

**Министерство образования Республики Беларусь
Полесский государственный университет**

**СБОРНИК
материалов III международной
научно–практической конференции
“Биотехнология:
достижения и перспективы развития”**

**Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь,
22–23 ноября 2018 г.**

Пинск 2018

УДК 60
ББК 30.16
Б63

Редакционная коллегия:
Шебеко К.К. (гл. редактор),
Волкова Е.М., Жерносеков Д.Д., Кручинский Н.Г., Пигаль П.Б.,
Русина Ю.Н., Цвирко Л.С., Чещевик В.Т.

Биотехнология: достижения и перспективы развития: сборник материалов III международной научно–практической конференции, УО “Полесский государственный университет”, г. Пинск, 22–23 ноября 2018 г. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: К.К. Шебеко [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2018. – 147с.

ISBN 978–985–516–545–4

Приведены материалы участников III международной научно–практической конференции “Биотехнология: достижения и перспективы развития”.
Материалы изложены в авторской редакции.

УДК 60
ББК 30.16

ISBN 978–985–516–545–4

© УО “Полесский государственный университет”, 2018

БИОТЕХНОЛОГИИ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

УДК 636.087.8:632.9

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТА ЛЕПИДОЦИД П В БОРЬБЕ С РОЗАННОЙ ЛИСТОВЕРТКОЙ (*ARCHIPS ROSANA L.*) НА ГОЛУБИКЕ ВЫСОКОРОСЛОЙ

Безрученко Николай Николаевич, к.б.н., доцент
Тыновец Сергей Васильевич, старший преподаватель
Полесский государственный университет

Голубика высокорослая (*Vaccinium coveilianum L.*) – листопадное растение семейства брусничные. Ягоды ее богаты органическими кислотами, фенольными соединениями, которые выполняют важные физиологические функции в организме человека. Как все сочные плоды, ягоды голубики высокорослой являются диетическим продуктом. Поскольку в них содержится мало натрия, много калия и пектинов, голубичная диета прекрасно выводит из организма шлаки, в том числе радиоактивного происхождения. Благодаря высокому содержанию фруктового сахара, ягоды хорошо усваиваются диабетиками. Ее ягоды не только тормозят процессы старения, но и омолаживают организм [4].

Фитофагов голубики высокорослой относительно немного. Вместе с тем, в насаждениях повсеместно встречается розанная листовертка (*Archips rosana L.*). Розанная листовертка является наиболее распространенным и вредоносным видом из всего семейства листоверток. Имаго розанной листовертки можно отличить по передним крыльям золотистого или светло-коричневого цвета с темными поперечными полосами. Размах крыльев у самок составляет до 22 мм, а у самцов — до 19 мм [2].

Самка откладывает около 250 яиц группами от 40 до 100 штук на коре и на развилках ветвей. Молодые гусеницы имеют зеленовато-желтый окрас, а затем обретают буровато-желтый цвет. Развитие гусениц длится до 60 дней, а куколки — около 14 дней. За сезон развивается одна генерация [2].

Гусеницы первого и второго возрастов выгрызают почки, бутоны, а затем переходят и на цветы. Гусеницы старших возрастов сворачивают листья в трубочки или клубки, повреждают также завязи и плоды, выгрызая в мякоти ямки неправильной формы, которые иногда достигают семенной камеры [2].

Использование биопрепаратов против розанной листовертки позволяет получать продукцию, отвечающую самым высоким экологическим требованиям. В борьбе с насекомыми-фитофагами на ягодных культурах хорошей биологической эффективностью отличается препарат Лепидоцид.

Лепидоцид является инсектицидным биологическим препаратом контактно-кишечного и репеллентного