BHB) at a concentration of 8 mmol/L on mitochondrial pH gradient, the formation of free radicals and the reduced glutathione level in rat brain synaptosomes was studied. It was established that replacing glucose with BHB in the incubation medium leads to an enhancement of mitochondrial uptake of the acridine orange fluorescent probe that reflect an increase in the mitochondrial pH gradient. At the same time, this effect did not affect the fluorescence level of the 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate probe that indicate no changes in the formation of free radicals. Also BHB was ineffective as an antioxidant against oxidative stress induced by the addition to the incubation medium of 1 mmol/L hydrogen peroxide or extracellular acidification to the pH level of 6.0. Complete withdrawing of glucose from the incubation medium caused a small but statistically significant increase of reduced glutathione pool. The pentose phosphate pathway inhibitor 6-aminonicotinamide (1 mmol/L) caused a paradoxical increase of reduced glutathione content. It was concluded that changes in the metabolic status of synaptosomes can affect the synaptic mitochondrial pH gradient and the reduced glutathione level.

Keywords: synapse; synaptosome; mitochondrion; free radical; ketogenic diet; hypoglycemia.

Acknowledgements. This work was carried out with financial support from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. B19-01) and Belarusian State University (rector's grant (S. V. Fedorovich)).

Введение

Патогенез многих заболеваний центральной нервной системы связан с повреждением синапсов [1–4], причиной чего может быть нарушение метаболизма [2]. Возможен и обратный вариант, когда метаболическая терапия используется для лечения различных патологических состояний головного мозга [2; 5; 6]. В то же время неизвестно, как именно метаболические изменения приводят к нарушению либо улучшению синаптической трансмиссии.

Важным регулятором синаптической трансмиссии выступают митохондрии [7; 8]. Ранее нами было показано, что полное удаление глюкозы из инкубационной среды, являющейся моделью гипогликемии, приводит к уменьшению электрического потенциала внутренних мембран внутрисинапсомальных митохондрий и компенсаторному увеличению их рН-градиента [9]. Остается неизвестным, приведет ли замена глюкозы на другой энергетический субстрат, например на пируват или кетоновое тело β -гидроксибутират (БГБ), к такому же увеличению рН-градиента синаптических митохондрий.

Для лечения различных заболеваний центральной нервной системы используется кетогенная диета. Она предполагает замещение углеводов на жиры в ежедневном рационе больных, что приводит к синтезу кетонных тел [2; 5; 6; 10]. К кетонным телам относят упомянутый выше БГБ, ацетоацетат и ацетон. В норме уровень кетонных тел составляет 0,1 ммоль/л, при нескольких часах голодания он поднимается до 1,0 ммоль/л, а при длительном голодании или соблюдении кетогенной диеты могут достигаться значения 5,0–8,0 ммоль/л [11; 12]. Одной из наиболее распространенных гипотез, объясняющих нейропротекторные свойства кетогенной диеты, является предположение о том, что ее соблюдение приводит к уменьшению накопления свободных радикалов [6; 13]. В то же время не установлено, обладают ли кетонные тела антиоксидантными свойствами на уровне пресинаптического окончания.

В антиоксидантной защите клетки важную роль играют глутатионпероксидаза и используемый этим ферментом восстановленный глутатион [14; 15]. Восстановление глутатиона осуществляется при помощи глутатионредуктазы и НАДФН [16]. Основным путем восстановления НАДФ в нейроне является пентозо-

фосфатный шунт [17]. При некоторых патологических состояниях организма, например при сахарном диабете, может наблюдаться уменьшение содержания глюкозы в плазме, цереброспинальной жидкости, крови [18]. Неизвестно, оказывает ли влияние гипогликемия, при которой пентозофосфатный шунт перестает работать по причине отсутствия субстрата, на содержание восстановленного глутатиона в нейронах.

Основным объектом исследования выступили изолированные пресинаптические окончания нейронов головного мозга – синапсосомы. Они являются способными к освобождению нейромедиаторов и экзоцитозу, имеют тот же протеом, что и интактные терминали [9; 19; 20].

Следует отметить, что pH-градиент внутрисинапсосомальных митохондрий определялся по СССР-чувствительному захвату акридинового оранжевого [9]. Образование свободных радикалов в синапсосомах выявлялось с помощью флуоресцентного зонда 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата (DCFDA) [21]. Уровень восстановленного глутатиона в синапсосомах устанавливался с помощью флуоресцентного зонда монохлорбимана [22].

Материалы и методы исследования

В работе использовались следующие реактивы: акридиновый оранжевый, DCFDA, монохлорбиман, БГБ, 6-аминоникотинамид, карбонилцианид-4-(трифторметокси)фенилгидразон (СССР), 1-хлор-2,4-динитробензол (ХДНБ) (*Sigma*, США). Все остальные реактивы имеют квалификацию не ниже «о. с. ч.».

Получение синапсосом. Синапсосомы изолировали из полушарий мозга крыс дифференциальным центрифугированием по методу Хайоша [23]. Полученный осадок суспендировали в инкубационной среде следующего ионного состава: NaCl – 132,0 ммоль/л; KCl – 5,0 ммоль/л; MgCl₂ – 1,3 ммоль/л; NaH₂PO₄ – 1,2 ммоль/л; глюкоза – 10,0 ммоль/л (уровень pH 7,4 фиксировался с помощью буфера HEPES (15,0 ммоль/л)). При регистрации флуоресценции в инкубационную среду добавляли 1 ммоль/л CaCl₂. Суспензию синапсосом (10–20 мг/мл белка) предынкубировали 30 мин при температуре 37 °С, после чего синапсосомы ставили на лед и использовали в экспериментах в течение 3 ч. В экспериментах по изучению действия кетоновых тел либо дополнительно вносили в инкубационную среду 8 ммоль/л БГБ, либо замещали глюкозу БГБ в количестве 8 ммоль/л. В обоих случаях синапсосомы инкубировались 30 мин при температуре 37 °С перед измерением флуоресценции. При экспериментальном моделировании гипогликемии синапсосомы инкубировались в инкубационной среде без глюкозы 30 мин при температуре 37 °С перед измерением флуоресценции.

Определение pH-градиента митохондрий. Определение pH-градиента внутрисинапсосомальных митохондрий проводили по СССР-чувствительному накоплению флуоресцентного зонда акридинового оранжевого [9]. Флуоресценцию измеряли на спектрофлуориметре Cary Eclipse (*Varian*, США) при постоянном помешивании в термостатируемой кювете (37 °С) при $\lambda_{\text{возб}} = 494$ нм и $\lambda_{\text{рег}} = 529$ нм.

В 1,8 мл инкубационной среды А, содержащей 2 ммоль/л CaCl₂, добавляли 200,0 мкл суспензии синапсосом до конечной концентрации белка 1 мг/мл. Через 50 с после начала регистрации сигнала вносили 5 мкмоль/л акридинового оранжевого, на 10 мин вносили 10 мкмоль/л СССР.

Определение накопления свободных радикалов в синапсосомах. Для определения образования свободных радикалов в синапсосомах использовали флуоресцентный зонд DCFDA [21; 24]. К суспензии синапсосом (15–20 мг/мл белка) добавляли флуоресцентный зонд DCFDA до конечной концентрации 25 мкмоль/л и инкубировали 60 мин при температуре 37 °С. Загруженные синапсосомы однократно отмывали в десятикратном объеме инкубационной среды А. Осадок суспендировали в 2,0–2,5 мл инкубационной среды и использовали в экспериментах.

Флуоресценцию измеряли на спектрофлуориметре Cary Eclipse при постоянном помешивании в термостатируемой кювете (37 °С) при $\lambda_{\text{возб}} = 501$ нм и $\lambda_{\text{рег}} = 525$ нм.

В 1,8 мл инкубационной среды А, содержащей 2 ммоль/л CaCl₂, добавляли 200,0 мкл суспензии синапсосом до конечной концентрации белка 1 мг/мл. Через 50 с после начала регистрации сигнала вносили 60 мкл HCl (до уровня pH 6,0) или 1 ммоль/л H₂O₂. В контрольном эксперименте в термостатируемую кювету добавляли аналогичное количество воды. В дальнейшем из опытной кривой вычитали контрольную кривую.

Определение уровня восстановленного глутатиона. Уровень восстановленного глутатиона определялся с помощью флуоресцентного зонда монохлорбимана [22; 25]. Аликвоты суспензии синапсосом (200 мкл) добавлялись в соответствующую инкубационную среду (800 мкл) и инкубировались 30 мин при температуре 37 °С. Далее синапсосомы были седиментированы центрифугированием и ресуспендированы в 1 мл инкубационной среды, содержащей 50 мкмоль/л монохлорбимана. Пробы инкубировались 40 мин при комнатной температуре. Реакция останавливалась переносом проб на лед и быстрым центрифугированием. Далее осадок был снова ресуспендирован в 2 мл инкубационной среды и его флуоресценция была измерена на спектрофлуориметре Cary Eclipse при $\lambda_{\text{возб}} = 383$ нм и $\lambda_{\text{рег}} = 485$ нм.

Белок определяли с помощью метода Лоури [26] с использованием бычьего сывороточного альбумина как стандарта.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 отражено, что добавление CCCP приводит к увеличению флуоресценции акридинового оранжевого. Ранее нами было показано, что этот прирост связан с освобождением и последующим увеличением флуоресценции зонда из митохондриального пула и синаптических везикул [9].

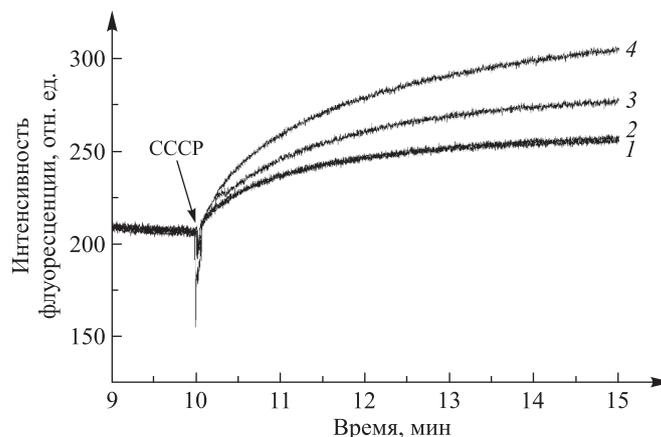


Рис. 1. Влияние БГБ на захват акридинового оранжевого внутрисинапсомальными митохондриями.

В указанное время в термостатируемую кювету было внесено 10 мкмоль/л CCCP.

Кривые отражают результаты 4 независимых экспериментов:

- 1 – контроль; 2 – замена в инкубационной среде глюкозы на пируват в количестве 4 ммоль/л;
- 3 – добавление в глюкозосодержащую (10 ммоль/л) инкубационную среду 4 ммоль/л БГБ;
- 4 – замена в инкубационной среде глюкозы на БГБ в количестве 8 ммоль/л

Fig. 1. The influence of BHB on acridine orange uptake by intrasynaptosomal mitochondria.

At the specified time, 10 $\mu\text{mol/L}$ CCCP was added to the thermostated cuvette.

The curves represent the results of 4 independent experiments:

- 1 – control; 2 – replacement in the incubation medium of glucose with pyruvate in an amount of 4 mmol/L;
- 3 – addition to the glucose-containing (10 mmol/L) incubation medium 4 mmol/L BHB;
- 4 – replacement in the incubation medium of glucose with BHB in an amount of 8 mmol/L

Замещение глюкозы пируватом, являющимся эффективным энергетическим субстратом для синапсом [27], не повлияло на увеличение флуоресценции акридинового оранжевого (см. рис. 1). В то же время замена глюкозы на БГБ привела к стимуляции накопления флуоресценции зонда в кислых компартментах. В эксперименте было использовано 8 ммоль/л DL- β -гидроксибутирата как репрезентативного кетонного тела. Следует отметить, что в клетках может усваиваться только D-изомер, поэтому ожидалось, что около 50 % экзогенного БГБ утилизируется в ходе эксперимента [28]. Ранее нами было установлено, что аналогичное воздействие не влияло на накопление акридинового оранжевого, чувствительного к бафиломицину – ингибитору АТФазы синаптических везикул [29]. Таким образом, дополнительный прирост флуоресценции в случае с БГБ связан с аккумуляцией акридинового оранжевого в митохондриях. Следует отметить, что добавление БГБ в глюкозосодержащую среду вызвало сходный, хотя и менее выраженный эффект (см. рис. 1). Полученные результаты свидетельствуют о том, что замена глюкозы на БГБ или добавление БГБ в инкубационную среду приводят к увеличению рН-градиента внутрисинапсомальных митохондрий.

Ранее нами было показано, что гипогликемия и последующий энергетический дефицит обуславливают компенсаторное увеличение рН-градиента при снижении электрического потенциала внутренних мембран внутрисинапсомальных митохондрий [9]. Данные рис. 1 свидетельствуют о том, что таким же действием обладают замена глюкозы на БГБ (но не на пируват) и дополнительное внесение БГБ в инкубационную среду. Известно, что БГБ может использоваться синапсомами в виде энергетического субстрата [29; 30]. Таким образом, кроме энергетического дефицита, дополнительным фактором, активирующим компенсаторное увеличение рН-градиента, может являться высокая цитозольная концентрация кетонных тел. При физиологических условиях основной причиной повышения содержания кетонных тел, в том числе БГБ, в плазме крови представляется голодание [5; 6; 13]. Можно предположить, что в этом случае увеличение рН-градиента синаптических митохондрий, потенциально приводящее к интенсификации синтеза АТФ, является также компенсаторным, позволяющим клетке приспособиться к голоду на уровне организма.

Для изучения окислительного стресса использовались две модели. Первая модель – внесение в инкубационную среду 1 ммоль/л пероксида водорода, являющегося классическим прооксидантом [24]. Вторая модель – снижение экстраклеточного уровня рН до 6,0. Ранее было показано, что такое воздействие приводит к окислительному стрессу за счет протонирования супероксид-анион-радикала и активации ре-

цептора OGR1 (*ovarian cancer G protein-coupled receptor 1*) на плазматической мембране с последующим синтезом супероксид-аниона в электрон-транспортной цепи митохондрий [31; 32]. На рис. 2 отражено, что БГБ, в отличие от ионола (200 мкмоль/л) и аскорбиновой кислоты (500 мкмоль/л) – классических антиоксидантов, не проявляет защитного действия ни в одной из изученных моделей. Кроме того, БГБ был неэффективен и в снижении базального уровня свободных радикалов.

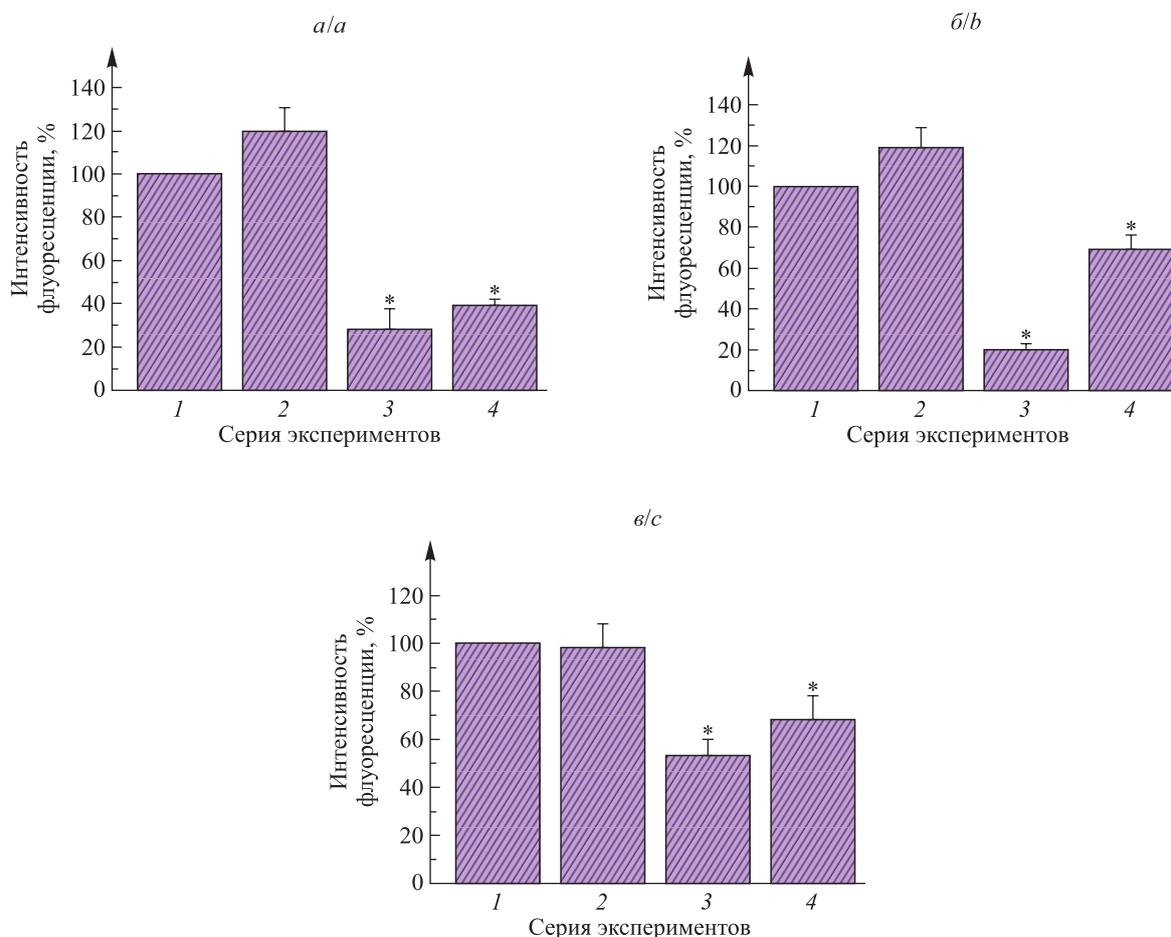


Рис. 2. Влияние БГБ на базальный уровень флуоресценции DCFDA (а) и прирост флуоресценции DCFDA, индуцированный внесением в инкубационную среду 1 ммоль/л пероксида водорода (б) или снижением экстраклеточного уровня pH до 6,0 (в): 1 – контроль; 2 – прединкубация синапсом в течение 30 мин при температуре 37 °С с БГБ в количестве 8 ммоль/л (при измерении флуоресценции инкубационная среда также содержала 8 ммоль/л БГБ); 3 – прединкубация синапсом в течение 30 мин при температуре 37 °С с ионолом в количестве 200 мкмоль/л (при измерении флуоресценции инкубационная среда также содержала 200 мкмоль/л ионола); 4 – прединкубация синапсом в течение 30 мин при температуре 37 °С с аскорбиновой кислотой в количестве 500 мкмоль/л (при измерении флуоресценции инкубационная среда также содержала 500 мкмоль/л аскорбиновой кислоты). За 100 % принята флуоресценция в контрольных условиях. В серии с БГБ представлены средние значения 12 экспериментов и ошибка средней величины ($\pm Sx$), в сериях с ионолом и аскорбиновой кислотой – средние значения 8 экспериментов и ошибка средней величины ($\pm Sx$). Знаком * отмечены статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при $p \leq 0,01$

Fig. 2. The influence of BHB on basal level of DCFDA fluorescence (a) and the increase of DCFDA fluorescence induced by the addition of 1 mmol/L hydrogen peroxide to the incubation medium (b) or lowering the extracellular level of pH to 6.0 (c): 1 – control; 2 – preincubation of synaptosomes for 30 min at temperature 37 °C with BHB in an amount of 8 mmol/L (during fluorescence measurement, the incubation medium also contained 8 mmol/L BHB); 3 – preincubation of synaptosomes for 30 min at temperature 37 °C with ionol in an amount of 200 μ mol/L (during fluorescence measurement, the incubation medium also contained 200 μ mol/L ionol); 4 – preincubation of synaptosomes for 30 min at temperature 37 °C with ascorbic acid in an amount of 500 μ mol/L (during fluorescence measurement, the incubation medium also contained 500 μ mol/L ascorbic acid). The 100 % level corresponds the fluorescence in control conditions. The series with BHB presents the average values of 12 experiments and the standard error of the mean ($\pm Sx$), the series with ionol and ascorbic acid present the average values of 8 experiments and the standard error of the mean ($\pm Sx$). Sign * marked statistically significant differences in relation to level 100 % at $p \leq 0.01$

Эксперименты продемонстрировали, что проявление защитного действия со стороны БГБ в различных моделях нейродегенеративных заболеваний связано прежде всего с увеличением экспрессии антиоксидантных ферментов, как это было показано в работе [33], а не с химическими свойствами молекул кетонных тел.

Для изучения пула восстановленного глутатиона в синапсосах в качестве положительного контроля использовался ХДНБ. Это соединение уменьшило флуоресценцию монохлорбимана (рис. 3), что свидетельствует об истощении глутатиона [25]. Удаление глюкозы из инкубационной среды также снизило флуоресценцию зонда на 5 %. Хотя это изменение имело небольшую амплитуду, оно было статистически достоверным ($p \leq 0,01$). Ингибитор пентозофосфатного шунта – 6-аминоникотинамид – парадоксально увеличил содержание восстановленного глутатиона в синапсосах (см. рис. 3). Используемой концентрации 6-аминоникотинамида (1 ммоль/л) было достаточно для полного ингибирования пентозофосфатного шунта [34]. Можно предположить, что в синапсах нейронов есть резервные метаболические пути, поддерживающие уровни восстановленного глутатиона и (или) восстановленного НАДФ даже в условиях ингибирования пентозофосфатного шунта.

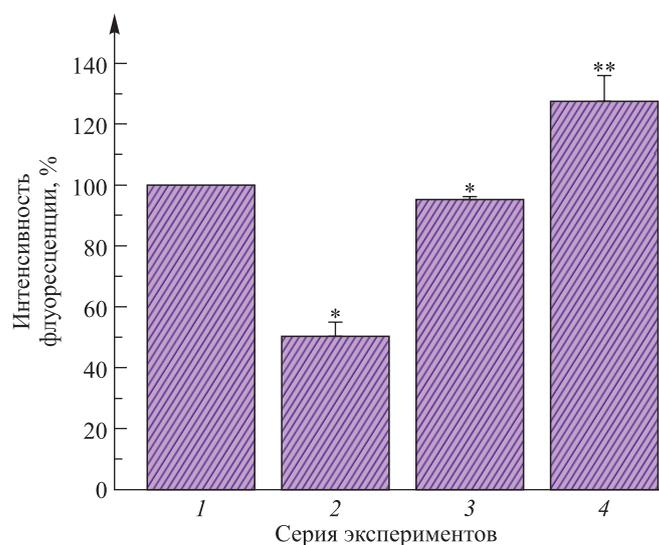


Рис. 3. Изменение флуоресценции монохлорбимана в синапсосах мозга крыс:
1 – контроль; 2 – предынкубация синапсосом в течение 10 мин при температуре 37 °С с ХДНБ в количестве 50 мкмоль/л; 3 – удаление глюкозы из инкубационной среды; 4 – предынкубация синапсосом в течение 30 мин при температуре 37 °С с 6-аминоникотинамидом в количестве 1 ммоль/л (при измерении флуоресценции инкубационная среда также содержала 1 ммоль/л 6-аминоникотинамида).

За 100 % принята флуоресценция в контрольных условиях. В серии с удалением глюкозы представлены средние значения 9 экспериментов и ошибка средней величины ($\pm Sx$), в сериях с ХДНБ и 6-аминоникотинамидом – средние значения 6 экспериментов и ошибка средней величины ($\pm Sx$). Знаком * отмечены статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при $p \leq 0,01$, знаком ** – статистически значимые различия по отношению к уровню 100 % при $p \leq 0,05$

Fig. 3. Change in monochlorobimane fluorescence in rat brain synaptosomes:
1 – control; 2 – preincubation of synaptosomes for 10 min at temperature 37 °C with CDNB in an amount of 50 $\mu\text{mol/L}$; 3 – glucose withdrawing from the incubation medium; 4 – preincubation of synaptosomes for 30 min at temperature 37 °C with 6-aminonicotinamide in an amount of 1 mmol/L (during fluorescence measurement, the incubation medium also contained 1 mmol/L of 6-aminonicotinamide). The 100 % level corresponds the fluorescence in control conditions.

The series with glucose withdrawing presents the average values of 9 experiments and the standard error of the mean ($\pm Sx$), the series with CDNB and 6-aminonicotinamide present the average values of 6 experiments and the standard error of the mean ($\pm Sx$).

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

Заключение

Исследование показало, что изменение метаболического статуса синапсосом ведет к изменению рН-градиента синаптических митохондрий, а также к уменьшению пула восстановленного глутатиона. Однако антиоксидантные свойства кетонных тел на уровне синапсов обнаружить не удалось.

Библиографические ссылки

1. Федорович СВ, Демидчик ВВ. Повреждение синапсов центральной нервной системы при патологиях головного мозга: мембранные механизмы и способы коррекции. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;3:4–11. EDN: MRRDMP.
2. Fedorovich SV, Waseem TV. Metabolic regulation of synaptic activity. *Reviews in the Neurosciences*. 2018;29(8):825–835. DOI: 10.1515/revneuro-2017-0090.
3. Hofmeijer J, van Putten MJAM. Ischemic cerebral damage: an appraisal of synaptic failure. *Stroke*. 2012;43(2):607–615. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.632943.
4. Li C, Jiang M, Fang Z-T, Chen Z, Li L, Liu Z, et al. Current evidence of synaptic dysfunction after stroke: cellular and molecular mechanisms. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2024;30(5):e14744. DOI: 10.1111/cns.14744.
5. Fedorovich SV, Voronina PP, Waseem TV. Ketogenic diet versus ketoacidosis: what determines the influence of ketone bodies on neurons? *Neural Regeneration Research*. 2018;13(12):2060–2063. DOI: 10.4103/1673-5374.241442.
6. Gano LB, Patel M, Rho JM. Ketogenic diets, mitochondria and neurological diseases. *Journal of Lipid Research*. 2014;55(11):2211–2228. DOI: 10.1194/jlr.R048975.
7. Fedorovich SV, Waseem TV, Puchkova LV. Biogenetic and morphofunctional heterogeneity of mitochondria: the case of synaptic mitochondria. *Reviews in the Neurosciences*. 2017;28(4):363–373. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0077.
8. Devine MJ, Kittler JT. Mitochondria at the neuronal presynapse in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2018;19(2):63–80. DOI: 10.1038/nrn.2017.170.
9. Hrynevich SV, Pekun TG, Waseem TV, Fedorovich SV. Influence of glucose deprivation on membrane potentials of plasma membranes, mitochondria and synaptic vesicles in rat brain synaptosomes. *Neurochemical Research*. 2015;40(6):1188–1196. DOI: 10.1007/s11064-015-1579-0.
10. Omori NE, Malys MK, Woo G, Mansor L. Exogenous ketone bodies and the ketogenic diet as a treatment option for neurodevelopmental disorders. *Frontiers in Nutrition*. 2024;11:1485280. DOI: 10.3389/fnut.2024.1485280.
11. Dedkova EN, Blatter LA. Role of β -hydroxybutyrate, its polymer poly- β -hydroxybutyrate and inorganic polyphosphate in mammalian health and disease. *Frontiers in Physiology*. 2014;5:260. DOI: 10.3389/fphys.2014.00260.
12. Paolo A, Bianco A, Damiani E, Bosco G. Ketogenic diet in neuromuscular and neurodegenerative diseases. *Biomed Research International*. 2014;2014:474296. DOI: 10.1155/2014/474296.
13. Achanta LB, Rae CD. β -Hydroxybutyrate in the brain: one molecule, multiple mechanisms. *Neurochemical Research*. 2017;42(1):35–49. DOI: 10.1007/s11064-016-2099-2.
14. Wei C. The role of glutathione peroxidase 4 in neuronal ferroptosis and its therapeutic potential in ischemic and hemorrhagic stroke. *Brain Research Bulletin*. 2024;217:111065. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2024.111065.
15. Zheng J, Conrad M. Ferroptosis: when metabolism meets cell death. *Physiological Reviews*. 2025;105:651–706. DOI: 10.1152/physrev.00031.2024.
16. Dringen R, Pawlowski PG, Hirrlinger J. Peroxide detoxification by brain cells. *Journal of Neuroscience Research*. 2005;79(1–2):157–165. DOI: 10.1002/jnr.20280.
17. Tang BL. Neuroprotection by glucose-6-phosphate dehydrogenase and the pentose phosphate pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2019;120(9):14285–14295. DOI: 10.1002/jcb.29004.
18. Languren G, Montiel T, Julio-Ampilas A, Massieu L. Neuronal damage and cognitive impairment associated with hypoglycemia: an integrated view. *Neurochemistry International*. 2013;63(4):331–343. DOI: 10.1016/j.neuint.2013.06.018.
19. Waseem TV, Fedorovich SV. Presynaptic glycine receptors influence plasma membrane potential and glutamate release. *Neurochemical Research*. 2010;35(8):1188–1195. DOI: 10.1007/s11064-010-0174-7.
20. Wilhelm BG, Mandad S, Truckenbrodt S, Kröhnert K, Schäfer C, Rammer B, et al. Composition of isolated synaptic boutons reveals the amounts of vesicle trafficking proteins. *Science*. 2014;344:1023–1028. DOI: 10.1126/science.1252884.
21. LeBel CP, Bondy SC. Sensitive and rapid quantitation of oxygen reactive species formation in rat synaptosomes. *Neurochemistry International*. 1990;17(3):435–440. DOI: 10.1016/0197-0186(90)90025-o.
22. Kamencic H, Lyon A, Paterson PG, Juurlink BH. Monochlorobimane fluorometric method to measure tissue glutathione. *Analytical Biochemistry*. 2000;286(1):35–37. DOI: 10.1006/abio.2000.4765.
23. Hajós F. An improved method for the preparation of synaptosomal fractions in high purity. *Brain Research*. 1975;93(3):485–489. DOI: 10.1016/0006-8993(75)90186-9.
24. Alekseenko AV, Waseem TV, Fedorovich SV. Ferritin, a protein containing iron nanoparticles, induces reactive oxygen species formation and inhibits glutamate uptake in rat brain synaptosomes. *Brain Research*. 2008;1241:193–200. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.09.012.
25. Pekun TG, Hrynevich SV, Waseem TV, Fedorovich SV. Role of iron, zinc and reduced glutathione in oxidative stress induction by low pH in rat brain synaptosomes. *Springerplus*. 2014;3:560. DOI: 10.1186/2193-1801-3-560.
26. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with Folin reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951;193(1):265–275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
27. Kauppinen RA, Nicholls DG. Synaptosomal bioenergetics. The role of glycolysis, pyruvate oxidation and responses to hypoglycaemia. *European Journal of Biochemistry*. 1986;158(1):159–165. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1986.tb09733.x.
28. Holmgren CD, Mukhtarov M, Malkov AE, Popova IY, Bregestovski P, Zilberter Y. Energy substrate availability as a determinant of neuronal resting potential, GABA signaling and spontaneous network activity in the neonatal cortex *in vitro*. *Journal of Neurochemistry*. 2010;112(4):900–912. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06506.x.
29. Hrynevich SV, Waseem TV, Hébert A, Pellerin L, Fedorovich SV. β -Hydroxybutyrate supports synaptic vesicle cycling but reduces endocytosis and exocytosis in rat brain synaptosomes. *Neurochemistry International*. 2016;93:73–81. DOI: 10.1016/j.neuint.2015.12.014.
30. McKenna MC, Tildon JT, Stevenson JH, Boatright R, Huang S. Regulation of energy metabolism in synaptic terminals and cultured rat brain astrocytes: differences revealed using aminoxyacetate. *Developmental Neuroscience*. 1993;15(3–5):320–329. DOI: 10.1159/000111351.

31. Pekun TG, Lemeshchenko VV, Lyskova TI, Waseem TV, Fedorovich SV. Influence of intra- and extracellular acidification on free radical formation and mitochondria membrane potential in rat brain synaptosomes. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2013;49(1): 211–222. DOI: 10.1007/s12031-012-9913-3.

32. Dubouskaya TG, Hrynevich SV, Waseem TV, Fedorovich SV. Calcium release from intracellular stores is involved in mitochondria depolarization after lowering extracellular pH in rat brain synaptosomes. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2018;78(4): 343–351. DOI: 10.21307/ane-2018-033.

33. Shimazu T, Hirshey MD, Newman J, He W, Shirakawa K, Le Moan N, et al. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*. 2013;339(6116):211–214. DOI: 10.1126/science.1227166.

34. Coyle JP, Johnson C, Jensen J, Farcas M, Derk R, Stueckle TA, et al. Variation in pentose phosphate pathway-associated metabolism dictates cytotoxicity outcomes determined by tetrazolium reduction assays. *Scientific Reports*. 2023;13(1):8220. DOI: 10.1038/s41598-023-35310-5.

Получена 07.01.2025 / исправлена 03.02.2025 / принята 19.02.2025.
Received 07.01.2025 / revised 03.02.2025 / accepted 19.02.2025.

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 631.8, 633.877

ОСОБЕННОСТИ РОСТА СЕЯНЦЕВ *PINUS SYLVESTRIS* И *PICEA ABIES* НА ТОРФЯНО-ПЕРЛИТНЫХ СУБСТРАТАХ, ОБОГАЩЕННЫХ ОРГАНИЧЕСКИМИ ДОБАВКАМИ И МИНЕРАЛЬНЫМИ УДОБРЕНИЯМИ С КОНТРОЛИРУЕМЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ ЭЛЕМЕНТОВ

В. Е. АРТИШЕВСКАЯ¹⁾, А. Ю. ШАШКО¹⁾, А. А. ОВСЕЙ²⁾, Р. С. НЕДЕЛЬКО¹⁾,
В. Ю. БОНДАРЕНКО¹⁾, М. А. ЧЕРНЫШ¹⁾, П. В. ГРИУСЕВИЧ¹⁾, О. Г. ЯКОВЕЦ¹⁾,
Н. А. ЛАМАН³⁾, А. И. СОКОЛИК¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК³⁾

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

²⁾Республиканский лесной селекционно-семеноводческий центр, автодорога Р-1, 17-й километр,
223049, район д. Волковичи, Щомыслицкий с/с, Минский р-н, Беларусь

³⁾Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Приведены результаты исследования особенностей влияния компонентного состава торфяно-перлитных субстратов на рост сеянцев *Pinus sylvestris* L. (сосна обыкновенная) и *Picea abies* (L.) H. Karst. (ель европейская) при их культивировании в кассетах в течение одного вегетационного сезона. В качестве компонентов

Образец цитирования:

Артишевская ВЕ, Шашко АЮ, Овсей АА, Неделько РС, Бондаренко ВЮ, Черныш МА, Гриусевич ПВ, Яковец ОГ, Ламан НА, Соколик АИ, Демидчик ВВ. Особенности роста сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies* на торфяно-перлитных субстратах, обогащенных органическими добавками и минеральными удобрениями с контролируемым высвобождением элементов. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:44–57.
EDN: PTGWGL

For citation:

Artishevskaya VE, Shashko AYU, Ovsey AA, Nedelko RS, Bandarenka UYu, Charnysh MA, Hryvusevich PV, Yakovets OG, Laman NA, Sokolik AI, Demidchik VV. Growth characteristics of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seedlings in peat-pearlite substrates enriched with organic and mineral controlled-release fertilisers. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2: 44–57. Russian.
EDN: PTGWGL

Сведения об авторах см. на с. 57.

Information about the authors see p. 57.

почвенных субстратов испытаны капсульно-мембранные удобрения пролонгированного действия (удобрения с контролируемым высвобождением (*controlled-release fertilisers*, CRF)) «Basacote» и «Top Substra», водорастворимое специализированное удобрение для минерального обогащения торфа «PG mix», цеолитное удобрение пролонгированного действия «ЦИОН», органические добавки «Organicum» и «Биогумус» на основе сухого куриного помета и вермикултуры соответственно, а также трепел, вермикулит и льняная костра. Продемонстрировано, что на ранней стадии роста (42 сут) сеянцы ели европейской росли быстрее на субстратах с органической добавкой «Organicum» (высушенный и простерилизованный куриный помет), тогда как в более поздние фазы вегетации (56–91 сут) они росли и развивались наиболее интенсивно на субстратах с добавлением удобрения «Basacote» (капсулы, содержащие макро- и микроэлементы, покрытые неорганической полимерной мембраной). Для сеянцев сосны обыкновенной скорость роста как в ранние, так и в поздние фазы вегетации (42–91 сут) была наибольшей при их культивировании на субстратах, содержащих специализированное удобрение для обогащения торфа «PG mix» (без раскисления; pH 2,7–3,2). Введение в субстраты удобрений (добавок) «Top Substra», «ЦИОН» и «Биогумус» имело значительно меньший ростостимулирующий эффект, чем введение удобрений «Basacote», «Organicum» и «PG mix». Выявлены корреляции между насыщенностью почвенного раствора электролитами (тест на электропроводность), уровнем pH и ростовыми показателями, выполнено цифровое фенотипирование надземной части молодых растений ели и сосны.

Ключевые слова: почвенный субстрат; удобрение с контролируемым высвобождением; сосна обыкновенная; ель европейская; сеянцы хвойных пород; рост и развитие растений.

GROWTH CHARACTERISTICS OF *PINUS SYLVESTRIS* AND *PICEA ABIES* SEEDLINGS IN PEAT-PEARLITE SUBSTRATES ENRICHED WITH ORGANIC AND MINERAL CONTROLLED-RELEASE FERTILISERS

V. E. ARTISHEVSKAYA^a, A. Yu. SHASHKO^a, A. A. OVSEY^b, R. S. NEDELKO^a,
U. Yu. BANDARENKA^a, M. A. CHARNYSH^a, P. V. HRYVUSEVICH^a, O. G. YAKOVETS^a,
N. A. LAMAN^c, A. I. SOKOLIK^a, V. V. DEMIDCHIK^c

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

^bRepublican Forest Selection and Seed Centre, P-1 Highway, 17th kilometre,
Valkovichy 223049, Shchomyslicki village council, Minsk District, Belarus

^cV. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: V. V. Demidchik (demidchik@botany.by)

Abstract. In the presented work, the effect of different compositions of peat-pearlite substrates on the growth of *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) and *Picea abies* (L.) H. Karst. (European spruce) seedlings were tested in standard containers (limited space for root system development) during one growing season. As components of soil substrates, long-lasting encapsulated controlled-release fertilisers (CRF) «Basacote» and «Top Substra», water-soluble specialised fertiliser for peat enrichment «PG mix», zeolite-based CRF «ZION», organic fertilisers «Organicum» (dry sterilised chicken manure) and «Biohumus» (vermiculture-based compost), as well as rothenstone (tripoli), vermiculite and flax shives were examined. It was demonstrated that at the early stage of growth (42 days), European spruce seedlings showed a faster increase in shoot length on substrates with the organic additive «Organicum» (chicken manure). At the later stages of the tested vegetation period (56–91 days), European spruce seedlings showed the most intensive growth on substrates with the addition of CRF «Basacote» (capsules containing macro- and microelements covered with an inorganic polymer membrane). For Scots pine, the best growth rates both in early and late vegetation periods (42–91 days) were found on substrates containing a specialised fertiliser for peat enrichment «PG mix» (without liming; pH 2.7–3.2). The introduction of such fertilisers, as «Top Substra», «ZION» and «Biohumus» into peat substrates had a smaller effect on stimulation of growth as compared to fertilisers «Basacote», «Organicum» and «PG mix». This study also found the correlations between the saturation of the soil electrolyte content (electrical conductivity test), pH and growth parameters; the digital phenotyping of young spruce and pine plants was also carried out.

Keywords: soil substrate; controlled-release fertiliser; Scots pine; European spruce; conifer seedlings; growth and development of higher plants.

Введение

Получение высококачественного посадочного материала лесобразующих древесных растений – важная задача прикладной физиологии растений, лесоводства, декоративного питомниководства и биотехнологии [1–3]. В настоящее время происходит переход от классических методов выращивания семян древесных растений в открытом грунте к их культивированию с закрытой корневой системой (ЗКС), т. е. в кассетах, контейнерах и горшках ограниченного объема. На сегодняшний день в системе Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь функционируют 79 постоянных лесных питомников и высокотехнологичных тепличных комплексов общей площадью 1,34 тыс. га. В 2024 г. в лесных питомниках Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь было выращено 371,85 млн стандартных семян и саженцев древесных растений для лесокультурного производства и озеленения, в том числе более 35,4 млн семян и саженцев с ЗКС. Данное количество посадочного материала может обеспечить создание новых лесных насаждений на площади от 8,5 до 9,5 тыс. га в зависимости от типов условий местопроизрастания и схемы смешения растений¹. В последние годы значительно возросла доля древесных растений с ЗКС, производимых для целей декоративного озеленения. Кроме того, практически все завозимые из-за рубежа древесные растения (а это большая часть рынка) имеют ЗКС. В связи с этим исследование физиологических процессов у древесных растений, выращенных с ЗКС, представляет значительный интерес. Актуальным вопросом является установление особенностей роста растений с ЗКС на разных по составу почвенных субстратах в культивационных сосудах различного объема и формы, а также исследование влияния отдельных компонентов субстратов на физиологическое состояние молодых растений.

Среди лесобразующих видов древесных растений Беларуси центральное место занимают *Pinus sylvestris* L. (сосна обыкновенная) и *Picea abies* (L.) H. Karst. (ель европейская) [4; 5]: к ним относятся подавляющее большинство растений, выращиваемых в тепличных комплексах страны. Оба вида хорошо изучены в плане физиологии и генетики, для них детально проработаны подходы к селекции и биотехнологические приемы выращивания и размножения [6]. Важно отметить, что *Pinus sylvestris* и *Picea abies* также являются ценными декоративными видами, используемыми в том числе и в декоративном питомниководстве. Данные растения в природной среде и в питомниках размножаются как вегетативно, так и семенами. Для лесовоспроизводства применяется в основном семенное размножение благодаря высокому коэффициенту пропагации и пользе для генетической вариабельности. В то же время в декоративном питомниководстве для сохранения ценных фенотипических признаков чаще используется вегетативное размножение главным образом неодревесневевшими черенками. Размножение *in vitro* для *Pinus sylvestris* и *Picea abies* на практике применяется редко, так как оба вида отличаются высокой редандностью к культивированию в асептических условиях и гелевых средах (испытывают стресс и медленно растут).

Как указано выше, в последние годы увеличивается доля растений, выращиваемых с ЗКС, что относится как к семенному, так и к вегетативному размножению. Хотя выращивание древесных растений с ЗКС имеет ряд недостатков (неразвитость корневой системы, замедленный рост после пересадки, низкая стрессоустойчивость), оно более удобно для хранения, перемещения, транспортировки и продажи растений, чем классические методы, использующие семена с открытой корневой системой. Среди преимуществ ЗКС можно выделить экономию воды, удобрений и субстратов, лучший контроль физико-химических параметров субстрата и среды, а также более высокий уровень стандартизации продукции и производственных процедур. При проведении научных исследований культивирование растений с ЗКС облегчает подбор и стандартизацию условий, что необходимо для фенотипического отбора, а также использования подходов маркерсопутствующей селекции [7; 8].

Центральной задачей при выращивании растений в ограниченном объеме субстрата является разработка композиций, обеспечивающих максимально быстрое укоренение молодых растений, их высокую скорость роста и жизнеспособность [9; 10]. В качестве основного компонента субстратов, используемых для выращивания хвойных растений, традиционно применяется верховой торф с высоким содержанием неразложившихся растительных остатков [11]. Верховой торф выполняет функцию механического, ионообменного и влагоудерживающего носителя. Он содержит гуминовые кислоты и фульвокислоты – соединения, обладающие мощнейшими ионообменными свойствами и являющиеся основой для формирования почвенных частиц. Природный уровень элементов минерального питания в торфе невысок, но благодаря пористой структуре и наличию гуминовых веществ торф способен удерживать воду и большое количество макро- и микроэлементов при их дополнительном включении [12]. В связи с этим торф часто обогащается макро- и микроэлементами, которые обычно вносятся в неорганической форме, реже в составе органических удобрений. Главным образом применяются минеральные соли в виде мелкодисперсных

¹Итоги проведения мероприятий по воспроизводству лесов в 2024 году и задачи на 2025 год : постановление коллегии М-ва лесного хоз-ва Респ. Беларусь, 30 дек. 2024 г. Минск : Минлесхоз, 2024. 14 с.

сбалансированных смесей. В последние годы был разработан ряд специализированных смесей для обогащения торфа, способных равномерно (за счет мелкодисперсной формы и относительно синхронного растворения солей) вводить элементы минерального питания в капиллярно-пористую ионообменную матрицу торфа [13]. Одними из наиболее массово используемых во всем мире удобрений такого типа являются смеси компании *Yara* (Норвегия), в особенности специализированные удобрения серии «*Yara PG mix*». Данные удобрения нашли широкое применение в питомниках древесных растений Беларуси и других стран СНГ.

В качестве добавок для обогащения торфа потенциально могут использоваться органические удобрения, в частности различные виды гумуса, например биогумус, получаемый из компоста при помощи вермикультуры, и высушенный куриный помет [14]. Применение органических удобрений представляется перспективным ввиду их потенциально пролонгированного действия, что важно для длительного культивирования растений с ЗКС. Немаловажным также является факт устойчивого восполнения данного биоресурса. На сегодняшний день значительный интерес имеет тестирование стандартизированных коммерческих гумуссодержащих продуктов, представленных на рынке Беларуси и других стран СНГ, таких как продукт «Биогумус» (ОДО «Пиклайф», Беларусь), производимый при переработке отходов животноводства в вермикультуре дождевого навозного червя, и биопрепарата на основе высушенного и простерилизованного куриного помета «*Organicum*» (ЗАО «Регион Био Девелопмент», Беларусь). Эффективность данных препаратов в качестве ростостимулирующей добавки к верховому торфу была протестирована в настоящей работе.

В последние годы в композиции субстратов часто вводятся такие добавки, как льняная костра, трепел, лигнин, диатомит, древесные опилки, керамзит, кокосовая стружка, крупяная лузга и др. [15–18]. Эти недорогие агенты, как предполагается, могут улучшить структуру, аэрацию и (или) ионообменные свойства субстрата, а также выступить источником некоторых минеральных элементов (Si, Fe и Se). Тем не менее научное обоснование использования данных добавок, как и доказательство их эффективности при выращивании древесных растений, остается недостаточно обоснованным, в связи с чем их применение требует более глубокого исследования.

Одним из эффективных подходов, стимулирующих рост растений при контейнерном выращивании посадочного материала, является использование удобрений с замедленным высвобождением элементов, т. е. удобрений, обладающих способностью постепенного выделения в почвенный раствор минеральных элементов на протяжении длительного времени (до 2 лет), что достигается за счет наличия полупроницаемой органической или неорганической мембраны, медленного растворения матричного материала гранулы либо повышенной ионообменной емкости используемого функционального агента [19]. В мире такие удобрения также классифицируют как удобрения с контролируемым высвобождением (*controlled-release fertilisers*, CRF). Среди данных удобрений, используемых для культивирования древесных растений, в последнее время наиболее широко применяются удобрения «*Basacote® Plus 6M 16-8-12(+2+ME)*» (капсулы покрыты неорганической мембраной, обеспечивающей замедленное растворение и выход элементов в почвенный раствор) и «*Top Substra 12-12-17(+2)*» (70 % капсул покрыты мембраной; 30 % минералов представлены в неорганической водорастворимой форме и служат для быстрой «зарядки и обогащения» торфа или других материалов) компании *Compo Expert* (Германия). Также недавно было разработано удобрение «ЦИОН» (ООО «Мир чистой воды», Россия), согласно информации производителя являющееся эффективным удобрением пролонгированного действия на основе модифицированного минерала цеолита, обогащенного элементами минерального питания.

Целью данной работы был анализ укоренения и роста сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies* в торфяно-перлитных субстратах, содержащих удобрения с контролируемым высвобождением элементов, водорастворимые специализированные минеральные удобрения для торфа, цеолитные удобрения пролонгированного действия, биогумус, сухой куриный помет, трепел, вермикулит и льняную костру.

Материалы и методы исследования

В работе использовались семена *Pinus sylvestris* и *Picea abies*, заготовленные на лесосеменных плантациях Глубокского опытного лесхоза в зимний период 2020 г. Переработка сырья, очистка и доочистка семян осуществлялись в Республиканском лесном селекционно-семеноводческом центре. Лабораторная всхожесть семян составила 97 % для сосны обыкновенной и 95 % для ели европейской, что соответствовало 1-му классу качества.

Исследовались субстраты, приготовленные на основе верхового торфа, произведенного ОАО «Торфопредприятие «Глинка»» и имеющего массовую долю влаги 40–60 %, степень разложения не более 25 %, размер фракции до 15 мм, засоренность не более 1 % и кислотность в диапазоне pH 2,8–3,5. В данный торфяной «носитель» вводился перлит (10 %) и тестируемые добавки (табл. 1). Сокращенные названия протестированных субстратов приведены в табл. 1.

Характеристики протестированных почвенных субстратов

Characteristics of tested soil substrates

№ п/п	Сокращенное название субстрата	Наименование и производитель тестируемых компонентов	Состав субстрата	Особенности
1	Top Substra	Top Substra (<i>Compro Expert</i> , Германия), трепел (ОДО «Трепел-М», Беларусь), вермикулит (ООО «Вермикулитная компания», Беларусь)	Нераскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), минеральное удобрение пролонгированного действия «Top Substra 12-12-17(+2)» (2 кг на 1 м ³ субстрата), трепел (15 кг на 1 м ³ субстрата), вермикулит (6 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 2,5–3,5, обогащенный минеральным удобрением пролонгированного действия, содержащим N, P, K, Mg, S, B, Fe, Zn (без Ca*, Cl и Na), с добавлением трепела и вермикулита для улучшения физических свойств субстрата
2	Basacote	Basacote® Plus 6M (<i>Compro Expert</i> , Германия), трепел (ОДО «Трепел-М», Беларусь), вермикулит (ООО «Вермикулитная компания», Беларусь)	Нераскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), минеральное удобрение пролонгированного действия «Basacote® Plus 6M 16-8-12(+2+ME)» (2,5 кг на 1 м ³ субстрата), трепел (15 кг на 1 м ³ субстрата), вермикулит (6 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 2,5–3,5, обогащенный комплексным минеральным удобрением пролонгированного действия, содержащим N, P, K, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn (без Cl и Na), с добавлением трепела и вермикулита для улучшения физических свойств субстрата
3	ЦИОН	ЦИОН (ООО «Мир чистой воды» Россия), вермикулит (ООО «Вермикулитная компания», Беларусь)	Нераскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), питательная добавка для хвойных растений «ЦИОН» (4,4 кг на 1 м ³ субстрата), вермикулит (6 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 2,5–3,5, обогащенный минеральной добавкой на основе целолита, содержащей N, P, K, Mg, S (без Ca*, Cl и Na), с добавлением вермикулита для улучшения физических свойств субстрата
4	Биогумус	Биогумус (ОДО «Пиклайф», Беларусь), костра (ОАО «Пружанский льнозавод», Беларусь)	Нераскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), органическое удобрение на основе вермикулиты «Биогумус» (22 кг на 1 м ³ субстрата), трепел (15 кг на 1 м ³ субстрата), костра (15 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 2,5–3,5, обогащенный удобрением на основе вермикулиты, полученным при переработке отходов животноводства с помощью дождевого навозного червя; для улучшения физических свойств субстрата в него добавлены трепел и льняная костра
5	Organicum	Organicum (ЗАО «Регион Био Девелопмент», Беларусь), трепел (ОДО «Трепел-М», Беларусь), костра (ОАО «Пружанский льнозавод», Беларусь)	Нераскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), удобрение на основе куриного помета «Organicum» (9 кг на 1 м ³ субстрата), трепел (15 кг на 1 м ³ субстрата), костра (15 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 2,5–3,5, обогащенный удобрением на основе куриного помета, содержащим N, P, K, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn и аминокислоты; для улучшения физических свойств субстрата в него добавлены трепел и льняная костра
6	PG mix 700	PG mix (<i>Yara</i> , Норвегия)	Нераскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), минеральное удобрение с микроэлементами «PG mix N-P-K+Mg+S/12-14-24+2+14+micro» (0,7 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 2,5–3,5, обогащенный N, P, K, Mg, S, Fe, Cu, Zn, Mn, B, Mo (без Ca*, Cl и Na)
7	PG mix 1000, раскисл.	PG mix (<i>Yara</i> , Норвегия)	Раскисленный верховой торф (90 %), перлит (10 %; фракция 1,25–5,00 мм), где снижение кислотности проводилось за счет внесения доломитовой муки из расчета 4 кг на 1 м ³ субстрата, минеральное удобрение с микроэлементами «PG mix 12-14-24+2+14+micro» (1 кг на 1 м ³ субстрата)	Торфяно-перлитный субстрат с рН 4,5–4,7, обогащенный комплексным минеральным удобрением пролонгированного действия, содержащим N, P, K, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn (без Cl и Na)

*Снабжение кальцием осуществлялось посредством полива водой из скважины, содержащей высокий уровень Ca²⁺.

В качестве емкостей для выращивания сеянцев использовались кассеты «Плантек 64Ф» (*BCC Plant the Planet*, Швеция). Внешние габариты кассеты 38,5 см (длина), 38,5 см (ширина), 7,3 см (высота); размер одной ячейки 4,6 см (длина), 4,6 см (ширина), 7,3 см (высота); объем ячейки 115 см³; количество ячеек в кассете 64 шт.; плотность сеянцев 432 шт. на 1 м². Каждым вариантом тестируемого субстрата заполнялось три кассеты, т. е. 192 ячейки. Для высева семян по центру каждой ячейки в субстрате подготавливалась посевная лунка глубиной примерно 1 см. Перед высевом семена сосны и ели протравливались фунгицидом «Виал-ТТ» (ООО «ВалдисАгро», Россия). В каждую ячейку высевалось по два семени. Поверхность субстратов мульчировалась агроперлитом для предотвращения чрезмерного испарения влаги. Отбор проб субстратов для лабораторных испытаний проводился согласно ГОСТ 5396-77². После посева кассеты устанавливались на подставки, что позволяло избежать срастания корней и обеспечивало так называемую воздушную подрезку (постепенное отмирание выступающих из культивационных емкостей частей корней). Далее кассеты переносились в теплицы с полиэтиленовым покрытием, оборудованные рамповым поливом и автоматической системой поддержания физико-химических условий среды (климат-контроль). Сеянцы выращивались в температурном диапазоне от 20 до 24 °С. Основной полив проводился в первой половине дня. При пересыхании поверхности субстрата осуществлялся кратковременный дополнительный полив. Растения выращивались в течение одного вегетационного сезона, в процессе выращивания отбирались пробы субстрата и образцы тканей растений для анализа.

Показатель кислотности (рН) и электропроводность водной вытяжки почвенного субстрата измерялись при помощи стационарного рН-метра Orion Star A211 (*Thermo Fisher Scientific*, США) и кондуктометра HI 2300 EC/TDS/NaCl Meter (*Hanna Instruments*, США). Общая кислотность субстрата определялась по вытяжке в растворе 1 моль/л KCl, электропроводность – путем уравнивания субстрата с дистиллированной водой и последующего измерения проводимости полученной смеси.

Анализ морфометрических показателей растений выполнялся с использованием подходов цифрового фенотипирования при помощи цифровых SLR-камер Nikon 3000D с 3D-штативами и равномерным освещением (*Nikon Corporation*, Япония). В результате были получены изображения растущих растений в вертикальной проекции. Далее при помощи программы *ImageJ* выделялась и анализировалась площадь зеленой части растения. Таким же образом измерялись и анализировались характеристики листовых пластинок (хвои). Полученные данные были представлены в виде зависимостей площади зеленой части растения в вертикальной проекции и длины первичного побега (стволика) от варианта тестируемого субстрата.

Экспериментальная часть работы проводилась на базе Республиканского лесного селекционно-семеноводческого центра.

Результаты и их обсуждение

В представленной работе анализировалась длина первичного побега (стволика), развивающегося непосредственно из гипокотыля (рис. 1). Согласно литературным данным длина первичного побега является часто используемым параметром для оценки роста сеянцев сосны и ели [20]. Измерения производились на 42, 56, 70 и 91-е сутки с момента высева семян и начала культивирования растений на субстратах различного состава (см. табл. 1).

Первое измерение длины стволика выполнялось на 42-е сутки с момента высева семян в кассеты. На данном этапе первичные побеги растений сосны обыкновенной были на 20–50 % длиннее, чем первичные побеги растений ели европейской, во всех вариантах ($p < 0,001$, тест ANOVA). Наибольший прирост длины надземной части сеянцев ели европейской на 42-е сутки наблюдался при использовании субстрата «Organicum», содержащего в качестве тестируемого компонента куриный помет (см. рис. 1, а). Например, первичные побеги сеянцев ели европейской, которые выращивались на субстрате «Organicum», достигали приблизительно на 30 % большей длины по сравнению с первичными побегами сеянцев ели европейской, культивируемых на субстрате «PG mix 700». Также высокую эффективность по поддержанию роста ели на 42-е сутки продемонстрировал субстрат «Биогумус», содержащий гумус из вермикултуры (см. табл. 1). Он лишь незначительно уступал субстрату «Organicum». Для сосны обыкновенной наибольшая длина первичного побега на 42-е сутки была зарегистрирована у растений, культивируемых на субстратах «PG mix 700» и «PG mix 1000, раскисл.». Различия в приросте первичного побега на 42-е сутки для сосны были менее выраженными, чем для ели.

Следующее измерение длины первичного побега было произведено на 56-е сутки. Так же, как и при измерении, проведенном на 42-е сутки, побеги растений сосны обыкновенной имели большую длину, чем побеги растений ели европейской, при сравнении этого показателя для одних и тех же субстратов

²Торф. Методы отбора проб : ГОСТ 5396-77. Введ. 01.01.1979. М. : Изд-во стандартов, 1977. 5, [5] с.

($p < 0,001$, ANOVA). Максимальный прирост стволика для сеянцев ели европейской был зарегистрирован у растений, культивируемых на субстрате, содержащем удобрение пролонгированного действия «Basacote» (см. рис. 1, б). Длина первичных побегов сеянцев ели, выращенных на данном субстрате, была примерно на 10 % больше ($p < 0,001$, ANOVA), чем у сеянцев, выращенных на субстрате «Organicum» (второй по эффективности субстрат при 56-суточном культивировании), и на 35–40 % больше, чем у сеянцев, выращенных на субстрате «Top Substra» (наименее эффективный субстрат для ели). Высокую эффективность для ели на 56-е сутки также показал субстрат «Биогумус». Как и в случае 42-суточного культивирования, он незначительно уступал субстрату «Organicum». Для сосны обыкновенной наиболее высокие показатели по стимуляции роста первичного побега на 56-е сутки наблюдались при использовании субстратов «PG mix 700», «ЦИОН» и «Basacote». Так же, как и при измерении, проведенном на 42-е сутки, наименее эффективным субстратом для сосны был субстрат «Top Substra».

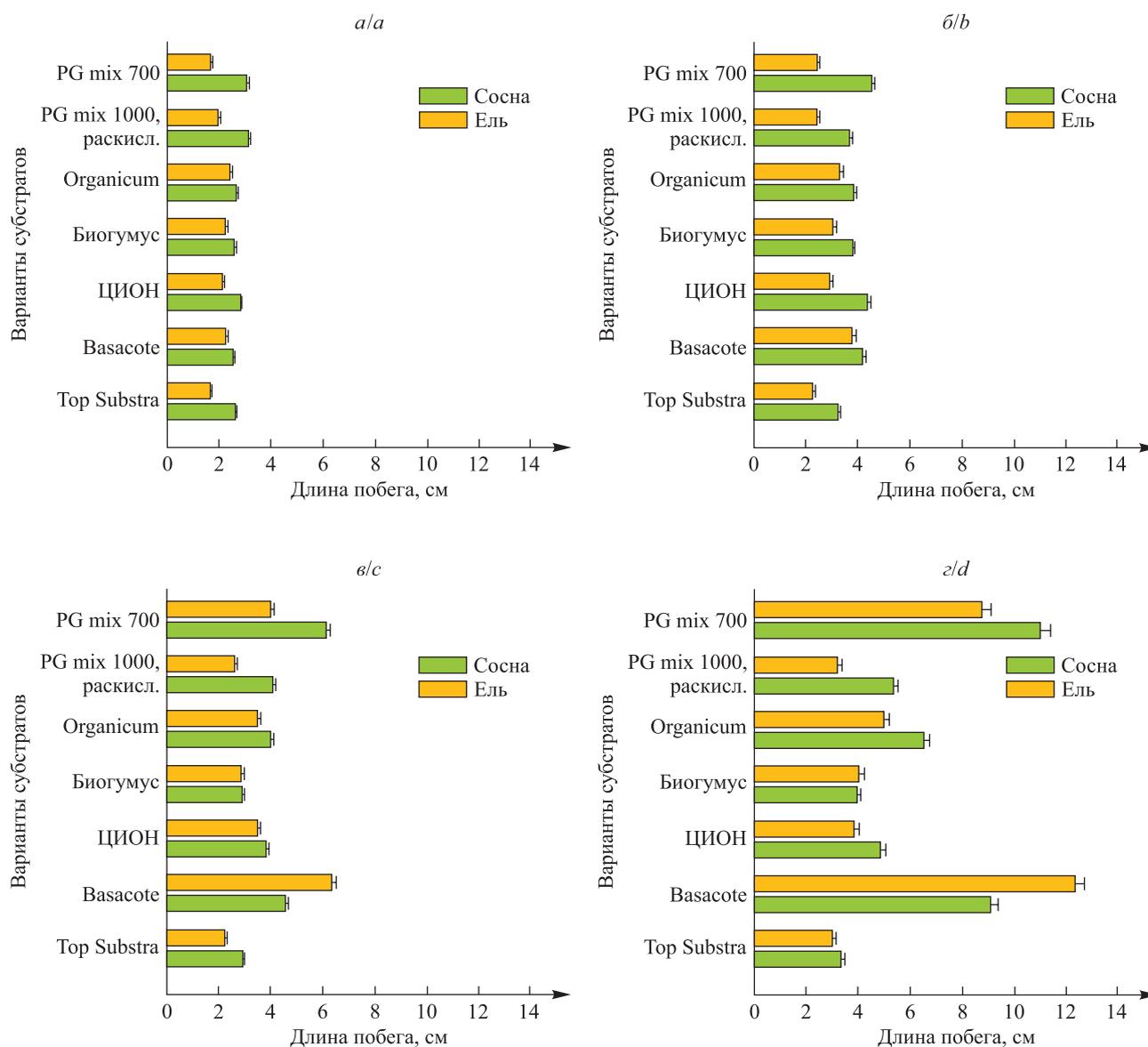


Рис. 1. Длина первичного побега (ствололика) сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской при культивировании на различных субстратах в течение 42 сут (а), 56 сут (б), 70 сут (в) и 91 сут (г). По вертикальной оси указаны краткие названия субстратов, их составы см. в табл. 1. Данные представлены в виде средних значений (среднее значение ± ошибка средней величины; $n = 192$). Информация о достоверности отличий (ANOVA) приведена в тексте статьи

Fig. 1. Shoot length of seedlings of Scots pine and European spruce cultivated in different substrates during 42 days (a), 56 days (b), 70 days (c) and 91 days (d). The short names of the substrates are indicated by the vertical axis, their compositions see in table 1. The data are presented as mean (mean ± standard error; $n = 192$). Statistical significance coefficients (ANOVA) are provided in the text

На 70-е сутки выращивания первичные побеги сеянцев ели европейской для большинства субстратов существенно сократили отличие по длине от побегов сеянцев сосны обыкновенной, а для некоторых субстратов (субстрат «Basacote») значительно (на 25–26 %; $p < 0,0001$, ANOVA) опередили сеянцы сосны в росте (см. рис. 1, в). На 70-е сутки первичные побеги растений ели, выращенных на субстратах «PG mix 700», «Organicum» и «ЦИОН», незначительно отличались по длине друг от друга, но при этом на 40–45 % уступали по длине растениям, выращенным на наиболее эффективном из протестированных субстратов – «Basacote» ($p < 0,0001$, ANOVA). Наименьший прирост на 70-е сутки для ели отмечался у сеянцев, культивируемых на субстратах «Top Substra», «PG mix 1000, раскисл.» и «Биогумус». Для сосны обыкновенной наилучший результат по ростовым показателям растений продемонстрировал субстрат «PG mix 700», опередив субстрат «Basacote» примерно на 25 % ($p < 0,0001$, ANOVA). Субстраты «Organicum», «ЦИОН» и «PG mix 1000, раскисл.» были примерно на 15 % менее эффективными, чем субстрат «Basacote». Наименьшую эффективность на 70-е сутки для сосны показали субстраты «Top Substra» и «Биогумус». Стволики растений сосны, которые росли на данных субстратах, были примерно в 2 раза короче, чем стволики растений, выращенных на субстрате «PG mix 700».

Последнее снятие ростовых показателей сеянцев проводилось на 91-е сутки. В этой точке измерений субстраты «PG mix 700» и «Basacote» показали существенное отличие от других протестированных субстратов. Первичные побеги сеянцев ели европейской, которые выращивались на субстрате «Basacote», были на 25 % длиннее, чем первичные побеги растений, культивируемых на субстрате «PG mix 700» (второй по эффективности субстрат для ели), и как минимум в 2–3 раза превосходили по длине первичные побеги растений, культивируемых на других субстратах. Для сосны обыкновенной наиболее эффективным на 91-е сутки был субстрат «PG mix 700». Первичные побеги сеянцев, выращенных на данном субстрате, на 20 % опережали по скорости роста первичные побеги сеянцев, которые росли на субстрате «Basacote» (второй по эффективности субстрат для сосны), на 30 % – первичные побеги сеянцев, которые росли на субстрате «Organicum», и на 50 % – первичные побеги сеянцев, которые росли на субстрате «PG mix 1000, раскисл.». Наименьшая длина первичных побегов для сосны была зарегистрирована у растений, выращенных на субстрате «Top Substra». Она была в 3 раза меньше, чем у растений, выращенных на субстрате «PG mix 700».

Согласно мнению специалистов-практиков и литературным данным развитие надземной части сеянцев является важным показателем, влияющим на дальнейшее выживание и рост молодых растений [9]. В представленной работе с использованием вертикальной цифровой съемки был проведен анализ надземной части сеянцев ели европейской и сосны обыкновенной, которые культивировались на различных субстратах (рис. 2). Регистрировались различия в площади зеленой части (хвои) растений на изображениях, полученных в вертикальной проекции (стационарная съемка сверху на расстоянии 0,5 м) на 91-е сутки культивирования. Площадь рассчитывалась в полуавтоматическом режиме с использованием программы *ImageJ*.

Исходя из данных, приведенных на рис. 2, площадь хвои у растений ели европейской была значительно меньше, чем у растений сосны обыкновенной. Для субстрата «PG mix 700» на 91-е сутки выращивания оцененная площадь хвои у сеянцев сосны была в 7–8 раз больше таковой у сеянцев ели. Единственным исключением являлся субстрат, содержащий капсульно-мембранное удобрение пролонгированного действия «Basacote», для которого разница между площадью хвои в вертикальной проекции у растений сосны и ели была небольшой (лишь около 30 %). Важно отметить, что при выращивании сеянцев ели европейской на субстрате «PG mix 700» при относительно слабом увеличении площади хвои растения отмечался сильный рост первичного побега в длину, превосходящий его рост на субстрате «Basacote» (см. рис. 1). В то же время как длина первичного побега, так и площадь хвои растений сосны обыкновенной, культивируемых на субстрате «PG mix 700», увеличивались очень интенсивно. Скорость роста сеянцев сосны на данном субстрате не уступала значениям, полученным для субстрата «Basacote». Наименее эффективным субстратом по отношению к увеличению площади хвои растения являлся субстрат «Биогумус» (см. рис. 2). Невысокие показатели роста сеянцев ели европейской были продемонстрированы при их выращивании на субстратах «PG mix 1000, раскисл.», «Organicum» и «ЦИОН» (см. рис. 2), при этом субстраты «ЦИОН» и «Organicum» оказались более эффективными для культивирования сеянцев сосны обыкновенной. Субстрат «Top Substra» показал относительно высокую эффективность по стимуляции роста хвои у сеянцев ели и более низкую эффективность по стимуляции роста хвои у сеянцев сосны. В то же время при выращивании сеянцев на данном субстрате наблюдалось слабое удлинение стволиков у обоих протестированных видов хвойных растений (см. рис. 1). Следует отметить, что использованные методы не отражают в полной мере влияния субстрата на рост хвои, однако они показывают возможность быстрой оценки физиологического состояния растений и их потенциального укоренения с применением доступных цифровых подходов.

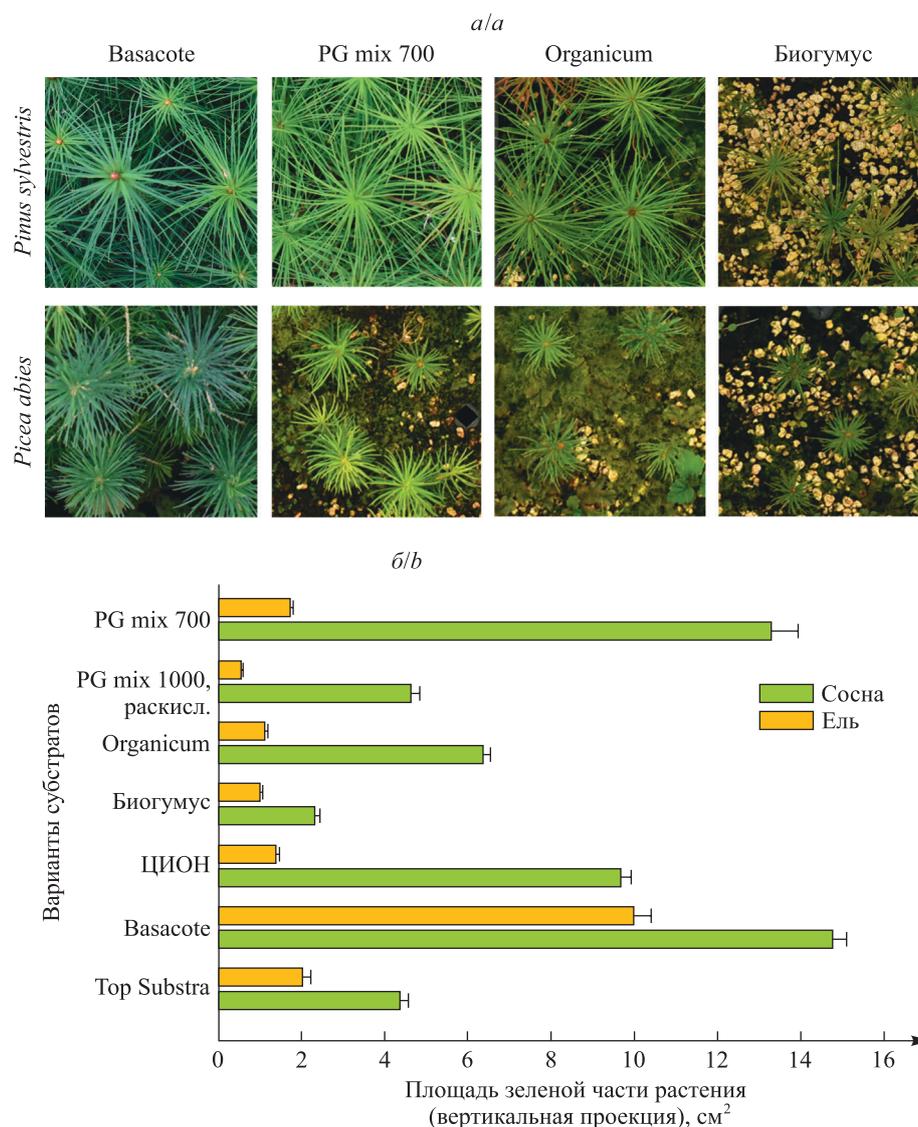


Рис. 2. Площадь зеленой части (хвои) сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской при культивировании на различных субстратах в течение 91 сут. По вертикальной оси указаны краткие названия субстратов, их составы см. в табл. 1. Данные представлены в виде средних значений (среднее значение \pm ошибка средней величины; $n = 192$). Измерения площади зеленой части растений в вертикальной проекции производились при помощи программы *ImageJ*

Fig. 2. Surface of green parts (needles) of seedlings of Scots pine and European spruce cultivated in different substrates during 91 days. The short names of the substrates are indicated by the vertical axis, their compositions see in table 1. The data are presented as mean (mean \pm standard error; $n = 192$). Measurements of green part of the plants in vertical direction was carried out using *ImageJ* software

В работе также был проведен анализ воды из скважины, использованной для полива. Как показали его результаты, вода имела средний уровень минерализации (353 мг/л), высокое содержание кальция (57,6 мг/л) и карбоната (247,1 мг/л), а также высокое значение pH (8,1), что является типичным для воды, используемой в Минском районе для полива питомников. Постоянный полив такой водой приводил к увеличению pH и обеспечивал растения Ca^{2+} (в связи с этим данный элемент не вводился с удобрениями или в виде подщелачивающего агента при раскислении торфяного субстрата). Известно, что уровень Ca^{2+} в питательном растворе должен составлять 1–10 ммоль/л для нормальной обеспеченности растения этим элементом [21]. Анализ изменения pH при культивировании сеянцев на всех протестированных субстратах выявил тенденцию к подщелачиванию среды (табл. 2). За 4 мес. наблюдений значения pH возрастали, в особенности на субстратах с добавлением органических удобрений, при этом для растений сосны обыкновенной эта тенденция проявлялась слабее. Для раскисленного субстрата значения pH (6,48 для ели и 6,79 для сосны) выходили за диапазон оптимальных значений для выращивания сеянцев

сосны (рН 4–5). Важно отметить, что стабильно низкий уровень рН наблюдался в субстратах «Basacote» и «PG mix 700», продемонстрировавших высокую эффективность по поддержанию роста сосны и ели (в субстрате «Basacote» величина рН составила 3,99 для сосны и 3,86 для ели, в субстрате «PG mix 700» – 3,31 для сосны и 3,35 для ели). Согласно литературным данным рН природных почв вблизи корневой системы сосны и ели значительно снижается по сравнению с рН на расстоянии 1 м и более от нее [22]. В непосредственной близости от корня рН составляет 3,1–3,5 для сосны и 3,3–3,7 для ели, повышаясь на 0,5–1,0 единицы на расстоянии 0,2–1,0 м от основного корня, т. е. в соответствии с литературными данными сосна демонстрирует несколько более высокую способность к подкислению почвенной среды, чем ель [22], что отмечено и в настоящей работе (см. табл. 2). Согласно ТУ ВУ 100061961.002-2015³ рекомендуемый уровень рН субстратов для выращивания семян сосны и ели составляет 2,8–3,5, что согласуется с данными о рН в прикорневой зоне этих растений [22]. Установленный в работе диапазон изменения рН при культивировании семян (см. табл. 2) указывает на то, что на 35-е сутки выращивания субстраты «Top Substra», «Basacote», «ЦИОН», «Биогумус» и «PG mix 700» демонстрировали поддержание оптимальных значений рН при поливе водой, вызывающей смещение рН в сторону более высоких значений. На 130-е сутки лишь субстраты «PG mix 700» (сосна и ель) и «ЦИОН» (только ель) демонстрировали рН в диапазоне, рекомендуемом действующими техническими условиями.

Проводимость (электропроводность) почвенного раствора отражает наличие растворенных минеральных элементов и является интегральным показателем ионно-минеральной обеспеченности субстрата и растущего растения. Наибольшие значения электропроводности почвенного раствора на старте опыта были у субстратов «Basacote», «PG mix 700» и «PG mix 1000, раскисл.», наименьшие – у субстрата «Top Substra» (см. табл. 2). На 35-е сутки по этому показателю лидировали субстраты «Basacote» и «PG mix 700», на 130-е сутки с большим отрывом лидировал субстрат «Basacote». В целом это отражает и успешность выращивания семян на данных субстратах: растения сосны и ели лучше росли именно на субстратах «Basacote» и «PG mix 700» (см. табл. 2).

Таблица 2

Уровень рН и электропроводность почвенного раствора протестированных субстратов

Table 2

Values of the pH and electrical conductivity of the soil solution of tested substrates

Сокращенное название субстрата	8 сут (без растений)	35 сут (сосна)	130 сут	
			сосна	ель
<i>Уровень рН</i>				
Top Substra	2,77	3,36	3,78	3,82
Basacote	3,04	3,32	3,99	3,86
ЦИОН	2,82	3,20	3,50	3,34
Биогумус	3,07	3,47	4,29	4,60
Organicum	3,04	4,08	4,09	5,40
PG mix 700	2,84	3,01	3,31	3,35
PG mix 1000, раскисл.	5,25	5,94	6,48	6,79
<i>Электропроводность почвенного раствора, мкСм/м</i>				
Top Substra	134,3	214,3	248,4	112,5
Basacote	655,4	1670,0	474,1	962,8
ЦИОН	128,8	156,9	97,02	139,7
Биогумус	182,6	261,1	136,8	114,9
Organicum	172,9	297,5	222,8	175,8
PG mix 700	907,7	1300,0	153,4	143,6
PG mix 1000, раскисл.	670,6	870,4	346,6	327,4

Примечание. Состав почвенных субстратов приведен в табл. 1.

³Субстраты торфяно-перлитные. Технические условия : ТУ ВУ 100061961.002-2015 / Респ. лесной селекц.-семеновод. центр. Минск : М-во лесного хоз-ва Респ. Беларусь, 2015. 12 с.

Хорошо известно, что внесение удобрений может ускорить рост побегов и корней древесных растений, изменить стационарное содержание минеральных веществ в тканях и, следовательно, количество доступных запасов элементов минерального питания, тем самым позволяя ускорить рост растений после высадки, а также повысить их устойчивость к водному стрессу, низким температурам и болезням [23; 24]. Эти свойства имеют крайне важное значение для успешного выживания ювенильных укореняющихся растений в неблагоприятных условиях [25; 26]. Форма доставки питательных веществ может существенно влиять на развитие сеянцев лесообразующих видов. Применение водорастворимых «обогащающих» удобрений (фертигация) к торфяным субстратам является нормой в лесных питомниках [27]. Тем не менее внесение в субстрат твердых удобрений с контролируемым высвобождением элементов питания представляет собой более современную и эффективную альтернативу фертигации [28]. В последние 20–30 лет были проведены исследования эффективности введения в почвенный субстрат удобрений пролонгированного действия для ряда хвойных растений, включая различные виды сосны и ели [29; 30]. Они показали не только эффективность данных удобрений по сравнению с обычными удобрениями, но и их высокую экологичность, проявляющуюся в низкой утечке минеральных элементов в почву. Кроме того, было продемонстрировано, что удобрения с контролируемым высвобождением элементов, представляющие собой капсулы с одной мембраной, такие как удобрения «Osmocote» и «Basacote», не оказывают токсического воздействия на сами хвойные растения в случае их культивирования с ЗКС, когда ограниченный объем субстрата чрезмерно обогащается элементами в обычной быстрорастворимой форме [31]. Примечательно, что разные виды удобрений, содержащие несколько мембран или матрицу различной природы, удерживающую элементы, были менее эффективными, чем удобрения «Osmocote» и «Basacote» с однослойной мембраной. В представленной работе удобрение «Basacote» продемонстрировало высокую эффективность, опережая по ростовым показателям сеянцев другие удобрения. Интересно, что добавка «Basacote» обеспечивала эффективное поддержание pH на низком уровне даже при использовании воды с высоким содержанием кальция и карбоната.

Немаловажным является и тот факт, что продолжительность высвобождения питательных веществ для удобрений пролонгированного действия, адаптированных к лесным питомникам, может быть увеличена до 16–24 мес., за счет чего обеспечивается поступление питательных веществ в течение всего цикла выращивания лесных культур [32] и даже после их пересадки на плантации [27; 33]. В то же время фертигация водорастворимыми удобрениями типа «PG mix» для обогащения торфа при более продолжительных, чем 3–4 мес., периодах выращивания требует дополнительной подкормки минеральными смесями, например специализированным удобрением «Kristalon» (*Yara*, Нидерланды), содержащим микроэлементы. В связи с этим можно заключить, что удобрения с контролируемым высвобождением элементов обладают более значительными преимуществами, чем большинство известных типов удобрений. Однако удобрения с контролируемым высвобождением элементов имеют высокую стоимость и являются менее выгодными для массового производства растений в питомниках, чем водорастворимые смеси типа «PG mix» или их аналоги. В целом полученные данные указывают на то, что, несмотря на высокую эффективность удобрений с контролируемым высвобождением элементов («Basacote»), при цене, в 3–4 раза превышающей цену водорастворимых удобрений, их использование пока может быть невыгодным для многих питомников.

Органические добавки в субстраты для выращивания сосны, ели и других лесообразующих древесных растений ранее обычно тестировались без сравнения их эффективности с эффективностью удобрений пролонгированного действия [34]. Следует отметить, что органические добавки в виде гуано, городских сточных вод, компостов и измельченных растительных остатков практически никогда не показывали большей эффективности, чем обычные быстрорастворимые удобрения, хотя и отличались значительно более высокой экологичностью и возможностью использования в органическом земледелии [35]. В настоящей работе было продемонстрировано, что органическая добавка в виде высушенного и простерилизованного куриного помета («Organicum») была эффективной на ранних этапах роста растений, вероятно обеспечивая быструю «отдачу» некоторых минеральных веществ, таких как азот, либо являясь источником органических веществ, в частности аминокислот, органических кислот и других метаболитов, которые могут стимулировать рост растений на ранних этапах роста и развития. Удобрение «Биогумус» показало низкую эффективность в проведенном исследовании, однако оно не было токсичным для сеянцев и поддерживало определенный уровень роста растений и минерализации почвенного раствора. При сравнении роста сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies* в течение 91 сут на субстратах, содержащих удобрения «Organicum» и «Basacote», последний продукт продемонстрировал значительно большую эффективность, что, несомненно, связано с более мощным и стабильным выделением питательных минеральных элементов (положительная корреляция с электропроводностью почвенного раствора).

В работе в качестве основы субстратов использовался фрезерный верховой торф с pH 2,7–3,5. Торф доступен с экономической и удобен с практической точки зрения, так как способен впитывать и удерживать воду и минеральные вещества. Он относится к гетеропористым системам (неоднородно пористым

веществам). Твердая составляющая торфа имеет волокнистую структуру, которая состоит из разложившихся остатков растений и агрегатов органических и органоминеральных комплексов [12]. Важнейшими органическими компонентами торфа являются гуминовые кислоты, обладающие значительной хелатирующей способностью и ионообменной емкостью [12]. Пористость и высокая ионообменная емкость по сути превращают торф в уникальный природный ионообменный субстрат с пролонгированным выделением минеральных элементов, который может быть легко обогащен минеральными веществами. Удобрение «PG mix», специально разработанное компанией *Yara* для минерального обогащения торфа, показало максимальную эффективность в представленной работе. Подобного рода минеральные смеси «экономичнее» удобрений пролонгированного действия типа «Basacote», отличающихся дорогостоящим процессом производства. В то же время субстрат с добавлением удобрения «Basacote» даже через 4 мес. демонстрировал очень высокую электропроводность почвенного раствора, т. е. был высокоэффективным для продолжительного выращивания сеянцев. В связи с этим дальнейшее развитие субстратов может идти путем смешения трех компонентов – удобрений «PG mix», «Basacote» и высушенного стерильного куриного помета. Эффективность таких смесей в будущем должна быть протестирована экспериментально.

Некоторые исследования (например, исследования, выполненные на томатах) показали незначительные изменения ростовых характеристик молодых растений, выращенных на чистом торфе и торфе с добавлением перлита, вермикомпоста, кокосовой стружки и леонардита [36], что указывает на низкую эффективность подобных добавок. Также пока отсутствуют достоверные литературные данные, подтверждающие высокую эффективность цеолитсодержащих удобрений. В целом это согласуется с полученными в настоящей работе результатами (отсутствии значительного улучшения роста под действием льняной костры, биогумуса, вермикулита и трепела).

Заключение

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать следующие выводы.

1. На ранних этапах роста (42 сут) сеянцы ели европейской демонстрировали наиболее значительный прирост на торфяно-перлитном субстрате, содержащем высушенный и простерилизованный куриный помет («Organicum»), что, возможно, связано с наличием в нем органических соединений и изначально высоким уровнем минеральных элементов. Сеянцы сосны обыкновенной, начиная с ранней фазы вегетации, лучше росли на субстратах с добавлением специализированного удобрения для обогащения торфа «PG mix» и удобрения пролонгированного действия «Basacote».

2. На более поздних этапах развития (56–91 сут) сеянцы ели европейской и сосны обыкновенной демонстрировали стабильно высокую динамику роста на субстратах с добавлением удобрения пролонгированного действия «Basacote» и специализированного удобрения для обогащения торфа «PG mix».

3. Сеянцы ели и сосны при культивировании в течение одного вегетационного сезона на субстратах «Биогумус», «ЦИОН» и «Top Substra» не проявляли высокой динамики роста и уступали по ростовым показателям сеянцам, культивируемым на субстратах «Basacote» и «PG mix 1000, раскисл.».

4. Субстратом, который превосходил по ростостимулирующей активности другие протестированные смеси в течение одного вегетационного сезона, являлся субстрат на основе торфа, перлита и водорастворимого удобрения «PG mix», представляющего собой минеральный состав, разработанный специально для обогащения торфа. Вероятно, за счет мелкодисперсной формы и особого соотношения минеральных солей микро- и макроэлементов данное удобрение наиболее эффективно насыщало капиллярно-пористую ионообменную матрицу торфа элементами, которые затем более эффективно поглощались корнями растений.

5. Эффективность субстратов положительно коррелировала с уровнем pH и электропроводностью почвенного раствора. Наибольшая скорость роста сеянцев наблюдалась в диапазоне pH 2,84–3,99 и при максимально высокой электропроводности почвенного раствора.

6. Раскисление торфа значительно снижало эффективность удобрения «PG mix». Использование для полива воды с высоким содержанием кальция и карбоната приводило к постепенному подщелачиванию протестированных почвенных субстратов, одновременно обеспечивая питательные потребности растений в кальции. В связи с этим на практике важно проводить мониторинг изменений pH почвенных субстратов при длительном культивировании хвойных растений в питомниках и учитывать влияние состава воды, используемой для полива плантаций.

Библиографические ссылки

1. Rodríguez SM, Ordás RJ, Alvarez JM. Conifer biotechnology: an overview. *Forests*. 2022;13(7):1061. DOI: 10.3390/f13071061.
2. Малашевич ДГ, Дашкевич ЕА. Лесное хозяйство Республики Беларусь: современное состояние и стратегические направления развития. *Актуальные проблемы лесного комплекса*. 2016;46:31–35. EDN: WZXJ JV.

3. Лапицкая ОВ. Проблемы управления лесным хозяйством Беларуси с целью перспективной организации производства. *Вестник Гомельского государственного технического университета имени П. О. Сухого*. 2021;3:36–43. EDN: YSTCQB.
4. Лебедев ЕВ. Минеральное питание и биологическая продуктивность основных лесообразующих пород Беларуси в онтогенезе. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности*. 2013;3:23–29. EDN: RCSTVX.
5. Толкач ИВ, Кравченко ОВ, Ожич ОС, Таркан АВ, Ильючик МА. Закономерности изменчивости спектральных яркостей полога основных лесообразующих пород Беларуси на снимках сканера ADS100. *Труды БГТУ. Серия 1, Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов*. 2017;2:43–49. EDN: YMIEBH.
6. Clyde D. Genomic insights into conifer evolution. *Nature Reviews Genetics*. 2022;23(3):136. DOI: 10.1038/s41576-022-00452-1.
7. Якимов НИ, Крук НК, Юренин АВ. Агротехника выращивания сеянцев сосны обыкновенной в условиях закрытого грунта. *Труды БГТУ. Серия 1, Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов*. 2018;1:25–30. EDN: GKROCQ.
8. Якимов НИ, Крук НК, Юренин АВ. Оценка показателей роста саженцев ели европейской в уплотненной школе. *Труды БГТУ. Серия 1, Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов*. 2017;1:50–54. EDN: ZWBYWZ.
9. Чернобровкина НП, Чернышенко ОВ, Егорова АВ, Зайцева МИ, Робонен ЕВ. Современные технологии выращивания посадочного материала хвойных пород и пути их совершенствования. *Лесной вестник*. 2016;20(6):6–14. EDN: WDWUWY.
10. Мухортов ДИ, Антропова АВ. Рост и развитие сеянцев сосны обыкновенной в контейнерах при использовании субстратов различной плотности слоения. В: Курбанов ЭА, Бартаев СА, Чумаченко СИ, Хлюстов ВК, Воробьев ОН, Терехин ЭА и др., редакторы. *Лесные экосистемы в условиях изменения климата: биологическая продуктивность и дистанционный мониторинг. Выпуск 5*. Йошкар-Ола: Поволжский государственный технологический университет; 2019. с. 42–53. DOI: 10.25686/2675.2019.5.58815.
11. Schmilewski G. The role of peat in assuring the quality of growing media. *Mires and Peat*. 2008;3:02. DOI: 10.19189/001c.128252.
12. Томсон АЭ, Наумова ГВ. *Торф и продукты его переработки*. Минск: Беларуская навука; 2009. 328 с.
13. Melo CA, de Oliveira LK, Goveia D, Fraceto LF, Rosa AH. Enrichment of tropical peat with micronutrients for agricultural applications: evaluation of adsorption and desorption processes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2014;25(1):36–49. DOI: 10.5935/0103-5053.20130265.
14. Asadu CO, Ezema CA, Ekwueme BN, Onu CE, Onoh IM, Adejon T, et al. Enhanced efficiency fertilizers: overview of production methods, materials used, nutrients release mechanisms, benefits and considerations. *Environmental Pollution and Management*. 2024;1:32–48. DOI: 10.1016/j.epm.2024.07.002.
15. Зайцева МИ, Робонен ЕВ, Чернобровкина НП. Использование порубочных остатков для приготовления торфяных субстратов при выращивании сеянцев сосны обыкновенной с закрытой корневой системой. *Лесной вестник*. 2010;1:4–8. EDN: KYOKZB.
16. Мухортов ДИ, Романов ЕМ. Утилизация органических отходов при искусственном лесовосстановлении. *Вестник Поволжского государственного технологического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование*. 2013;3:20–35. EDN: RCKOMJ.
17. Lemaire F, Dartigues A, Rivière LM. Physical and chemical characteristics of a ligno-cellulosic material. In: Maher MJ, editor. *Symposium on substrates in horticulture other than soils in situ; 1988 September 12–16; Dublin, Ireland*. [S. l.]: International Society for Horticultural Science; 1989. p. 9–22 (Acta horticulturae; number 238). DOI: 10.17660/ActaHortic.1989.238.1.
18. Тебенькова ДН, Лукина НВ, Воробьев РА, Орлова МА. Всхожесть семян и биометрические параметры сеянцев на субстратах из твердых отходов целлюлозно-бумажной промышленности. *Лесоведение*. 2014;6:31–40. EDN: TEUWUT.
19. Dovzhenko AP, Yapyntseva OA, Sinyashin KO, Doolotkeldieva T, Zairov RR. Recent progress in the development of encapsulated fertilizers for time-controlled release. *Heliyon*. 2024;10(15):e34895. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e34895.
20. Редько ГИ, Огиевский ДВ, Наквасина ЕН, Романов ЕМ. *Биоэкологические основы выращивания сеянцев сосны и ели в питомниках*. Москва: Лесная промышленность; 1983. 64 с.
21. Demidchik V, Shabala S, Isayenkov S, Cuin TA, Pottosin I. Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. *New Phytologist*. 2018;220(1):49–69. DOI: 10.1111/nph.15266.
22. Pallant E, Riha SJ. Surface soil acidification under red pine and Norway spruce. *Soil Science Society of America Journal*. 1990;54(4):1124–1130. DOI: 10.2136/sssaj1990.03615995005400040034x.
23. Grossnickle SC. *Ecophysiology of Northern spruce species: the performance of planted seedlings*. Ottawa: NRC Research Press; 2000. XII, 407 p.
24. Olié J, Planelles R, Segura ML, Artero F, Jacobs DF. Mineral nutrition and growth of containerized *Pinus halepensis* seedlings under controlled-release fertilizer. *Scientia Horticulturae*. 2004;103(1):113–129. DOI: 10.1016/j.scienta.2004.04.019.
25. Hakkarainen A, Kasanen E, Puttonen V. Foreign exchange risk management: evidence from Finland. *Managerial Finance*. 1997;23(7):25–44. DOI: 10.1108/eb018633.
26. Birchler T, Rose RW, Royo A, Pardos M. La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*. 1998;7(1–2):109–121.
27. Timmer VR, Aidelbaum AS. *Manual for exponential nutrient loading of seedlings to improve outplanting performance on competitive forest sites*. Sault Ste. Marie: Great Lakes Forestry Centre; 1996. 29 p. Report No.: TR-25.
28. Priya E, Sarkar S, Maji PK. A review on slow-release fertilizer: nutrient release mechanism and agricultural sustainability. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2024;12(4):113211. DOI: 10.1016/j.jece.2024.113211.
29. Kaakinen S, Jolkkonen A, Iivonen S, Vapaavuori E. Growth, allocation and tissue chemistry of *Picea abies* seedlings affected by nutrient supply during the second growing season. *Tree Physiology*. 2004;24(6):707–719. DOI: 10.1093/treephys/24.6.707.
30. Huett DO, Gogel BJ. Longevity and nitrogen, phosphorus, and potassium release patterns of polymer-coated controlled-release fertilizers at 30 °C and 40 °C. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2000;31(7–8):959–973. DOI: 10.1080/00103620009370490.
31. Fu Y, Olié JA, Li G, Wang J. Effect of controlled release fertilizer type and rate on mineral nutrients, non-structural carbohydrates, and field performance of Chinese pine container-grown seedlings. *Silva Fennica*. 2017;51(2):1607. DOI: 10.14214/sf.1607.
32. Benson RB. Fertilizer technology. In: Haase DL, Rose R, editors. *Forest seedling nutrition from the nursery to the field. Proceedings of the symposium; 1997 October 28–29; Corvallis, USA*. Corvallis: Nursery Technology Cooperative, Oregon State University; 1997. p. 5–9.

33. Reddell P, Gordon V, Hopkins MS. Ectomycorrhizas in *Eucalyptus tetrodonta* and *E. miniata* forest communities in tropical northern Australia and their role in the rehabilitation of these forests following mining. *Australian Journal of Botany*. 1999;47(6): 881–907. DOI: 10.1071/bt97126.

34. Landis TD, Dumroese RK. Using organic fertilizers in forest and native plant nurseries. In: Haase DL, Pinto JR, Riley LE, technical coordinators. *National proceedings: forest and conservation nursery associations – 2011*. Fort Collins: Rocky Mountain Research Station, USDA Forest Service; 2012. p. 45–52 (USDA Forest Service proceedings; RMRS-P-68).

35. Schuch UK, Mahato TR, Subramani J, Martin EC. Response of desert-adapted landscape trees to deficit irrigation. In: Snyder RL, Ortega-Farias S, Carlile WR, Raviv M, Nichols M, Clothier B, et al., editors. *29th International horticultural congress on horticulture: sustaining lives, livelihoods and landscapes (IHC2014). Proceedings of the International symposia on water, eco-efficiency and transformation of organic waste in horticultural production; 2014 August 17–22; Brisbane, Australia*. [S. l.]: International Society for Horticultural Science; 2016. p. 193–200 (Acta horticulturae; number 1112). DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1112.27.

36. Erdal İ, Aktaş H, Yaylacı C, Türkan ŞA, Aydın G, Hor Y. Effects of peat based substrate combinations on mineral nutrition, growth and yield of tomato. *Journal of Plant Nutrition*. 2024;47(1):30–48. DOI: 10.1080/01904167.2023.2265969.

Получена 04.03.2025 / исправлена 14.03.2025 / принята 14.03.2025.
Received 04.03.2025 / revised 14.03.2025 / accepted 14.03.2025.

Авторы:

Вероника Евгеньевна Артишевская – соискатель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Антонина Юрьевна Шашко – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии и биотехнологии растений кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Александр Анатольевич Овсей – заместитель директора, начальник научно-исследовательского отдела.

Рената Сергеевна Неделько – студентка биологического факультета. Научный руководитель – А. Ю. Шашко.

Владислав Юрьевич Бондаренко – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Мария Александровна Черныш – заведующий учебной лабораторией биоинженерии растений и ландшафтного дизайна биологического факультета.

Полина Вацлавовна Гривусевич – кандидат биологических наук; доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Оксана Геннадьевна Яковец – кандидат биологических наук, доцент; заведующий кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Николай Афанасьевич Ламан – доктор биологических наук, академик НАН Беларуси, профессор; заведующий лабораторией роста и развития растений.

Анатолий Иосифович Соколик – кандидат биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательской лабораторией физиологии и биотехнологии растений кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси, профессор; главный научный сотрудник лаборатории роста и развития растений.

Authors:

Veronika E. Artishevskaya, competitor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. artvic@bsu.by

Antonina Yu. Shashko, junior researcher at the laboratory of plant physiology and biotechnology, department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

antonina.shashko@gmail.com

Alexander A. Ovsey, deputy director, head of the research department.

nauka@rlssc.by

Renata S. Nedelko, student at the faculty of biology.

prostorenata2001@gmail.com

Uladzislau Yu. Bandarenka, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

bandarenka@bsu.by

Maryia A. Charnysh, head of the training laboratory of plant bioengineering and landscape design, faculty of biology.

charnyshma@bsu.by

Palina V. Hryvusevich, PhD (biology); associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

hryvusevich@bsu.by

Oksana G. Yakovets, PhD (biology), docent; head of the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

yakovets@inbox.ru

Nikolai A. Laman, doctor of science (biology), academician of the National Academy of Sciences of Belarus, full professor; head of the laboratory of plant growth and development.

nikolai.laman@gmail.com

Anatoliy I. Sokolik, PhD (biology), docent; head of the laboratory of plant physiology and biotechnology, department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

sokolik@bsu.by

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, full professor; chief researcher at the laboratory of plant growth and development.

demidchik@botany.by

КУРИНЫЙ ПОМЕТ КАК СТИМУЛЯТОР БИОДЕГРАДАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ: ОБЗОР

М. И. МАНДРИК¹⁾, А. Ю. МАКСИМОВИЧ¹⁾,
В. М. КОПТЕЛОВА¹⁾, А. Г. ТЕРЕШКО¹⁾, А. В. КУЛИК¹⁾,
Е. С. ЛУКЪЯНЧУК¹⁾, Е. А. ГРИБАНОВА¹⁾, С. Л. ВАСИЛЕНКО¹⁾

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

Аннотация. Представлены сведения о химическом составе куриного помета, его микробиологическая характеристика. Основное внимание уделено применению куриного помета в качестве стимулятора биodeградации углеводородов нефти (нефти, дизельного топлива, полициклических ароматических углеводородов). Куриный помет является основным по объему отходом птицеводства, который может быть использован в качестве ценного удобрения, так как он содержит азот, фосфор, калий, железо и различные микроэлементы. Возможность применения куриного помета в качестве стимулятора биodeградации углеводородов нефти обусловлена содержанием в нем не только биогенных элементов, макро- и микроэлементов, необходимых бактериям-деструкторам, но и самих бактерий-деструкторов, а также углеродных косубстратов для деградации трудноразлагаемых углеводородов. С указанной целью куриный помет может использоваться как самостоятельно, так и в комплексе с другими добавками (биокомпостом, биосурфактантами, бактериями-деструкторами, минеральными солями). Внесение куриного помета в почву может приводить к повышению в ней температуры, что также способствует более активному протеканию деградации нефтепродуктов. В результате обработки загрязненных почв куриным пометом снижается их токсичность для растений и тест-объектов, таких как *Photobacterium phosphoreum* и *Paramecium caudatum*.

Ключевые слова: куриный помет; микробиота; микроорганизмы-деструкторы; углеводороды нефти; полициклические ароматические углеводороды; ПАУ; стимуляция биodeградации; эффективность деградации.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» (задание 3.10.2) при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Министерства образования Республики Беларусь (гранты № Б23М-083 и Б24МВ-009).

Образец цитирования:

Мандрик МИ, Максимович АЮ, Коптелова ВМ, Терешко АГ, Кулик АВ, Лукьянчук ЕС, Грибанова ЕА, Василенко СЛ. Куриный помет как стимулятор биodeградации углеводородов нефти: обзор. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:58–65.
EDN: RRYEHM

For citation:

Mandryk MI, Maksimovich AYU, Kaptselava VM, Tsiareshka AG, Kulik AV, Lukyanchuk YeS, Gribanova EA, Vasylenko SL. Chicken manure as a stimulator of the oil hydrocarbons biodegradation: review. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2:58–65. Russian.
EDN: RRYEHM

Авторы:

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

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

Валерия Максимовна Коптелова – студентка биологического факультета. Научный руководитель – М. И. Мандрик.

Антон Геннадьевич Терешко – студент биологического факультета. Научный руководитель – М. И. Мандрик.

Арсений Вячеславович Кулик – студент биологического факультета. Научный руководитель – М. И. Мандрик.

Елена Сергеевна Лукьянчук – студентка биологического факультета. Научный руководитель – М. И. Мандрик.

Екатерина Александровна Грибанова – старший преподаватель кафедры микробиологии биологического факультета.

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

Authors:

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

charynmi@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0002-9225-8126>

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

larch.alina@gmail.com

Valeryia M. Kaptselava, student at the faculty of biology.

koptelovalera22@gmail.com

Anton G. Tsiareshka, student at the faculty of biology.

teres_96@mail.ru

Arseni V. Kulik, student at the faculty of biology.

arseniikulichok@gmail.com

Yelena S. Lukyanchuk, student at the faculty of biology.

elenalukancuk3@gmail.com

Ekaterina A. Gribanova, senior lecturer at the department of microbiology, faculty of biology.

gribanova@bsu.by

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

vasylenko@tut.by

<https://orcid.org/0009-0003-6036-1705>

CHICKEN MANURE AS A STIMULATOR OF THE OIL HYDROCARBONS BIODEGRADATION: REVIEW

M. I. MANDRYK^a, A. Yu. MAKSIMOVICH^a,
V. M. KAPTSELAVA^a, A. G. TSIARESHKA^a, A. V. KULIK^a,
Ye. S. LUKYANCHUK^a, E. A. GRIBANOVA^a, S. L. VASYLENKO^a

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

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

Abstract. Information on the chemical composition of chicken manure and its microbiological characteristics is presented. The main focus is on the use of chicken manure as a stimulator of the biodegradation of oil hydrocarbons (crude oil, diesel fuel, polycyclic aromatic hydrocarbons). Chicken manure is the main waste product of poultry farming, which can be used as a valuable fertiliser, as it contains nitrogen, phosphorus, potassium, iron and various trace elements. The possibility of using chicken manure as a stimulator of oil hydrocarbons biodegradation is due to its content of not only biogenic elements, macro- and microelements necessary for decomposer bacteria, but also the decomposer bacteria themselves, as well as carbon cosubstrates for the degradation of difficult-to-decompose hydrocarbons. For this purpose, chicken manure can be used either independent or in combination with other additives (biocompost, biosurfactants, decomposer bacteria, mineral salts). Applying chicken manure to the soil can lead to an increase in its temperature, which also contributes to more active degradation of oil products. As a result of treating contaminated soils with chicken manure, their toxicity to plants and test objects such as *Photobacterium phosphoreum* and *Paramecium caudatum* is reduced.

Keywords: chicken manure; microbiota; decomposer microorganisms; oil hydrocarbons; polycyclic aromatic hydrocarbons; ПАУ; stimulation of biodegradation; degradation effectiveness.

Acknowledgements. This work was carried out within the framework of the state programme of scientific research «Biotechnologies-2» (assignment 3.10.2) with financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and the Ministry of Education of the Republic of Belarus (grants No. B23M-083 and B24MV-009).

Введение

Очистка загрязненных экосистем и обезвреживание производственных отходов, объемы которых возрастают с каждым годом, выступают важными задачами современной экологии. Одними из приоритетных загрязнителей являются углеводороды нефти¹ [1]. Самовосстановление экосистем, загрязненных углеводородами, занимает продолжительное время, вплоть до десятков лет, а при масштабных загрязнениях этот процесс и вовсе становится невозможным [2]. Основными способами удаления углеводородсодержащих отходов на предприятиях Беларуси являются их захоронение на специальных площадках и хранение на территории самого предприятия, что требует выделения довольно больших площадей, однако в целом не решает проблемы².

В настоящее время существует множество методов очистки экосистем и обезвреживания отходов, загрязненных нефтью и продуктами ее переработки. Среди них можно выделить физические, химические и биологические методы. Каждая группа методов имеет свои достоинства и недостатки, а также ограничения в применении. Физические и химические методы, в отличие от биологических методов, могут использоваться при более высоких концентрациях загрязнителя и обеспечить его быстрое удаление. Однако из-за того, что в ходе химических реакций загрязнитель может как обратимо, так и необратимо преобразовываться из одной формы в другую (не менее, а иногда и более токсичную), высока вероятность вторичных загрязнений³ [1; 3]. При применении методов сорбции появляется проблема регенерации или утилизации использованных сорбентов. Во время сжигания загрязненных грунтов и сорбентов в атмосферу поступают значительные объемы парниковых газов и других токсичных продуктов сгорания. Очистка грунтов методом сжигания требует их изъятия и транспортировки к месту нахождения пиролизных печей, что сопряжено с дополнительными затратами. В случае с загрязнениями относительно невысокой концентрации применение этого метода представляется экономически необоснованным [1; 4].

¹Другов Ю. С., Родин А. А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов : практ. рук. 2-е изд., перераб. и доп. М. : Бином. Лаб. знаний, 2009. 270 с.

²Официальная статистическая информация об обращении с отходами производства за 2022 год // Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь : сайт. URL: <https://www.minpriroda.gov.by/uploads/files/nalichie-otkhodov-za-2022.docx> (дата обращения: 20.05.2024).

³Другов Ю. С., Родин А. А. Экологические анализы... 270 с.

Важными преимуществами использования биологических методов являются возможность очистки почвы без ее изъятия из места загрязнения, эффективность при относительно низкой степени загрязнения, а также возможность восстановления микробиоценоза почвы [5]. Несмотря на то что к настоящему времени разработано немало биопрепаратов для ремедиации загрязненных сред, технологии биоремедиации требуют дальнейшего развития для повышения их эффективности и скорости. С этой целью могут быть использованы различные стимуляторы, в качестве которых в основном выступают комплексы минеральных удобрений. Однако интерес представляют альтернативные возобновляемые источники питательных элементов, например отходы животноводства. Применительно к биодеградации углеводородов они могут стать не только источником недостающих биогенных элементов и микроэлементов, но и сорбентом нефтепродуктов, носителем интродуцируемых микроорганизмов-деструкторов, источником органических субстратов для кометаболизма трудноразлагаемых соединений (например, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ)). Согласно ряду исследований птичий помет более эффективен в качестве стимулятора биодеградации углеводородов, он характеризуется более высокой степенью биодоступности азота, чем навоз крупного рогатого скота, козий и свиной навоз. Кроме того, именно птицеводство является наиболее распространенной и динамично развивающейся отраслью животноводства [6–9].

Цель данной работы – обзор исследований, посвященных применению куриного помета в качестве стимулятора биодеградации нефтепродуктов в почве.

Состав куриного помета

Птицеводство является интенсивно развивающейся отраслью промышленности как в Беларуси, так и во всем мире [9]. С одной стороны, благодаря ему потребители получают разнообразную и относительно дешевую продукцию, выступающую источником белка. С другой стороны, птицеводство несет определенную экологическую угрозу в виде довольно большого объема образующихся отходов: птичьего помета, мертвых тушек, пуха, перьев, материала подстилок [10–12].

Птичий, в частности куриный, помет служит ценным удобрением – источником азота, фосфора и калия. Концентрация этих элементов в курином помете в основном зависит от рациона кур и может варьироваться в широких пределах. Так, в сухом веществе содержится 1,22–7,11 % азота, 0,03–3,90 % фосфора и 0,90–2,44 % калия. Избыточное внесение в почву куриного помета с высоким уровнем фосфора может привести к ее загрязнению фосфатами [13–15]. Следует отметить, что в курином помете присутствуют такие элементы, как кальций, магний, медь, цинк, свинец, хром, кадмий, марганец, никель, кобальт, сера, железо и др. [4; 11; 13; 14].

Большая часть соединений в курином помете представлена органическими веществами. В сухом веществе содержится 28,40–37,10 % сырого белка, 4,37 % жирных кислот, 14,38–14,49 % целлюлозы, 20,48–21,66 % гемицеллюлозы и 4,54–7,83 % лигнина [13; 16]. Примерное соотношение углеводородов нефти и азота в курином помете составляет 15,69 : 1,00 [13], что способствует быстрому протеканию биоминерализации [8].

Таким образом, куриный помет может служить источником всех основных элементов, необходимых для биодеградации. Внесение помета в почву поможет обеспечить оптимальное соотношение углеводородов нефти и азота, нарушенное при ее загрязнении углеводородами [17].

Микробиота куриного помета

Куриный помет характеризуется высоким биоразнообразием. С помощью методов высокопроизводительного секвенирования микробиома куриного помета установлено, что в нем доминируют бактерии, относящиеся к типам Firmicutes и Bacteroidetes, а также присутствуют виды типов Proteobacteria, Actinobacteria и Cyanobacteria. В помете некоторых региональных популяций кур наиболее часто встречаются бактерии родов *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Escherichia*, *Prevotella*, *Se-lenomonas*, *Streptococcus*, *Megasphaera*, *Fusobacterium* и *Bifidobacterium* [18]. Среди бактерий куриного помета присутствуют и представители, способные утилизировать углеводороды нефти. Например, к ним относятся бактерии *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Serratia* spp., *Flavobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Klebsiella* spp. и *Micrococcus* spp. [19–22].

Патогенные бактерии представлены граммотрицательными бактериями *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Myroides odoratus*, *M. odoratimimus*, *Providencia rettgeri*, *Ochrobactrum intermedium*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter johnsonii*, *Klebsiella aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Bilophila wadsworthia*, *Oblitimonas alkaphila*, *Weeksella*, грамположительными бактериями *Clostridium* sp., *Mycobacterium* spp., *Staphylococcus lentus*, *S. aureus* и др. [14; 18; 23]. Стоит отметить, что состав микробиома куриного помета изменчив. В частности, биоразнообразие патогенов варьируется в помете, полученном из разных хозяйств.

Патогенные микроорганизмы куриного помета являются носителями генов антибиотикорезистентности [14; 18; 23; 24] к таким препаратам, как амоксициллин, хлорамфеникол, тетрациклин, ванкомицин, цефотаксим, имипенем, ципрофлоксацин, гентамицин, тобрамицин, макролиды и др. Обнаружены изоляты *E. coli* и *M. odoratus*, устойчивые к 9 и 11 антибиотикам разных групп соответственно. С целью снизить содержание патогенной микробиоты и предотвратить распространение генов антибиотикорезистентности перед использованием куриного помета в качестве удобрения производится его обработка. Эффективными технологиями являются компостирование и переработка личинками черной львинки [10–13; 18; 23]. В качестве альтернативного способа обеззараживания куриного помета предлагается его обработка ультрафиолетовым излучением, ультразвуком или электрическим полем [16; 25–27].

В курином помете обнаруживаются мицелиальные грибы родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Rhizopus*, а также дрожжи рода *Candida* [22; 25; 28].

Куриный помет как стимулятор биодegradации углеводов нефти

Применение куриного помета в качестве стимулятора биодegradации углеводов нефти в почве может решить одновременно несколько проблем, таких как использование его избыточного количества, очистка загрязненных почв, снижение потребления минеральных источников азота, фосфора, калия и железа. В процессе биодegradации углеводов куриный помет может быть источником углеродных косубстратов для дegradации труднорастворимых углеводов (в частности, ПАУ), а также источником микроорганизмов-деструкторов, азота, фосфора, калия, железа и других элементов, необходимых этим микроорганизмам при биоремедиации [20; 29]. В качестве стимулятора дegradации углеводов нефти куриный помет может использоваться либо самостоятельно [22; 30–32], либо в комплексе с другими добавками [33; 34]. При обобщении данных, полученных разными исследователями, было определено, что отличаются дизайн эксперимента (в большинстве работ не указываются тип почвы и состав используемого помета, в широких пределах варьируются состав и концентрация загрязнителя, вносятся разные концентрации помета, в системе применяются либо не применяются разные типы разрыхлителей) и методы экстракции и анализа остаточных углеводов (хроматография или УФ-спектроскопия). В то же время все проанализированные работы свидетельствуют о возможности использования куриного помета в качестве эффективного стимулятора биодegradации углеводов в почве.

В исследовании [20] показано, что внесение в почву необработанного куриного помета (содержание азота составляет 3,65 %, фосфора – 1,89 %) в концентрации 1; 10 и 20 мас. % привело к увеличению эффективности дegradации дизельного топлива (начальная концентрация загрязнителя составляет 3000 мг/кг, время инкубирования – 5 недель) до 76; 79 и 74 % соответственно, в то время как в контроле данный показатель составлял 58 %.

Г. О. Адамс и его коллеги также выявили, что изменение концентрации птичьего помета в пределах 10–30 %⁴ практически не сказывалось на эффективности дegradации нефти в почве. Внесение в почву 10–30 % птичьего помета (высушенного и измельченного) повышает степень дegradации нефти до 82–84 % (значение достигается за 50 дней). В контрольных образцах этот показатель был равен 35 % при начальном уровне загрязнения 3110 мг/кг. Вместе с тем существенной разницы между образцами, в которые вносили 10; 20 или 30 % куриного помета, ни в динамике дegradации нефти, ни в конечной точке выявлено не было [30].

Российские исследователи разработали способ ремедиации нефтезагрязненного грунта, предусматривающий внесение в него куриного помета в концентрации 1–5 об. %, частично ферментированного компоста (3–5 %), изготовленного из навоза (коровьего, конского или свиного) в смеси с растительными материалами, а также разрыхлителя (соломы, щепы, коры, опила) до достижения общей пористости не менее 25 %. Для поддержания оптимальной температуры использовался укрывной материал. При обработке производился контроль уровня pH и его поддержание в пределах значений 6–8 посредством добавления карбоната или сульфата кальция. Оптимальная концентрация азота и фосфора обеспечивалась внесением соответствующих минеральных солей. В результате использования данного способа достигалось снижение концентрации нефтепродуктов в почве (исходная концентрация составляла 10,2 мас. %) на 50,7 % в течение 30 дней и на 90,1 % в течение 90 дней. Также исследователи привели данные о фракционном составе нефтепродуктов, свидетельствующие о наиболее эффективном разложении парафиновой фракции и менее эффективной биодegradации смол и асфальтенов [33].

⁴Здесь и далее при указании концентрации вносимых в почву веществ используется только знак процента, если в исследовании не уточняется, какая доля имеется в виду – объемная или массовая.

С. У. Оджой и его коллеги выявили, что куриный помет в концентрации 10 и 20 об. % стимулирует деградацию дизельного топлива в почве. Эффективность стимуляции зависела от начальной степени загрязнения. При загрязнении почвы дизельным топливом в концентрации 5 мас. % степень его деградации после внесения куриного помета увеличилась в 2–3 раза (до 60 и 76 % при внесении 10 и 20 об. % помета соответственно) за 84 дня, в то время как в контроле она составляла 25 %. В случае загрязнения почвы дизельным топливом в концентрации 10 мас. % эффективность его деградации в контроле составляла 35 %, а после внесения куриного помета в концентрации 10 и 20 об. % она возросла всего до 46 и 52 % соответственно. В течение 336 дней наилучшие результаты были зафиксированы в отношении почвы, загрязненной дизельным топливом в концентрации 5 мас. % и обработанной куриным пометом в количестве 20 об. %: эффективность деградации топлива в почве составила 96 % [35].

В рамках проведения исследования [22] повышение концентрации птичьего помета в загрязненной почве с 10 до 50 мас. % привело к увеличению эффективности деградации нефти (начальная концентрация составляла 6609,83 мг/кг). В течение 6 недель эффективность деградации нефти в контроле достигла 36 %. При внесении 10; 30 и 50 мас. % куриного помета она увеличилась до 42; 52 и 75 % соответственно.

Выявлено, что при внесении в почву птичьего помета в концентрации 25 % существенно повышается скорость биодеградации ПАУ, таких как нафталин, антрацен, фенантрен, пиррол, флуорен, пирен, хризен, флуорантен, бензопирен, причем без внесения данного стимулятора концентрация некоторых из этих соединений практически не снижается в течение 19 мес. [31]. Кроме того, зафиксировано значительное возрастание (на два порядка) количества культивируемых микроорганизмов в загрязненных почвах (с $7,39 \cdot 10^5$ до $4,77 \cdot 10^7$ КОЕ/г).

В исследовании [34] птичий помет (высушенный и измельченный) был успешно использован в комплексе с консорциумом микроорганизмов-деструкторов (*Micrococcus* sp. GS2-22, *Bacillus* sp. DS6-86, *Corynebacterium* sp. GS5-66, *Flavobacterium* sp. DS5-73 и *Pseudomonas* sp. DS10-129) и рамнолипидами, продуцируемыми бактериями *Pseudomonas* sp. DS10-129, для повышения эффективности деградации нефтепродуктов. В качестве разрыхлителя применялось кокосовое волокно. После внесения в почву всех добавок (кокосового волокна, птичьего помета, консорциума деструкторов, рамнолипидов) в концентрации 0,1 % эффективность деградации нефтепродуктов составила 67,0 %, а после повышения концентрации добавок до 1,0 % она возросла до 77,3 % за 60 дней. В течение следующих 30 дней значимое снижение концентрации нефтепродуктов не наблюдалось. Внесение в почву только микробного консорциума обеспечило эффективность деградации нефтепродуктов до 36,7 и 39,0 % за 60 и 90 дней соответственно. В то же время в контроле эффективность деградации нефтепродуктов составляла около 2 %.

А. Х. Сафаров и его коллеги использовали куриный помет в комплексе с бактериями-деструкторами *Rhodococcus erythropolis* AC81339Д для очистки почвы, загрязненной нефтью в концентрации 3 мас. %. В течение 60 дней эффективность деградации нефти достигла 73,4 % при внесении помета в количестве 5 %, а при внесении помета в количестве 10 % она составила 24,5 %. При использовании только куриного помета (в концентрации 5 и 10 %) значение этого показателя снижалось (до 45,2 и 9,0 %). В случае внесения в почву бактерий без помета степень деградации нефти составила 54,5 %. В контроле значение эффективности деградации нефти в почве было равным 12,1 % [11].

В работах [32; 36] показано, что птичий помет, по сравнению с минеральным комплексом удобрений и навозом свиней, коз, наиболее эффективно стимулирует биодеградацию керосина и дизельного топлива. При проведении исследования [7] было выявлено, что вносимые минеральные удобрения, напротив, оказывали более хороший стимулирующий эффект, чем куриный помет и навоз крупного рогатого скота, что можно объяснить более высоким содержанием азота в удобрениях.

Установлено, что внесение птичьего помета нейтрализует или снижает негативное действие дизельного топлива и нефти на растения [11; 37], благоприятно влияет на фитобиоремедиацию почвы, загрязненной нефтепродуктами, а также на почвенное микробное сообщество [38]. Ряд исследователей проводили тесты для определения токсичности загрязненных почв на таких объектах, как *Photobacterium phosphoreum* и *Paramecium caudatum* [11; 39]. В результате было выявлено, что токсичность загрязненных почв, обработанных куриным пометом, снижается, т. е. в процессе биотрансформации углеводородов нефти не образуются более токсичные продукты.

При внесении куриного помета в качестве стимулятора биодеградации нефтепродуктов в почве может наблюдаться повышение температуры. Так, в исследовании [40] температура загрязненной почвы, обработанной пометом, была выше (примерно на 5 °С), чем в контрольном образце, не обработанном пометом. Такой эффект связывают с высоким содержанием азота в курином помете, вследствие чего активно развивается микробиота. Повышение температуры при внесении куриного помета может способствовать ускорению биоремедиации.

На основе данных, полученных разными исследователями, были выявлены следующие закономерности.

Во-первых, эффективность деградации нефтепродуктов в большой степени зависит от типа почвы, о чем свидетельствует вариация контрольных значений эффективности деградации от 2 до 58 % в разных исследованиях. Зависимость этого параметра от типа и концентрации (в пределах 3000–100 000 мг/кг) загрязнителя не прослеживается.

Во-вторых, при повышении концентрации загрязнителя (в диапазоне 3000–102 000 мг/кг) наблюдается возрастание скорости деградации нефтепродуктов в почве. В таблице представлено сравнение результатов исследований [20; 22; 30; 33; 35], при проведении которых в качестве стимулятора в почву вносился только куриный помет. По всей вероятности, наиболее интенсивно процессы деструкции углеводов протекают в первые 30–49 дней, после чего скорость замедляется, так как остаются труднодоступные субстраты (ПАУ, смолы и асфальтены), а питательные вещества помета исчерпываются.

**Сравнительный анализ скорости деградации нефтепродуктов
в почве при внесении в нее куриного помета**

**Comparative analysis of the rate of oil products degradation
in soil after chicken manure adding to it**

Загрязнитель	Концентрация загрязнителя в почве, мг/кг	Время инкубирования, сут	Концентрация помета, %	Эффективность деградации, %	Удельная скорость деградации загрязнителя, %/сут	Скорость деградации загрязнителя, мг/сут	Источник
Дизельное топливо	3000	35	0 (контроль)	58,0	1,66	49,71	[20]
		35	1	76,0	2,17	65,14	
		35	10	79,0	2,26	67,71	
		35	20	74,0	2,11	63,43	
Нефть	3110	49	0 (контроль)	35,0	0,71	22,21	[30]
		49	10	83,60	1,71	53,06	
		49	20	82,47	1,68	52,34	
		49	30	84,24	1,72	53,47	
Нефть	6609	42	0 (контроль)	36,0	0,86	56,65	[22]
		42	10	42,0	1,0	66,09	
		42	30	52,0	1,24	81,83	
		42	50	75,0	1,79	118,02	
Дизельное топливо	50 000	84	0 (контроль)	25,0	0,30	148,81	[35]
		84	10	60,0	0,71	357,14	
		84	20	76,0	0,90	452,38	
	100 000	84	0 (контроль)	35,0	0,42	416,67	
		84	10	46,0	0,55	547,62	
		84	20	52,0	0,62	619,05	
Нефть	102 000	30	1–5	50,70	1,69	1723,80	[33]
		90	1–5	90,10	1,0	1021,13	

В-третьих, при повышении концентрации вносимого в почву куриного помета скорость деградации загрязнителя если и нарастает, то нелинейно. По этой причине экономически наиболее целесообразными вариантами видятся внесение в почву помета в концентрации 1–10 мас. % и повторная обработка почвы через 30–49 дней.

Заключение

Использование куриного помета в качестве стимулятора биодegradации углеводов нефти как самостоятельно, так и в комплексе с другими добавками (компостом, биосурфактантами, бактериями-деструкторами) является перспективной технологией биоремедиации. Несмотря на большое количество проведенных исследований в разных странах, остается актуальным определение оптимальной концентрации вносимого в почву помета или метода ее расчета при очистке грунтов разной степени загрязненности. В рассмотренных исследованиях концентрация вносимого куриного помета варьировалась от 0,1

до 50,0 %. Вместе с тем в одних исследованиях повышение концентрации куриного помета не влияло на эффективность деградации нефтепродуктов в почве или приводило к ее увеличению, а в других исследованиях данная мера приводила к ее снижению. Вероятно, результат зависит от предварительной подготовки помета, а также от типа почвы и состояния микробного сообщества в ней. Этап подготовки помета является немаловажным, так как в ходе него обеспечивается снижение содержания в помете патогенной микробиоты, в том числе такой, которая несет гены антибиотикорезистентности. При использовании куриного помета как стимулятора биodeградации углеводов нефти предварительная обработка может включать мероприятия по увеличению содержания бактерий-деструкторов. Также представляет интерес разработка микробных препаратов, которые в комплексе с птичьим пометом будут способствовать более эффективному и быстрому разрушению поллютантов.

Библиографические ссылки

1. Michael-Igolima U, Abbey SJ, Ifelebuegu AO. A systematic review on the effectiveness of remediation methods for oil contaminated soils. *Environmental Advances*. 2022;9:100319. DOI: 10.1016/j.envadv.2022.100319.
2. Бузмаков СА. Восстановление земель при различных уровнях загрязнения нефтью. *Записки Горного института*. 2013; 203:128–132. EDN: RSEQDV.
3. Серебrenникова МК, Тудвасева МС, Куюкина МС. Биологические способы очистки нефтезагрязненных сточных вод (обзор). *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2015;1:15–30. EDN: TYWGAX.
4. Созина ИД, Данилов АС. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв. *Записки Горного института*. 2023;260:297–312. DOI: 10.31897/PMI.2023.8.
5. Asemoloye MD, Jonathan SG, Ahmad R. Synergistic plant-microbes interactions in the rhizosphere: a potential headway for the remediation of hydrocarbon polluted soils. *International Journal of Phytoremediation*. 2019;21(2):71–83. DOI: 10.1080/15226514.2018.1474437.
6. Douglas RK, Araka PP, Fou A, Hart A. Evaluation of the potential of agricultural wastes-cattle manure and poultry manure for bioremediation of crude oil-contaminated soil. *Bioremediation Journal*. 2024;29(1):96–103. DOI: 10.1080/10889868.2024.2322471.
7. Aghalibe ChU, Igwe JC, Obike AI. Studies on the removal of petroleum hydrocarbons (PHCs) from a crude oil impacted soil amended with cow dung, poultry manure and NPK fertilizer. *Chemistry Research Journal*. 2017;2(4):22–30.
8. Wang K, Li W, Li X, Ren N. Spatial nitrifications of microbial processes during composting of swine, cow and chicken manure. *Scientific Reports*. 2015;5:14932. DOI: 10.1038/srep14932.
9. Буяров ВС, Калашникова ЛВ, Алдобаева НА, Подчуфарова АС. Приоритетные направления научных исследований в птицеводстве. *Биология в сельском хозяйстве*. 2017;2:17–25. EDN: YMVIHR.
10. Бочкарева ИИ, Майманова ЕА. Птицефабрика как источник загрязнения окружающей среды. *Интерэкспо ГЕО-Сибирь*. 2019;4(2):106–111. DOI: 10.33764/2618-981X-2019-4-2-106-111.
11. Сафаров АХ, Ягафарова ГГ, Пушкарь ЕН, Габитова ИУ, Микулик ВВ, Кузнецова ГМ. Изучение влияния органического отхода птицефабрики на очистку нефтезагрязненных почв. *Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Прикладная экология. Урбанистика*. 2016;2:177–189. DOI: 10.15593/240985125/2016.02.11.
12. Нестерович ВВ, Пархимович АВ, Чирич АВ. О «превращении» в птицеводстве отрицательных экстерналий в положительные. В: Белорусский государственный аграрный технический университет. *Рыночная экономика: сегодня и завтра. Тезисы XI Международной научной студенческой конференции; 17–18 марта 2022 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Белорусский государственный аграрный технический университет; 2022. с. 81–84.
13. Свергузова СВ, Шайхiev ИГ, Сапронова ЖА, Бомба ИВ. Переработка куриного помета с использованием личинок черной львинки (*Hermetia illucens*): обзор. *Птицеводство*. 2021;2:68–73. DOI: 10.33845/0033-3239-2021-70-2-68-73.
14. Błażejewska A, Zalewska M, Grudniak A, Popowska M. A comprehensive study of the microbiome, resistome, and physical and chemical characteristics of chicken waste from intensive farms. *Biomolecules*. 2022;12(8):1132. DOI: 10.3390/biom12081132.
15. Новожилов ИА. Влияние больших норм куриного помета на свойства и состав дерново-подзолистых грунтово-оглеенных почв [диссертация]. Москва: Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева; 2004. 140 с.
16. Vaghar Seyedin SM, Mojtahedi M, Farhangfar SH, Ghiasi SE. Non-thermal technologies for broiler litter processing: microbial safety, chemical composition, nutritional value, and fermentation parameters *in vitro*. *Veterinary Medicine and Science*. 2024;10(4): e1497. DOI: 10.1002/vms3.1497.
17. Шамраев АВ, Шорина ТС. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2009;6:642–645. EDN: MNKVRV.
18. Наумова НБ, Ручко ЕН, Савенков ОА, Плешакова ВИ. Микробиом почвы и сельскохозяйственных культур при внесении компоста куриного помета. *Почвы и окружающая среда*. 2021;4(1):35–49. DOI: 10.31251/pos.v4i1.141.
19. Ezekoye CC, Amakoromo ER, Ibiene AA. Laboratory-based bioremediation of hydrocarbon polluted mangrove swamp soil in the Niger delta using poultry wastes. *Microbiology Research Journal International*. 2017;19(2):1–14. DOI: 10.9734/MRJI/2017/15153.
20. Williams CM, Grimes JL, Mikkelsen RL. The use of poultry litter as co-substrate and source of inorganic nutrients and microorganisms for the *ex situ* biodegradation of petroleum compounds. *Poultry Science*. 1999;78(7):956–964. DOI: 10.1093/ps/78.7.956.
21. Akinde SB, Obire O. Aerobic heterotrophic bacteria and petroleum-utilizing bacteria from cow dung and poultry manure. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2008;24:1999–2002. DOI: 10.1007/s11274-008-9700-z.
22. Okafor UC, Orji MU, Agu KC, Awah NS, Okeke BC, Okafor OI, et al. Bioremediation of crude oil-polluted soil using broiler-chicken droppings. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. 2016;4(4):75–84. DOI: 10.12691/jaem-4-4-2.
23. Zhao Z, Yang C, Gao B, Wu Y, Ao Y, Ma S, et al. Insights into the reduction of antibiotic-resistant bacteria and mobile antibiotic resistance genes by black soldier fly larvae in chicken manure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2023;266:115551. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2023.115551.

24. Li L, Liu X, Li J, Chen Z, Song T, Jin S, et al. Mitigating tetracycline antibiotic contamination in chicken manure using *ex situ* fermentation system. *Journal of Environmental Management*. 2024;356:120614. DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.120614.
25. Гурьянов ДВ, Хмыров ВД, Папихин РВ, Маслова МВ. Обеззараживание куриного помета ультрафиолетовым облучением. *Аграрный научный журнал*. 2018;11:52–54. DOI: 10.28983/asj.v0i11.613.
26. Гурьянов ДВ, Хмыров ВД, Папихин РВ, Маслова МВ. Обеззараживание куриного помета ультразвуковым облучением. *Аграрный научный журнал*. 2019;2:78–81. DOI: 10.28983/asj.y2019i2pp78-81.
27. Гурьянов ДВ, Хмыров ВД, Гурьянова ЮВ. Поточный способ обеззараживания электрическим полем и переработки помета в органическое удобрение. *Аграрный научный журнал*. 2019;4:75–78. DOI: 10.28983/asj.y2019i4pp75-78.
28. Ostović M, Ravić I, Kovačić M, Kabalin AE, Matković K, Sabolek I, et al. Differences in fungal contamination of broiler litter between summer and winter fattening periods. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 2021;72(2):140–147. DOI: 10.2478/aiht-2021-72-3508.
29. Коптелова ВМ, Кремза АА, Ларченко АЮ, Мандрик МИ. Оценка способности бактерий – деструкторов углеводов нефти утилизировать отходы птицеводства. В: Институт микробиологии НАН Беларуси. *Инновационные биотехнологии для охраны окружающей среды: от теории к практике. Материалы I Международной научно-практической конференции; 23–25 апреля 2024 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Институт микробиологии НАН Беларуси; 2024. с. 192–194. EDN: GRUOBB.
30. Adams GO, Tawari-Fufeyin P, Igelenyah E. Bioremediation of spent oil contaminated soils using poultry litter. *Research Journal in Engineering and Applied Sciences*. 2014;3(2):124–130.
31. Atagana HI. Co-composting of PAH-contaminated soil with poultry manure. *Letters in Applied Microbiology*. 2004;39(2):163–168. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2004.01554.x.
32. Agarry SE, Owabor CN, Yusuf RO. Bioremediation of soil artificially contaminated with petroleum hydrocarbon oil mixtures: evaluation of the use of animal manure and chemical fertilizer. *Bioremediation Journal*. 2010;14(4):189–195. DOI: 10.1080/10889868.2010.514965.
33. Шулаева РВ, Сергеев ВА, Фусс ВА, Кобяков НИ, Мерсон МЭ, Вяткин АП и др., авторы и патентообладатели. *Способ ремедиации нефтезагрязненных грунтов*. Патент RU 2224604С1. 27 февраля 2004 г.
34. Rahman KSM, Banat IM, Thahira J, Thayumanavan T, Lakshmanaperumalsamy P. Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipid biosurfactant. *Bioresource Technology*. 2002;81(1):25–32. DOI: 10.1016/S0960-8524(01)00105-5.
35. Oghoje SU, Ukebor JE, Ukebor EE. The effects of chicken manure digestates on the removal of diesel range organics from petroleum products polluted soils. *Bulgarian Journal of Soil Science*. 2021;6(1):78–95.
36. Fallgren PH, Jin S. Biodegradation of petroleum compounds in soil by a solid-phase circulating bioreactor with poultry manure amendments. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Environmental Science and Engineering and Toxicology*. 2008;43(2):125–131. DOI: 10.1080/10934520701781202.
37. Kumar KS, Sivaraj R, Radhakrishna A. An investigation of growth and yield of *Helianthus annuus* on diesel contaminated soil and bioremediated diesel contaminated soil. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2014;3(10):1530–1544.
38. Barati M, Bakhtiari F, Mowla D, Safarzadeh S. Comparison of the effects of poultry manure and its biochar on barley growth in petroleum-contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*. 2018;20(2):98–103. DOI: 10.1080/15226514.2017.1337069.
39. Gupta G, Tao J. Bioremediation of gasoline-contaminated soil using poultry litter. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Environmental Science and Engineering and Toxicology*. 1996;31(9):2395–2407. DOI: 10.1080/10934529609376498.
40. Ubani O, Atagana HI. Measuring the effect of co-composting crude oil sludge with pig, cow, horse and poultry manures on the degradation of selected polycyclic aromatic hydrocarbons. *Archives of Environmental Protection*. 2018;44(1):77–86. DOI: 10.24425/118184.

УДК 582.282.112(476)

МУЧНИСТАЯ РОСА РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА CRASSULACEAE В БЕЛАРУСИ: ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПАТОГЕНОВ И ИХ ХОЗЯЕВ

А. К. ХРАМЦОВ¹⁾, С. Г. СИДОРОВА¹⁾

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

Аннотация. Установлено, что в Беларуси мучнистую росу на растениях-интродуцентах семейства Crassulaceae (*Crassula ovata*, *Hylotelephium maximum*, *H. × mottramianum*, *Kalanchoe blossfeldiana*, *K. daigremontiana*, *K. laciniata*, *Phedimus* sp. и *Ph. spirius*) как при их выращивании в открытом грунте, так и при круглогодичной комнатной культуре вызывают чужеродные грибы *Erysiphe sedi*, *Golovinomyces orontii* и *Pseudoidium kalanchoes*. Впервые приведена морфологическая характеристика гриба *P. kalanchoes*, составленная по результатам изучения его образцов, собранных на территории Беларуси. Выявлено, что у грибов *E. sedi* и *G. orontii* расширился круг хозяев: обнаружены три новых вида питающих растений семейства Crassulaceae (*K. blossfeldiana*, *K. daigremontiana* и *Phedimus* sp.).

Ключевые слова: мучнистая роса; *Erysiphe*; *Golovinomyces*; *Pseudoidium*; Crassulaceae; анаморфа; телеоморфа; растение-хозяин; микобиота; 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)). Авторы выражают признательность коллегам-коллекторам за материал, предоставленный для анализа, и кандидату биологических наук В. Н. Тихомирову за помощь в определении растений.

Образец цитирования:

Храмцов АК, Сидорова СГ. Мучнистая роса растений семейства Crassulaceae в Беларуси: таксономический состав патогенов и их хозяев. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:66–72.
EDN: VTHCGC

For citation:

Khramtsov AK, Sidorova SG. Powdery mildew of plants of the family Crassulaceae in Belarus: taxonomic composition of pathogens and their hosts. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2:66–72. Russian.
EDN: VTHCGC

Авторы:

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

Светлана Георгиевна Сидорова – кандидат биологических наук, доцент; заведующий кафедрой ботаники биологического факультета.

Authors:

Alexander K. Khramtsov, PhD (biology), docent; associate professor at the department of botany, faculty of biology.
alexkhrantsov69@gmail.com

Svetlana G. Sidorova, PhD (biology), docent; head of the department of botany, faculty of biology.
sidorova@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0002-9808-4809>

POWDERY MILDEW OF PLANTS
OF THE FAMILY CRASSULACEAE IN BELARUS:
TAXONOMIC COMPOSITION OF PATHOGENS AND THEIR HOSTSA. K. KHRAMTSOV^a, S. G. SIDOROVA^a^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. K. Khramtsov (alexkhramtsov69@gmail.com)

Abstract. It was established that in Belarus powdery mildew on introduced plants of the family Crassulaceae (*Crassula ovata*, *Hylotelephium maximum*, *H. × mottramianum*, *Kalanchoe blossfeldiana*, *K. daigremontiana*, *K. laciniata*, *Phedimus* sp. and *Ph. spurius*) both when grown in open ground and in year-round indoor cultivation is caused by the alien fungi *Erysiphe sedi*, *Golovinomyces orontii* and *Pseudoidium kalanchoes*. The morphological characteristics of the fungus *P. kalanchoes* based on the results of studying its samples collected in Belarus are presented for the first time. It was identified that the fungi *E. sedi* and *G. orontii* have expanded their range of hosts: three new species of feeding plants of the family Crassulaceae (*K. blossfeldiana*, *K. daigremontiana* and *Phedimus* sp.) were discovered.

Keywords: powdery mildew; *Erysiphe*; *Golovinomyces*; *Pseudoidium*; Crassulaceae; anamorph; teleomorph; host plant; mycobiota; Belarus.

Acknowledgements. The 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 authors express their gratitude to fellow collectors for the material provided for analysis and to PhD (biology) V. N. Tikhomirov for help in identifying the plants.

Введение

Семейство Crassulaceae включает суккулентные растения, многие из которых благодаря необычному облику, неприхотливости в уходе, содержанию биологически активных веществ издавна широко культивируются в разных странах мира в открытом и защищенном грунте как цветочно-декоративные и лекарственные растения [1–3]. Из литературных источников известно, что толстянковые растения способны поражаться многими болезнями, в том числе мучнистой росой [1; 3; 4]. В качестве ее возбудителей указываются телеоморфные грибы *Erysiphe sedi* U. Braun и *E. umbilici* (Kom.) U. Braun & S. Takam., являющиеся патогенами только толстянковых растений, гриб *Golovinomyces orontii* (Castagne) V. P. Heluta, развивающийся на представителях разных семейств, а также гриб *Pseudoidium kalanchoes* (Lüstner ex U. Braun) U. Braun & R. T. A. Cook, который многие исследователи на основе молекулярно-генетических данных считают анаморфной стадией гриба *E. sedi* [3; 5].

Гриб *E. sedi* обнаружен в Европе, Азии, Австралии, Северной Америке и Океании как паразит на растениях родов *Aeonium*, *Chiastophyllum*, *Clemensia*, *Crassula*, *Hylotelephium*, *Kalanchoe*, *Orostachys*, *Phedimus*, *Rhodiola*, *Sedum*, *Umbilicus* [1; 3; 4]. В Беларуси данный патоген отмечен на растениях *Phedimus spurius* (M. Bieb.) 't Hart (*Sedum spurium* M. Bieb.), *Hylotelephium maximum* (L.) Holub и *H. × mottramianum* J. M. H. Shaw & R. Stephenson [3; 6].

Гриб *E. umbilici*, паразитирующий на некоторых представителях семейства Crassulaceae из родов *Clemensia*, *Hylotelephium*, *Rhodiola* и *Sedum* в Азии (Китае, Казахстане, Кыргызстане, Таджикистане, Туркменистане), в Беларуси не отмечен [3; 4; 7].

Гриб *G. orontii* повсеместно распространен [4]. Он паразитирует на двудольных цветковых растениях разных семейств, включая семейство Crassulaceae¹ [4]. В Беларуси патоген также является повсеместно распространенным и часто встречающимся. Гриб поражает растения различных семейств (Asteraceae, Campanulaceae, Cucurbitaceae, Linaceae, Solanaceae, Violaceae, Scrophulariaceae), однако в республике на представителях семейства Crassulaceae он не был выявлен [7].

¹*Golovinomyces orontii* (Castagne) V. P. Heluta // Plant parasites of Europe: leafminers, galls and fungi : website. URL: <https://bladmineerders.nl/parasites/fungi/dikarya/ascomycota/pezizomycotina/leotiomyces/leotiomycetidae/helotiales/erysiphaceae/golovinomyces/golovinomyces-orontii/> (date of access: 05.04.2025).

В 2023 г. во многих регионах Беларуси в открытом грунте было отмечено эпифитотийное развитие мучнистой росы на цветочно-декоративных растениях рода *Hylotelephium*. Исследователи изучили морфолого-биологические особенности возбудителя болезни (гриба *E. sedi*) и его распространение [3]. Было высказано предположение о том, что в республике нахождение гриба *E. sedi* возможно на представителях родов *Aeonium*, *Crassula*, *Kalanchoe*, *Phedimus*, *Petrosedum*, *Rhodiola*, *Sedum*, *Sempervivum*, а также на других растениях рода *Hylotelephium* [3]. Позже, в 2024–2025 гг., в нескольких локалитетах Беларуси было зарегистрировано развитие мучнистой росы на разных представителях семейства Crassulaceae как в открытом грунте в вегетационный период, так и в жилых помещениях и на застекленных лоджиях при круглогодичной культуре.

Цель настоящей работы – идентификация мучнисторосяных грибов, собранных в 2024–2025 гг. в Беларуси на растениях семейства Crassulaceae, с последующей инвентаризацией таксономического состава возбудителей мучнистой росы и поражаемых ими толстянковых растений.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования стали грибы, вызывающие мучнистую росу на растениях семейства Crassulaceae, собранные в 2024–2025 гг. на территории Беларуси и хранящиеся в микологической коллекции (MSKU-F) Гербария БГУ, а именно образцы № 18117–18139 (коллекторы С. Ф. Буга, Ю. К. Верес, А. В. Земляная, О. Ю. Круглова, В. Д. Поликсенова, С. Г. Сидорова, П. В. Слепченко, И. А. Федюшко, А. К. Храпцов). Сбор материала осуществлялся с использованием маршрутного метода микологических и фитопатологических исследований [8]. Степень поражения растений патогеном определялась по 5-балльной шкале [9]. Идентификация грибов и их растений-хозяев проводилась на кафедре ботаники биологического факультета БГУ методами световой микроскопии с использованием бинокулярных микроскопов AxioStar (*Carl Zeiss*, Германия) и LED Light (ООО «Альтами», Россия), а также соответствующих определителей, монографий и статей² [3–5; 7]. Объем выборки конидий гриба *P. kalanchoes* составил 50 шт. Для размеров его изученных структур указывались минимальное и максимальное значения признака. Окраска структур гриба *P. kalanchoes* уточнялась по шкале цветов, разработанной А. С. Бондарцевым [10].

Для проведения инвентаризации таксономического состава возбудителей мучнистой росы и поражаемых ими толстянковых растений в Беларуси использовался сравнительно-аналитический метод. Латинские названия и систематическое положение указаны в соответствии с международными глобальными базами данных Index Fungorum³ и MycoBank⁴ (для грибов), Plants of the World Online⁵ (для растений).

Результаты и их обсуждение

Проведенные ботанико-микологические исследования позволили установить, что причиной появления мучнистой росы на растениях семейства Crassulaceae, которые были собраны в 2024–2025 гг. на территории Беларуси, являются мучнисторосяные грибы *E. sedi* и *G. orontii* (Erysiphaceae, Helotiales, Leotiomycetidae, Leotiomycetes, Pezizomycotina, Ascomycota, Dikarya, Fungi), а также анаморфный микромикет *P. kalanchoes*.

Чужеродный, натурализовавшийся в Беларуси гриб *E. sedi* был представлен как в анаморфе по типу *Pseudoidium*, так и в телеоморфе на одних и тех же образцах растений-хозяев *H. maximum* и *H. × mottramianum* (выращивание в открытом грунте), *Kalanchoe daigremontiana* Раум.-Hamet & Н. Perrier (круглогодичная комнатная культура). Интродуцент *K. daigremontiana* явился для него новым питающим растением, что указывает на расширение круга хозяев у патогена [3]. Проанализировав сведения о локалитетах гриба *E. sedi* в Беларуси, можно заключить, что патоген, ранее выявленный в Витебском, Гродненском, Жлобинском, Минском, Могилёвском, Молодечненском, Несвижском, Полоцком и Столбцовском районах, в 2024–2025 гг. отмечен в Барановичском, Мядельском и Шкловском районах [3; 6].

На 15 образцах растений семейства толстянковых (из 23 изученных образцов), особенно при круглогодичной комнатной культуре, мучнисторосяные грибы развивались только в анаморфе. Один из таких представителей идентифицирован как гриб *G. orontii*, являющийся в Беларуси чужеродным инвазивным видом [11] (рис. 1). Для данного микромикета характерно образование конидий на конидиеносцах в цепочках. Именно по этому признаку его анаморфа по типу *Euoidium* отличается от анаморф по типу

² Методы экспериментальной микологии : справочник / под ред. В. И. Билай. Киев : Наук. думка, 1982. 552 с.

³ Index Fungorum [Electronic resource]. URL: <https://www.indexfungorum.org/names/Names.asp> (date of access: 06.04.2025).

⁴ MycoBank database: fungal databases, nomenclature and species banks [Electronic resource]. URL: <https://www.mycobank.org> (date of access: 07.04.2025).

⁵ Plants of the World Online [Electronic resource]. URL: <https://powo.science.kew.org> (date of access: 02.04.2025).

Pseudoidium грибов *E. sedi* и *E. umbilici*, у которых на конидиеносцах образуется по одной конидии. Кроме того, конидии гриба *G. orontii* по размерам и форме сильно отличаются от конидий грибов *E. sedi* и *E. umbilici* [4; 7].

Патоген *G. orontii* развивался на *Phedimus* sp. (выращивание в открытом грунте), *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. (круглогодичная комнатная культура) и вызывал поражение, которое охватывало практически всю поверхность листовых пластинок, а также стебли растений (степень поражения достигала 4 баллов). Вначале инфицированные листья покрывались белым налетом мицелия и конидий. Позже налет становился слабозаметным или исчезал, а на его месте проявлялись коричневые пятна пораженной ткани. Далее у растений наблюдалась полная дефолиация. В итоге утрачивалась декоративность культур.

Развитие гриба *G. orontii* на растениях-интродуцентах семейства Crassulaceae (*K. blossfeldiana* и *Phedimus* sp.) в Беларуси констатировано впервые.

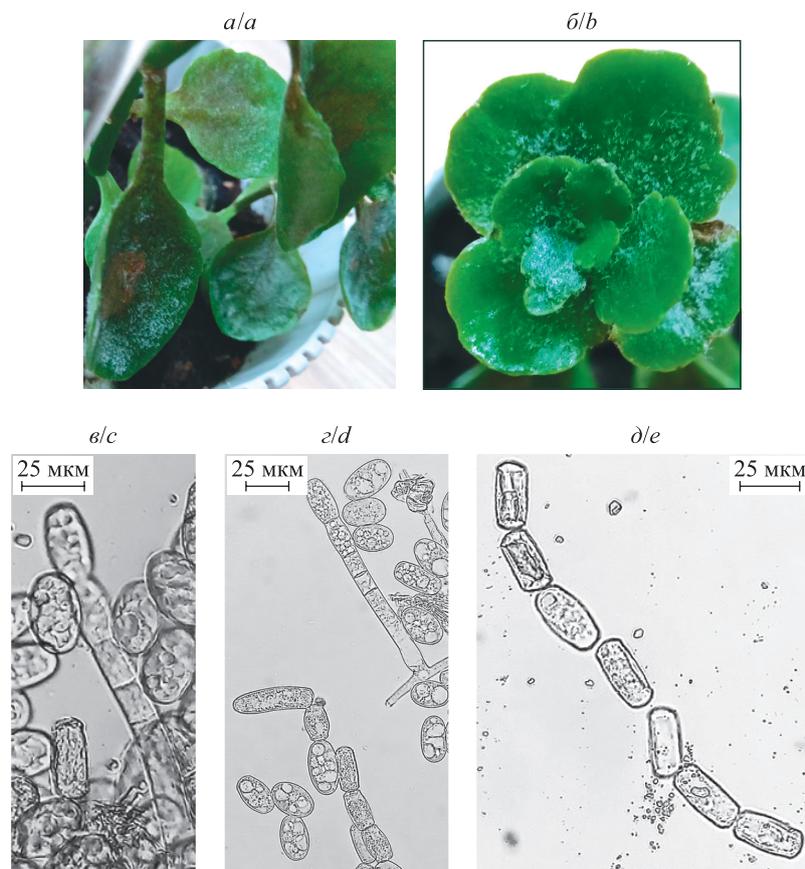


Рис. 1. Гриб *G. orontii* на *K. blossfeldiana*:
а, б – общий вид пораженных растений;
в–д – конидиеносцы и конидии (увеличение ×400)

Fig. 1. Fungus *G. orontii* on the *K. blossfeldiana*:
а, b – the general view of affected plants;
с–е – conidiophores and conidia (magnification ×400)

Другой возбудитель мучнистой росы отмечен в стадии анаморфы по типу *Pseudoidium* (рис. 2). Подобную анаморфу имеют два мучнисторосных гриба, поражающих толстянковые растения, – *E. sedi* и *E. umbilici*. Однако данные микромицеты четко различаются по телеоморфе: гриб *E. sedi*, уже отмеченный в Беларуси, имеет простые придатки хазмотециев, в то время как у гриба *E. umbilici*, еще не найденного в республике, они дихотомически ветвятся на концах [3].

В условиях изменившегося климата и нарастающих темпов инвазий не исключается возможность обнаружения в Беларуси азиатского гриба *E. umbilici*. Исходя из отсутствия у выявленного патогена, образующего анаморфу по типу *Pseudoidium*, половых стадий и учитывая тот факт, что молекулярно-генетические исследования образцов имеющейся анаморфы на принадлежность к соответствующей телеоморфе не проводились, считаем целесообразным указать обнаруженный гриб как *P. kalanchoes* (см. рис. 2). Ниже приведена его морфологическая характеристика, которая составлена по результатам изучения образцов, собранных на территории Беларуси.



Рис. 2. Гриб *P. kalanchoes*:
 а – мучнистая роса на стебле *K. blossfeldiana*;
 б – общий вид пораженного растения *K. blossfeldiana*;
 в – общий вид пораженного растения *K. laciniata*;
 г – мучнистая роса на листе *K. daigremontiana*; д – конидиеносец;
 е, ж – конидиеносцы с конидиями; з, и – конидии (увеличение ×400)

Fig. 2. Fungus *P. kalanchoes*:
 а – powdery mildew on the stem of *K. blossfeldiana*;
 б – the general view of affected plant *K. blossfeldiana*;
 в – the general view of affected plant *K. laciniata*;
 д – powdery mildew on a leaf of *K. daigremontiana*; е – conidiophore;
 ф, г – conidiophores with conidia; h, i – conidia (magnification ×400)

***Pseudoidium kalanchoes* (Lüstner ex U. Braun) U. Braun & R. T. A. Cook [as ‘*kalanchoës*’], Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews): 608 (2012)**

Syn.: *Oidium kalanchoes* Lüstner [as ‘*kalanchoës*’], Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 15(4): 41 (1935), *Oidium kalanchoes* Lüstner ex U. Braun [as ‘*kalanchoës*’], Beih. Nova Hedwigia 89: 602 (1987).

Мицелий белый, паутинистый, расположенный на обеих сторонах листьев, а также на стеблях, цветоносах, цветоножках, чашелистиках растения-хозяина, образующий белые, бледно-серые, пепельные пятна. Гифы септированные, прозрачные, тонкостенные, гладкие.

Конидиеносцы прямые, реже слегка извилистые, размером $62,5 \times 7,5$ мкм (длиной до 200 мкм (согласно работе [4]), 40–200 мкм (по исследованию [5])), с прямыми или слегка извилистыми, почти цилиндрическими базальными клетками, за которыми следуют 1–3 клетки примерно такой же длины, иногда короче или длиннее (см. рис. 2, *д–ж*). Конидии одиночные, одноклеточные, эллипсоидальные, эллипсоидально-цилиндрические, цилиндрические, размером $31,3–53,8 \times 12,5–22,5$ мкм ($25–60(–80) \times 10,5–22(–25)$ мкм (согласно работе [4]), $(22–)30–55(–85) \times (10,5–)14–22(–25)$ мкм (по исследованию [5])), отношение длины к ширине 2,4–2,5 ((1,5–)1,7–3,2(–3,8) (по исследованию [5])) (см. рис. 2, *е–и*).

Патоген *P. kalanchoes* часто встречался в сборах 2024–2025 гг. Так, он был отмечен на *H. × mottramianum* (выращивание в открытом грунте) и *Crassula ovata* (Mill.) Druce, *K. blossfeldiana*, *K. daigremontiana*, *K. laciniata* (L.) DC. (комнатная культура). Патоген вызывал сильное поражение листьев и стеблей питающих растений-интродуцентов (степень поражения достигала 4 баллов) с последующей дефолиацией. Наблюдение за его развитием при комнатной культуре хозяев показало, что поражение растений начиналось в узлах стеблей и местах образования придаточных корней, а позже захватывало междоузлия и распространялось на листья (см. рис. 2, *а и б*).

Учитывая высокую степень изученности разнообразия мучнисторосяных грибов в Беларуси, которая отражена в монографии И. С. Гириловича, а также возможное родство вышеуказанного анаморфного гриба с телеоморфами *E. sedi* и *E. umbilici*, можно считать патоген *P. kalanchoes* чужеродным для республики [7]. Вероятно, данный микромицет, подобно его предполагаемой телеоморфе *E. sedi*, недавно попал на территорию Беларуси вместе с культивируемыми растениями семейства Crassulaceae, транспортными средствами и воздушными массами [3].

Выявленные в 2024–2025 гг. мучнисторосяные грибы поражали растения восьми видов, которые для республики являются чужеродными и часто культивируются в открытом и защищенном грунте. В качестве новых хозяев для патогенов выступили растения *C. ovata*, *K. blossfeldiana*, *K. daigremontiana*, *K. laciniata* и *Phedimus* sp.

Проведенная инвентаризация таксономического состава возбудителей мучнистой росы растений семейства Crassulaceae и их хозяев по опубликованным данным и материалам микологической коллекции (MSKU-F) Гербария БГУ дает основание назвать патогенами в Беларуси грибы трех видов из трех родов: *E. sedi*, *G. orontii* и *P. kalanchoes*. Вышеуказанные микромицеты являются чужеродными для республики и развиваются на чужеродных толстянковых растениях-интродуцентах восьми видов из четырех родов: *C. ovata*, *H. maximum*, *H. × mottramianum*, *K. blossfeldiana*, *K. daigremontiana*, *K. laciniata*, *Phedimus* sp. и *Ph. spurius* [3; 6].

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что в Беларуси мучнистую росу на растениях-интродуцентах семейства Crassulaceae (*C. ovata*, *H. maximum*, *H. × mottramianum*, *K. blossfeldiana*, *K. daigremontiana*, *K. laciniata*, *Phedimus* sp. и *Ph. spurius*) как при их выращивании в открытом грунте, так и при круглогодичной комнатной культуре вызывают чужеродные грибы *E. sedi*, *G. orontii* и *P. kalanchoes*.

Чужеродный, натурализовавшийся в республике гриб *E. sedi* отмечен в Барановичском, Мядельском и Шкловском районах, где он не был известен прежде. У данного патогена подтверждено прогнозируемое нами ранее расширение круга растений-хозяев семейства Crassulaceae: новым питающим растением стал вид *K. daigremontiana*.

Установлено, что в Беларуси у чужеродного инвазивного гриба *G. orontii* расширился круг хозяев. Патоген впервые отмечен на представителях семейства Crassulaceae, при этом у него выявлены два новых вида питающих толстянковых растений – *K. blossfeldiana* и *Phedimus* sp.

Открытым остается вопрос о телеоморфе гриба *P. kalanchoes*, что оправдывает важность проведения в Беларуси дальнейших мониторинговых исследований разнообразия мучнисторосяных грибов, вредоносных облигатных паразитов дикорастущих и культивируемых растений. Актуальным также является молекулярно-генетическое исследование образцов обнаруженного микромицета *P. kalanchoes* в целях выяснения его филогенетического аффинитета.

Приведенная информация о мучнисторосяных грибах, поражающих в Беларуси растения семейства Crassulaceae, может быть учтена при инвентаризации микобиоты республики, а также при разработке защитных мероприятий по борьбе с фитопатогенными микромицетами на культивируемых толстянковых растениях.

Библиографические ссылки

1. Марченко АБ. Паразитические микромицеты суккулентов семейства Crassulaceae. *Труды БГТУ. Лесное хозяйство*. 2014; 1:228–231. EDN: WITWGR.
2. Левданская ПИ. *Кактусы и другие суккуленты в комнатах*. Минск: Ураджай; 1979. 176 с.
3. Храпцов АК, Федюшко ИА. Морфолого-биологические особенности и распространение мучнисторосяного гриба *Erysiphe sedi* U. Vraun в Беларуси. В: Ламан НА, Парфенов ВИ, редакторы. *Ботаника (исследования)*. Сборник научных трудов. Выпуск 53. Минск: ИВЦ Минфина; 2024. с. 239–247. EDN: DNJZYQ.

4. Braun U, Cook RTA. *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre; 2012. 707 p.
5. Götz M, Idczak E, Braun U. Phylogenetic affinity and taxonomic reassessment of *Pseudoidium kalanchoes*. *Mycotaxon*. 2019; 134:545–553. DOI: 10.5248/134.545.
6. Лемеза НА, Гирилович ИС, Яцевич АС. Фитопатогенные микромицеты на территории города Ошмяны. В: Тихомиров ВН, Поликсенова ВД, Карпук ВВ, Гультман ДВ, Аначков Г, Сенников АН, редакторы. *Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микробиоты. Материалы IV Международной научно-практической конференции, приуроченной к 100-летию кафедры ботаники БГУ; 31 мая 2021 г.; Минск, Беларусь*. Минск: БГУ; 2021. с. 117–120. EDN: JIOZQJ.
7. Гирилович ИС. *Мучнисторосяные грибы (порядок Erysiphales) Беларуси*. Минск: БГУ; 2018. 279 с.
8. Дроздовская ЛВ, редактор. *Теоретические и методические проблемы сравнительной флористики. Материалы II рабочего совещания по сравнительной флористике; 20–24 сентября 1983 г.; Неринга, Литовская ССР*. Ленинград: Наука; 1987. 283 с.
9. Хохряков МК, Потлайчук ВИ, Семенов АЯ, Элбакян МА. *Определитель болезней сельскохозяйственных культур*. Ленинград: Колос; 1984. 304 с.
10. Бондарцев АС. *Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа*. Москва: Издательство АН СССР; 1953. 1107 с.
11. Поликсенова ВД, Храмцов АК. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси. *Вестник Белорусского государственного университета. Серия 2, Химия. Биология. География*. 2015;3:43–48. EDN: VDJXRB.

Получена 17.04.2025 / исправлена 13.05.2025 / принята 16.05.2025.
Received 17.04.2025 / revised 13.05.2025 / accepted 16.05.2025.

УДК 577.25

ЗНАЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ДЛЯ РАЗВИТИЯ АФК-ЗАВИСИМОЙ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ ДНК В КЛЕТКАХ НЕРВНЫХ ГАНГЛИЕВ МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*

Н. Д. ЛИВАНОВА¹⁾, А. В. СИДОРОВ¹⁾

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

Аннотация. Установлено, что двухчасовая экспозиция изолированных нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* в нормальном растворе Рингера, содержащем пероксид водорода (1 ммоль/л), генерирующую гидроксильный радикал смесь (0,5 ммоль/л CuCl_2 и 0,5 ммоль/л аскорбата) или их сочетание, по прошествии 18 ч приводит к появлению полос низкомолекулярных, кратных 180 парам нуклеотидов фрагментов ядерной ДНК при гель-электрофорезе. Одночасовая экспозиция изолированной центральной нервной системы моллюска *L. stagnalis* при аналогичных условиях не вызывает апоптотической деградации ДНК, выделенной из нервных ганглиев прудовика. В условиях, благоприятствующих генерации гидроксильного радикала (в присутствии ионов Cu^{2+}), а также при удалении ионов Ca^{2+} из окружающей среды (нахождение в бескальциевом (высокомангниевом) растворе Рингера) отмечается увеличение числа и интенсивности полос низкомолекулярных фрагментов ДНК. Предполагается, что АФК-зависимая апоптотическая деградация может быть реализована лишь при достаточно пролонгированном

Образец цитирования:

Ливанова НД, Сидоров АВ. Значение длительности окислительного стресса для развития АФК-зависимой апоптотической деградации ДНК в клетках нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis*. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;2:73–79.
EDN: WLOSFK

For citation:

Livanova ND, Sidorov AV. The importance of oxidative stress duration for the development of ROS-dependent apoptotic DNA degradation in cells within nerve ganglions of the mollusc *Lymnaea stagnalis*. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;2: 73–79. Russian.
EDN: WLOSFK

Авторы:

Надежда Дмитриевна Ливанова – аспирантка кафедры физиологии человека и животных биологического факультета. Научный руководитель – А. В. Сидоров.
Александр Викторович Сидоров – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Authors:

Nadezhda D. Livanova, postgraduate student at the department of human and animal physiology, faculty of biology.
www.nadia14glinskaya@gmail.com
Alexander V. Sidorov, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology.
sidorov@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0002-1711-7868>

окислительном напряжении (стрессе) в нервной ткани, что позволяет рассматривать свободнорадикальные формы кислорода как сигнальные молекулы нормальных физиологических процессов меж- и внутриклеточной коммуникации в мозге моллюсков.

Ключевые слова: гидроксильный радикал; окислительный стресс; нервные клетки; апоптоз; беспозвоночные.

THE IMPORTANCE OF OXIDATIVE STRESS DURATION FOR THE DEVELOPMENT OF ROS-DEPENDENT APOPTOTIC DNA DEGRADATION IN CELLS WITHIN NERVE GANGLIONS OF THE MOLLUSC *LYMNAEA STAGNALIS*

N. D. LIVANOVA^a, A. V. SIDOROV^a

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

Corresponding author: A. V. Sidorov (sidorov@bsu.by)

Abstract. It was found that a two-hour exposure of isolated *Lymnaea stagnalis* nerve ganglia in normal Ringer's solution containing hydrogen peroxide (1 mmol/L), a hydroxyl radical-generating mixture (0.5 mmol/L of CuCl₂ and 0.5 mmol/L of ascorbate) or a combination of both, after 18 h, results in the appearance of bands of low-molecular-weight, multiple-of-180 base-pair nuclear DNA fragments in gel electrophoresis. Under mentioned above conditions, a one-hour exposure of isolated *L. stagnalis* central nervous system, doesn't result in the development of apoptotic degradation of DNA from the pond snail nerve ganglions. Under conditions favourable for the generation of hydroxyl radical (in the presence of Cu²⁺ ions), as well as with the removal of Ca²⁺ ions from the environment (in zero-calcium (high-magnesium) Ringer's solution), an increase in the number and intensity of low-molecular DNA fragment bands is observed. It is assumed that ROS-dependent apoptosis in the nervous tissue can be realised only with sufficiently prolonged oxidative stress, which allows us to consider reactive oxygen species as signalling molecules in normal physiological processes of inter- and intracellular communication within molluscan brain.

Keywords: hydroxyl radical; oxidative stress; nerve cells; apoptosis; invertebrates.

Введение

Сохранность нервных клеток и выполняемых ими функций является обязательным условием для нормального функционирования организма животных. Во взрослом, высокодифференцированном состоянии нейроны, как правило, не обладают митотической и (или) пролиферативной активностью, что делает популяцию таких клеток весьма чувствительной к действию различных факторов: потенциальная гибель части из них не может быть компенсирована оставшимися клетками посредством деления. Окислительный стресс, связанный с образованием активных форм кислорода (АФК), является одним из основных факторов, определяющих функционирование нейронных сетей мозга в самых разных условиях [1; 2]. Не вызывает сомнения и сигнальная роль ряда АФК, что подразумевает поддержание определенного редокс-равновесия в цитоплазме нервных клеток [3]. Одной из внутриклеточных мишеней для действия свободных радикалов являются нуклеиновые кислоты, в том числе ядерная и митохондриальная ДНК [4]. Помимо развитой системы антиокислительной защиты, включающей как ферментативные (супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза), так и неферментативные (восстановленный глутатион, токоферол, аскорбат и др.) компоненты [5], нервные клетки могут содержать множественные ($\geq 10\ 000$) копии ДНК [6], т. е. быть полиплоидными, что также существенно повышает их устойчивость к окислительному стрессу.

Можно предположить, что выбор между сигнальным и патологическим действием АФК определяется не только конечной концентрацией свободных радикалов, но и временем, в течение которого сохраняется возможность реализации их эффектов. Кроме того, должны приниматься во внимание возможные пути трансформации одних форм АФК в другие, обладающие более выраженным повреждающим действием на клеточном уровне. Пероксид водорода (H₂O₂) традиционно считается основной сигнальной молекулой из пула АФК [7] благодаря его наибольшей стабильности в интерстиции и способности легко проникать через мембраны. Однако в присутствии металлов с переменной валентностью, таких

как медь (Cu) или железо (Fe), он может служить источником образования (реакция Фентона) гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) – короткоживущего высокорекреационноспособного соединения, ключевого повреждающего агента при окислительном стрессе [8].

Продукция нейронами буккальных ганглиев монооксида азота (NO), обладающего свободнорадикальными свойствами, является неотъемлемым этапом потребления пищи у пресноводного легочного моллюска *Lymnaea stagnalis* [9]. Контролируемые нейронной сетью буккальных ганглиев ритмические движения радулы, определяющие захват пищевого субстрата, могут осуществляться в течение многоминутных интервалов, тогда как время полужизни молекулы NO в интерстициальном пространстве составляет несколько секунд, что предполагает создание повышенной и длительной свободнорадикальной нагрузки в отношении рядом расположенных нервных узлов центральной нервной системы (ЦНС) моллюска *L. stagnalis* [10]. С другой стороны, пероксид водорода способен модифицировать [11] пищевое поведение прудовика (сигнальная роль АФК), а хроническое действие ряда неорганических поллютантов, в том числе тяжелых металлов [12], вызывает гибель части животных, что может быть связано с развитием окислительного стресса (токсическое действие АФК). Очевидно, что наличие механизма, определяющего переход от сигнальных к токсическим эффектам АФК, является обязательным условием для нормального функционирования нервных центров моллюсков и других беспозвоночных.

В связи с отмеченным выше целью данной работы было оценить возможность инициации процессов гибели клеток нервных ганглиев моллюска *L. stagnalis* в зависимости от длительности действия пероксида водорода, в том числе в условиях, способствующих образованию гидроксильного радикала.

Материалы и методы исследования

В работе использовали моллюсков *L. stagnalis*, собранных в осенний период на территории Минской области в мелких мелиоративных каналах. Животных одинакового размерного класса (высота раковины $(4,0 \pm 0,2)$ см, масса тела $(5,5 \pm 0,5)$ г) содержали в аквариумах, где на каждую особь приходилось не менее 1 л воды, при температуре (22 ± 1) °С. Смену воды проводили каждые три дня. Пищей служили листья салата и одуванчика (питание *ad libitum*).

Препараты ЦНС и инициация окислительного стресса. Для получения препарата изолированной нервной системы удаляли раковину и вскрывали стенку тела животного, открывая доступ к центральному кольцу нервных ганглиев. После этого перерезали все нервы, связывающие центральное кольцо нервных ганглиев с периферией, и извлекали его из полости тела. Операцию проводили в нормальном растворе Рингера для моллюска *L. stagnalis* следующего состава: NaCl – 44,0 ммоль/л; KCl – 1,7 ммоль/л; CaCl₂ – 4,0 ммоль/л; MgCl₂ · 6H₂O – 1,5 ммоль/л; HEPES – 10,0 ммоль/л (pH $7,60 \pm 0,03$).

Изолированные нервные системы (по 3–4 ЦНС для каждой серии в двух повторах) предварительно инкубировали в течение 1 ч (первый вариант) или 2 ч (второй вариант) в темноте в нормальном растворе Рингера (контроль) или в растворе Рингера, содержащем (указана конечная концентрация) пероксид водорода (1 ммоль/л) (первая экспериментальная серия), $\cdot\text{OH}$ -генерирующую смесь (0,5 ммоль/л CuCl₂ и 0,5 ммоль/л аскорбата) (вторая экспериментальная серия), пероксид водорода (1 ммоль/л) и $\cdot\text{OH}$ -генерирующую смесь (0,5 ммоль/л CuCl₂ и 0,5 ммоль/л аскорбата) (третья экспериментальная серия). По окончании инкубации препараты ЦНС каждой серии промывали, помещали в свежий раствор Рингера (5 мл для всех ЦНС серии) и оставляли в темноте при комнатной температуре (+20 °С) на 18 ч. Для получения бескальциевого раствора Рингера из него удаляли CaCl₂, а концентрацию MgCl₂ · 6H₂O увеличивали в 6 раз (до 9 ммоль/л).

Выделение и анализ препаратов ДНК клеток нервных ганглиев. Выделение ядерной ДНК проводили путем ее экстракции смесью хлороформа и изоамилового спирта в соотношении 24 : 1 с добавлением РНКазы А (25 мкг/мл) в течение последнего часа трехчасовой инкубации препаратов ЦНС в смеси для лизиса клеток (NaCl – 0,15 ммоль/л; трис-HCl – 10 ммоль/л; ЭДТА – 5 ммоль/л; SDS – 1 %) при температуре +40 °С. После осаждения холодным (–20 °С) этиловым спиртом (96 %), последующей промывки этанолом (70 %) и подсушивания полученный препарат ДНК растворяли в деионизированной воде (50 мкл) и хранили при температуре –70 °С для дальнейшего использования. Оценку чистоты препарата и определение концентрации ДНК осуществляли на основании значений оптической плотности при 260 и 280 нм (A_{260} и A_{280} соответственно) с учетом коэффициента разведения пробы и типа использованного растворителя с помощью спектрофотометра Cary-50 (Varian, Австралия). Разделение и выявление фрагментов ДНК проводили посредством гель-электрофореза с использованием агарозы (1 %), в качестве электрофоретической среды выступал трис-ацетатный буфер (40 ммоль/л), содержащий 0,5 мкг/мл этидиумбромида. Полученное с помощью системы геледокументации Infinity (Vilber Lourmat, Франция) изображение анализировали в приложении Image Lab (Bio-Rad Laboratories, США).

Результаты и их обсуждение

Одночасовая инкубация препаратов изолированной ЦНС в ранее описанных условиях (см. раздел «Материалы и методы исследования») не приводит к развитию апоптотической деградации ядерной ДНК ни в одной из экспериментальных серий (рис. 1). Слабовыраженные, сильно размытые полосы размером около 180 пар нуклеотидов (п. н.) отмечены для препаратов ДНК, полученных в контрольных условиях и при действии одного пероксида водорода (см. рис. 1, дорожки 1 и 2), что может быть связано с присутствием в пробе следов белка (соотношение A_{260}/A_{280} указанных препаратов составляет 1,52 и 1,61 соответственно). При высокой степени очистки пробы (значения A_{260}/A_{280} достигают 1,79 и 1,81), что было характерно для экспериментальных серий с использованием \bullet ОН-генерирующей смеси (чистой и в сочетании с пероксидом водорода), даже в случае внесения в лунку образца ДНК в четырехкратном количестве по отношению к контролю следов ее фрагментации не выявлено (см. рис. 1, дорожки 3 и 4).

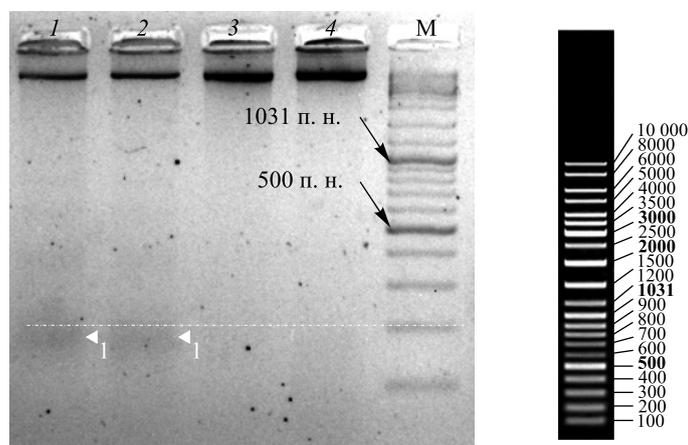


Рис. 1. Гель-электрофорез (инvertированное изображение) с образцами ДНК, выделенными из клеток нервных ганглиев моллюска *L. stagnalis*, после одночасовой инкубации препаратов ЦНС в экспериментальных растворах. Дорожки геля: 1 – контроль (раствор Рингера); 2 – пероксид водорода (1 ммоль/л); 3 – \bullet ОН-генерирующая смесь (0,5 ммоль/л CuCl_2 и 0,5 ммоль/л аскорбата); 4 – пероксид водорода (1 ммоль/л) и \bullet ОН-генерирующая смесь (0,5 ммоль/л CuCl_2 и 0,5 ммоль/л аскорбата); М – маркер молекулярного веса GeneRuler DNA Ladder Mix (SM0331; Thermo Scientific, США) (детальная характеристика составляющих его фрагментов ДНК приведена на вставке справа). Каждая экспериментальная дорожка содержит 10 мкл раствора ДНК (65 мкг/мкл (дорожки 1 и 2) или 250 мкг/мл (дорожки 3 и 4)) и 2 мкл загрузочного буфера (40 % раствор сахарозы, содержащий 0,25 % бромфенолового синего), объем внесенного маркера молекулярного веса равен 3 мкл. Полосы фрагментов ДНК отмечены треугольниками. Пунктирная линия указывает фронт распространения фрагмента размером 200 п. н.

Fig. 1. Gel electrophoresis (inverted image) with DNA samples isolated from *L. stagnalis* nerve ganglion cells after one-hour incubation of CNS preparations in experimental solutions. Gel lanes: 1 – control (Ringer's solution); 2 – hydrogen peroxide (1 mmol/L); 3 – \bullet OH-generating mixture (0.5 mmol/L of CuCl_2 and 0.5 mmol/L of ascorbate); 4 – hydrogen peroxide (1 mmol/L) and \bullet OH-generating mixture (0.5 mmol/L of CuCl_2 and 0.5 mmol/L of ascorbate); M – molecular weight marker GeneRuler DNA Ladder Mix (SM0331; Thermo Scientific, USA) (detailed characteristics of its DNA fragments are given in the inset on the right). Each experimental lane contains 10 μL of DNA solution (65 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (lanes 1 and 2) or 250 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (lanes 3 and 4)) and 2 μL of loading buffer (40 % sucrose solution containing 0.25 % bromophenol blue), the volume of added molecular weight marker is 3 μL . The DNA fragment bands are marked with triangles. The dotted line indicates the spreading front of the 200 bp fragment.

Установлено, что двухчасовая инкубация центрального кольца нервных ганглиев в среде, обеспечивающей генерацию гидроксильного радикала или содержащей пероксид водорода, приводит к появлению на геле полос фрагментов ДНК, кратных 180 п. н. (рис. 2). Для препаратов ДНК, полученных в контрольных условиях, отмечена слабовыраженная, имеющая нечеткие границы широкая полоса деградации ДНК в диапазоне от 100 до 200 п. н. (см. рис. 2, дорожка 1), что может быть связано с наличием примеси РНК в указанной пробе (это подтверждается достаточно высоким соотношением A_{260}/A_{280} , равным 2,61). Полос, кратных 180 п. н., не выявлено.

Добавление в среду инкубации пероксида водорода (1 ммоль/л) ассоциируется с наличием четырех последовательных полос низкомолекулярных фрагментов ДНК (см. рис. 2, дорожка 2) размером около 180, 360, 540 и 720 п. н. Интенсивность первой из них существенно выше интенсивности полосы для контрольных условий (соотношение A_{260}/A_{280} препарата составляет 1,76, что свидетельствует о достаточной степени очистки ДНК). Сочетание $\bullet\text{OH}$ -генерирующей смеси (0,5 ммоль/л CuCl_2 и 0,5 ммоль/л аскорбата) с пероксидом водорода приводит к наиболее выраженной апоптотической деградации ядерной ДНК, выделенной из клеток нервных ганглиев (см. рис. 2, дорожка 4). В этом случае отмечается наличие пяти последовательных полос, соответствующих примерно 180, 360, 540, 720 и 900 п. н. и имеющих наибольшую интенсивность среди всех экспериментальных серий. Максимальная интенсивность отмечена для первой полосы (около 180 п. н.), намного более узкой, чем полоса для контрольных условий (соотношение A_{260}/A_{280} препарата равно 1,86). Основной, высокомолекулярный фрагмент данной дорожки смещен в направлении низкомолекулярных продуктов (полос геля), что также указывает на выраженность процессов деградации ДНК в этих условиях. Даже одной $\bullet\text{OH}$ -генерирующей смеси оказывается достаточно для инициации процессов апоптоза в клетках нервных ганглиев прудовика (см. рис. 2, дорожка 3): отмечается наличие четырех полос низкомолекулярных фрагментов ДНК размером около 180, 360, 540 и 720 п. н., интенсивность которых, особенно первой полосы, оказывается выше интенсивности полос, выявленных для пероксида водорода (соотношение A_{260}/A_{280} препарата равно 1,98). Логично предположить, что пероксид водорода может образовываться в клетках нервных ганглиев моллюска *L. stagnalis* в концентрации, достаточной для генерации свободнорадикальных форм кислорода, в частности гидроксильного радикала, при создании соответствующих условий, например при наличии в среде ионов металлов с переменной валентностью (Cu, Fe).

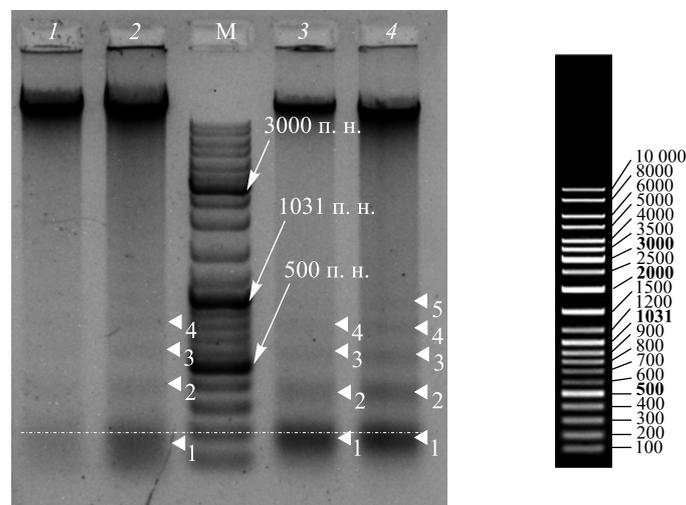


Рис. 2. Гель-электрофорез (инвертированное изображение) с образцами ДНК, выделенными из клеток нервных ганглиев моллюска *L. stagnalis*, после двухчасовой инкубации препаратов ЦНС в экспериментальных растворах. Каждая экспериментальная дорожка содержит 10 мкл раствора ДНК (110 мкг/мкл) и 2 мкл загрузочного буфера (40 % раствор сахарозы, содержащий 0,25 % бромфенолового синего), объем внесенного маркера молекулярного веса равен 3 мкл. Остальные обозначения см. на рис. 1

Fig. 2. Gel electrophoresis (inverted image) with DNA samples isolated from *L. stagnalis* nerve ganglion cells after two-hour incubation of CNS preparations in experimental solutions. Each experimental lane contains 10 μL of DNA solution (110 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) and 2 μL of loading buffer (40 % sucrose solution containing 0.25 % bromophenol blue), the volume of added molecular weight marker is 3 μL . The remaining designations see on fig. 1

Изменение содержания ионов Ca^{2+} в растворах для инкубации оказывает заметное влияние на выраженность апоптотической деградации ядерной ДНК, выделенной из клеток нервных ганглиев (рис. 3). В частности, максимальная интенсивность полос, соответствующих фрагментам ДНК, равным или кратным 180 п. н. (примерно 180, 360, 540, 720 и 900 п. н.), отмечена в случае использования бескальциевого (высокомagneзиевого) раствора Рингера (см. рис. 3, дорожка 3), причем особенно высокой была интенсивность первой (около 180 п. н.) и второй (около 360 п. н.) полос.

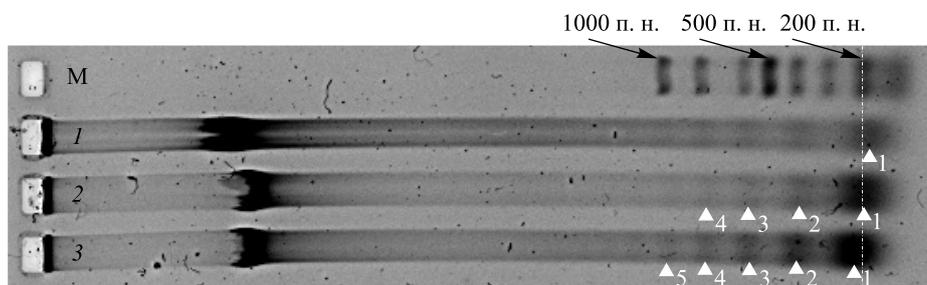


Рис. 3. Гель-электрофорез (инвертированное изображение) с образцами ДНК, выделенными из клеток нервных ганглиев *L. stagnalis*, после двухчасовой инкубации препаратов ЦНС в экспериментальных растворах с разным содержанием ионов Ca^{2+} .

Дорожки геля: 1 – контроль (раствор Рингера); 2 – пероксид водорода (1 ммоль/л) и $\cdot\text{OH}$ -генерирующая смесь (0,5 ммоль/л CuCl_2 и 0,5 ммоль/л аскорбата) в нормальном растворе Рингера; 3 – пероксид водорода (1 ммоль/л) и $\cdot\text{OH}$ -генерирующая смесь (0,5 ммоль/л CuCl_2 и 0,5 ммоль/л аскорбата) в бескальциевом растворе Рингера; М – маркер молекулярного веса Low Range DNA Ladder (M-202L; Jena Bioscience, Германия).

Каждая экспериментальная дорожка содержит 10 мкл раствора ДНК (200 мкг/мл) и 2 мкл загрузочного буфера (40 % раствор сахарозы, содержащий 0,25 % бромфенолового синего), объем внесенного маркера молекулярного веса равен 3 мкл.

Полосы фрагментов ДНК отмечены треугольниками.

Пунктирная линия указывает фронт распространения фрагмента размером 200 п. н.

Fig. 3. Gel electrophoresis (inverted image) with DNA samples isolated from *L. stagnalis* nerve ganglion cells after two-hour incubation of CNS preparations in experimental solutions with different Ca^{2+} ion content.

Gel lanes: 1 – control (Ringer's solution); 2 – hydrogen peroxide (1 mmol/L) and $\cdot\text{OH}$ -generating mixture (0.5 mmol/L of CuCl_2 and 0.5 mmol/L of ascorbate) in normal Ringer's solution; 3 – hydrogen peroxide (1 mmol/L) and $\cdot\text{OH}$ -generating mixture (0.5 mmol/L of CuCl_2 and 0.5 mmol/L of ascorbate) in calcium-free Ringer's solution; M – molecular weight marker Low Range DNA Ladder (M-202L; Jena Bioscience, Germany).

Each experimental lane contains 10 μL of DNA solution (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and 2 μL of loading buffer (40 % sucrose solution containing 0.25 % bromophenol blue), the volume of added molecular weight marker is 3 μL . The DNA fragment bands are marked with triangles. The dotted line indicates the spreading front of the 200 bp fragment

Полученные данные свидетельствуют о наличии временного порога (1–2 ч) для реализации эффектов АФК по инициации процессов апоптотической гибели клеток нервных ганглиев. Вполне вероятно, что развитой системы антиокислительной защиты ЦНС моллюска *L. stagnalis* [13], включая присутствие каротиноидов в цитоплазме нейронов ее составляющих [14], оказывается достаточно для нейтрализации действия АФК в отношении нуклеиновых кислот, по крайней мере в определенный интервал времени. Тем самым создается возможность для использования АФК (особенно пероксида водорода) и активных форм азота (в частности, монооксида азота) в качестве сигнальных молекул, когда их поддерживаемое присутствие в интерстициальном пространстве ограничено временными рамками. В связи с этим стоит упомянуть тот факт, что для особой вида *L. stagnalis* характерен крайне высокий водный обмен: количество выводимой за 1 ч воды равно четырехкратной массе тела животного [15]. В сочетании с относительно небольшим периодом интенсивной продукции (минуты) и временем нахождения в стабильном высокоактивном состоянии (секунды и менее) для большинства биологически активных свободных радикалов, в том числе монооксида азота и пероксида водорода, данное свойство обеспечивает структурную и функциональную целостность клеток нервных ганглиев прудовика и реализацию сигнальных эффектов. Напротив, пролонгированное, превышающее указанный временной порог (более 2 ч) действие постоянно присутствующих факторов, инициирующих образование активных форм азота и кислорода, например различных загрязнителей окружающей среды, приводит к гибели всего организма, что неоднократно отмечалось в ходе различных эколого-токсикологических исследований [16]. В частности, именно хроническая экспозиция ювенильных особей вида *L. stagnalis* в присутствии ионов меди вызывает развитие разнообразных токсических эффектов [17].

Внутриклеточные пути кальциевой сигнализации являются ключевым связующим звеном между свободнорадикальным повреждением нуклеиновых кислот и последующей инициацией апоптотической гибели клеток. Ранее нами сообщалось, что эффекты пероксида водорода в отношении щелевых контактов моллюска *L. stagnalis*, приводящие к уменьшению коэффициента сопряжения между нейронами [18], могут быть нивелированы при блокировании Ca^{2+} -каналов плазмалеммы. В связи с этим ожидаемой реакцией было бы отсутствие или по крайней мере существенное снижение эффектов АФК в отношении ДНК клеток нервных ганглиев в бескальциевом растворе, чего не наблюдалось. Однако стоит заметить, что, помимо интерстициального пространства, значительные запасы ионов Ca^{2+} сосредоточены во внутриклеточных депо (митохондриях, эндоплазматический ретикулум). Именно эти запасы могут

служить источником увеличения концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле при развитии окислительного стресса [19], особенно в случае активации апоптотического пути, инициированного повреждением ДНК. Кроме того, бескальциевый раствор существенно ограничивает взаимодействие нервных клеток посредством химических синаптических контактов, делая невозможным либо, во всяком случае, резко снижая высвобождение нейромедиаторов и (или) нейромодуляторов. С учетом вовлеченности некоторых из них, например дофамина, различных нейропептидов, в реализацию нейропротекторных эффектов [20], в том числе в отношении факторов окислительного повреждения нейронов, видимое ограничение подобной сигнализации и взаимодействия клеток сказывается на общей устойчивости нейронов ЦНС моллюска *L. stagnalis* к действию АФК.

Заключение

Таким образом, реализация эффектов АФК в отношении ДНК клеток ЦНС моллюска *L. stagnalis* требует наличия минимального времени действия (1–2 ч), что позволяет использовать свободнорадикальные формы кислорода в качестве сигнальных молекул в быстрых процессах меж- и внутриклеточной коммуникации.

Библиографические ссылки

1. Wilson C, Muñoz-Palma E, González-Billault C. From birth to death: a role for reactive oxygen species in neuronal development. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2018;80:43–49. DOI: 10.1016/j.semdb.2017.09.012.
2. Lee KH, Cha M, Lee BH. Crosstalk between neuron and glial cells in oxidative injury and neuroprotection. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(24):13315. DOI: 10.3390/ijms222413315.
3. Munteanu C, Galaction AI, Turnea M, Blendea CD, Rotariu M, Poștaru M. Redox homeostasis, gut microbiota, and epigenetics in neurodegenerative diseases: a systematic review. *Antioxidants*. 2024;13(9):1062. DOI: 10.3390/antiox13091062.
4. Chatgillalolu C, Ferreri C, Krokidis MG, Masi A, Terzidis MA. On the relevance of hydroxyl radical to purine DNA damage. *Free Radical Research*. 2021;55(4):384–404. DOI: 10.1080/10715762.2021.1876855.
5. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;44(2):532–553. DOI: 10.1159/000485089.
6. Nandakumar S, Rozich E, Buttitta L. Cell cycle re-entry in the nervous system: from polyploidy to neurodegeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;9:698661. DOI: 10.3389/fcell.2021.698661.
7. Averill-Bates D. Reactive oxygen species and cell signaling. Review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2024;1871(2):119573. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2023.119573.
8. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 2011;283(2–3):65–87. DOI: 10.1016/j.tox.2011.03.001.
9. Kobayashi S, Sadamoto H, Ogawa H, Kitamura Y, Oka K, Tanishita K, et al. Nitric oxide generation around buccal ganglia accompanying feeding behavior in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. *Neuroscience Research*. 2000;38(1):27–34. DOI: 10.1016/s0168-0102(00)00136-x.
10. Moroz LL. Giant identified NO-releasing neurons and comparative histochemistry of putative nitrergic systems in gastropod molluscs. *Microscopy Research & Technique*. 2000;49(6):557–569. DOI: 10.1002/1097-0029(20000615)49:6<557::AID-JEMT6>3.0.CO;2-S.
11. Sidorov AV. Neuromodulatory effects of hydrogen peroxide on central neurons in the feeding network of the mollusc *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2017;53(6):493–500. DOI: 10.1134/S0022093017060060.
12. Brix KV, Esbaugh AJ, Munley KM, Grosell M. Investigations into the mechanism of lead toxicity to the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis*. *Aquatic Toxicology*. 2012;106–107:147–156. DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.11.007.
13. Shadenko VN, Sidorov AV. Antioxidant defense in the hepatopancreas and nerve ganglia of the mollusk *Lymnaea stagnalis* after acute experimental hyperglycemia. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2020;56(3):235–242. DOI: 10.1134/S0022093020030060.
14. Karnaukhov VN. Carotenoids in oxidative metabolism of mollusoid neurons. *Experimental Cell Research*. 1971;64(2):301–306. DOI: 10.1016/0014-4827(71)90080-2.
15. Van Aardt WJ. Quantitative aspects of the water balance in *Lymnaea stagnalis* (L.). *Netherlands Journal of Zoology*. 1967;18(3):253–312. DOI: 10.1163/002829668X00018.
16. Amorim J, Abreu I, Rodrigues P, Peixoto D, Pinheiro C, Saraiva A, et al. *Lymnaea stagnalis* as a freshwater model invertebrate for ecotoxicological studies. *Science of the Total Environment*. 2019;669:11–28. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.035.
17. Brix KV, Esbaugh AJ, Grosell M. The toxicity and physiological effects of copper on the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Toxicology & Pharmacology*. 2011;154(3):261–267. DOI: 10.1016/j.cbpc.2011.06.004.
18. Sidorov AV. Effect of hydrogen peroxide on electrical coupling between identified *Lymnaea* neurons. *Invertebrate Neuroscience*. 2012;12(1):63–68. DOI: 10.1007/s10158-012-0128-7.
19. Peng T-I, Jou M-J. Oxidative stress caused by mitochondrial calcium overload. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010;1201(1):183–188. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05634.x.
20. Ishige K, Chen Q, Sagara Y, Schubert D. The activation of dopamine D4 receptors inhibits oxidative stress-induced nerve cell death. *The Journal of Neuroscience*. 2001;21(16):6069–6076. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-16-06069.2001.

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

УДК 582.26/.28(075.8)

Альгология и микология : электрон. учеб.-метод. комплекс с креатив. компонентом для спец. 6-05-0511-01 «Биология» / БГУ ; сост.: А. К. Храмцов, В. Д. Поликсенова. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 63 с. Библиогр.: с. 62–63. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/327553>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 24.03.2025, № 004424032025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) с креативным компонентом предназначен для студентов специальности 6-05-0511-01 «Биология» (профилизации «Биоразнообразие», «Общая физиология и биохимия», «Генетика и молекулярная биология»). Содержание ЭУМК способствует формированию у студентов целостной системы знаний о строении, биологических особенностях, систематике и происхождении водорослей, грибов, грибоподобных организмов и лишайников, а также об их значении в природе и жизни человека, возможностях и перспективах практического использования.

УДК 575.1/.2(075.8) + 577.21(075.8)

Веремеенко Е. Г. Молекулярные основы эпигенетики : электрон. учеб.-метод. комплекс с креатив. компонентом для спец.: 6-05-0511-01 «Биология», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика» / Е. Г. Веремеенко ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 67 с. : ил. Библиогр.: с. 66–67. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/327583>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 25.03.2025, № 004725032025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов первой степени высшего образования специальностей 6-05-0511-01 «Биология», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика». Содержание ЭУМК способствует изучению новейшего направления биологии – эпигенетики. В курсе рассмотрены основные молекулярные механизмы эпигенетических процессов, неспецифические механизмы эпигенетической регуляции, их взаимосвязь с факторами окружающей среды и влияние, которое они оказывают на развитие и здоровье человека.

УДК 592(075.8)

Мелешко Ж. Е. Систематика беспозвоночных животных : электрон. учеб.-метод. комплекс по учеб. дисциплине «Зоология» для спец. 6-05-0511-01 «Биология» / Ж. Е. Мелешко ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 142 с. : 221 ил. Библиогр.: с. 140–142. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/327584>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 25.03.2025, № 004825032025. Текст : электронный.

Содержание электронного учебно-методического комплекса способствует получению студентами фундаментальных знаний о многообразии беспозвоночных животных, их положении в современной систематике животного мира, специфических чертах морфофизиологической организации представителей различных систематических групп.

УДК 581.19:633.88(075.8) + 615.322(075.8)

Шапчиц М. П. Биохимия лекарственных растений : электрон. учеб.-метод. комплекс с креатив. компонентом для спец. 6-05-0511-02 «Биохимия» / М. П. Шапчиц ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 207 с. Библиогр.: с. 206–207. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/327690>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 27.03.2025, № 004327032025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальности 6-05-0511-02 «Биохимия» (профилизация «Аналитическая и фармацевтическая биохимия»). Содержание ЭУМК способствует изучению таких вопросов, как общие представления о химическом составе растений, вторичный метаболизм лекарственных растений, использование клеточных культур растений в качестве лекарственного растительного сырья для создания лекарственных препаратов.

УДК 612(075.8) + 591.1(075.8)

Физиология человека и животных : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец.: 1-31 01 04 «Биоинженерия и биоинформатика», 6-05-0511-05 «Биоинженерия и биоинформатика» / БГУ ; сост.: Д. Б. Сандаков [и др.]. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 137 с. : ил. Библиогр.: с. 136–137. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/327771>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 31.03.2025, № 005031032025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальностей 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, ситуационные задачи, вопросы для подготовки к зачету, темы рефератов, список литературы.

УДК 575.852(075.8)

Воронова-Барте Н. В. Молекулярная и биохимическая эволюция живых систем : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 1-31 80 23 «Биоинформатика» / Н. В. Воронова-Барте ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 38 с. Библиогр.: с. 38. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/328059>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 07.04.2025, № 005507042025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс предназначен для магистрантов специальности 1-31 80 23 «Биоинформатика». Он включает в себя теоретический раздел, раздел контроля знаний и вспомогательный раздел, содержащий учебно-программные материалы и список рекомендованной литературы. Курс «Молекулярная и биохимическая эволюция живых систем» предполагает изучение общих вопросов, касающихся особенностей изменчивости биологических последовательностей и методов работы с ними.

УДК 579.25(075.8)

Титок М. А. Генетика микроорганизмов : электрон. учеб.-метод. комплекс для спец. 1-31 01 03 «Микробиология» / М. А. Титок ; БГУ. Электрон. текстовые дан. Минск : БГУ, 2025. 273 с. : ил. Библиогр.: с. 273. Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/329115>. Загл. с экрана. Деп. в БГУ 07.05.2025, № 006707052025. Текст : электронный.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальности 1-31 01 03 «Микробиология». Содержание ЭУМК способствует изучению особенностей организации и функциональной активности генетического аппарата микроорганизмов, а также механизмов его изменчивости, обусловленной мутационными изменениями и процессом рекомбинации. Особое внимание уделено механизмам горизонтального переноса генов, определяющего комбинативную изменчивость и эволюционную пластичность генетического материала.

СОДЕРЖАНИЕ

ФИЗИОЛОГИЯ И КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ

- Куделина Т. Н., Кривобок А. С., Библикова Т. Н., Молчан О. В. Влияние полихроматического LED-освещения с различным соотношением красного и синего диапазонов на рост и развитие растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2*..... 4
- Потапович А. И., Костюк Т. В., ШUTOва Т. Г., Романовская Т. В., Костюк В. А. Цитопротекторное и антиоксидантное действие свободного и наноструктурированного кверцетина при *трет*-бутилгидропероксид-индуцированном повреждении клеток..... 16
- Алексеева М. И., Муравицкая А. О., Мацкевич В. С., Самохина В. В., Тарима В. В., Мучинская П. О., Пишбытко Н. Л., Демидчик В. В. Анализ изменения ростовых параметров и архитектуры главного корня *Arabidopsis thaliana* при воздействии наночастиц оксидов меди и железа ... 25

БИОХИМИЯ

- Гриневиц С. В., Федорович С. В. Метаболическая регуляция рН-градиента митохондрий и окислительного стресса в синапсосомах мозга крыс 36

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

- Артишевская В. Е., Шашко А. Ю., Овсей А. А., Неделько Р. С., Бондаренко В. Ю., Черныш М. А., Гриусевич П. В., Яковец О. Г., Ламан Н. А., Соколик А. И., Демидчик В. В. Особенности роста сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies* на торфяно-перлитных субстратах, обогащенных органическими добавками и минеральными удобрениями с контролируемым высвобождением элементов..... 44
- Мандрик М. И., Максимович А. Ю., Коптелова В. М., Терешко А. Г., Кулик А. В., Лукьянчук Е. С., Грибанова Е. А., Василенко С. Л. Куриный помет как стимулятор биodeградации углеводородов нефти: обзор..... 58

БИОРАЗНООБРАЗИЕ

- Храмцов А. К., Сидорова С. Г. Мучнистая роса растений семейства Crassulaceae в Беларуси: таксономический состав патогенов и их хозяев..... 66

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Ливанова Н. Д., Сидоров А. В. Значение длительности окислительного стресса для развития АФК-зависимой апоптотической деградации ДНК в клетках нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis*..... 73
- Аннотации депонированных в БГУ работ..... 80

CONTENTS

PHYSIOLOGY AND CELL BIOLOGY

- Kudelina T. N., Krivobok A. S., Bibikova T. N., Molchan O. V.* Effect of polychromatic LED lighting with various red – blue ratio on the growth and development of *Arabidopsis thaliana* wild type plants and *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants 4
- Potapovich A. I., Kostyuk T. V., Shutava T. G., Ramanouskaya T. V., Kostyuk V. A.* Cytoprotective and antioxidant effects of free and nanostructured quercetin in *tert*-butyl hydroperoxide-induced cell damage 16
- Aliakseyeva M. I., Muravitskaya A. O., Mackievic V. S., Samokhina V. V., Tarima V. V., Muchinskaya P. A., Pshybytko N. L., Demidchik V. V.* Analysis of changes in growth parameters and primary root architecture of *Arabidopsis thaliana* under the influence of copper and iron oxide nanoparticles 25

BIOCHEMISTRY

- Hrynevich S. V., Fedorovich S. V.* Metabolic regulation of mitochondrial pH gradient and oxidative stress in rat brain synaptosomes 36

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

- Artishevskaya V. E., Shashko A. Yu., Ovsey A. A., Nedelko R. S., Bandarenka U. Yu., Charnysh M. A., Hryvusevich P. V., Yakovets O. G., Laman N. A., Sokolik A. I., Demidchik V. V.* Growth characteristics of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seedlings in peat-pearlite substrates enriched with organic and mineral controlled-release fertilisers 44
- Mandryk M. I., Maksimovich A. Yu., Kaptselava V. M., Tsiareshka A. G., Kulik A. V., Lukyanchuk Ye. S., Gribanova E. A., Vasilenko S. L.* Chicken manure as a stimulator of the oil hydrocarbons biodegradation: review 58

BIODIVERSITY

- Khramtsov A. K., Sidorova S. G.* Powdery mildew of plants of the family Crassulaceae in Belarus: taxonomic composition of pathogens and their hosts 66

SHORT COMMUNICATIONS

- Livanova N. D., Sidorov A. V.* The importance of oxidative stress duration for the development of ROS-dependent apoptotic DNA degradation in cells within nerve ganglions of the mollusc *Lymnaea stagnalis* 73
- 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.
№ 2. 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».

Редакторы *М. Д. Баранова, О. А. Семенец*
Технический редактор *В. В. Пишкова*
Корректор *Л. А. Меркуль*

Подписано в печать 30.06.2025.
Тираж 25 экз. Заказ 1149.

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

© БГУ, 2025

**Experimental Biology
and Biotechnology.
No. 2. 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».

Editors *M. D. Baranova, O. A. Semenets*
Technical editor *V. V. Pishkova*
Proofreader *L. A. Merkul'*

Signed print 30.06.2025.
Edition 25 copies. Order number 1149.

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

© BSU, 2025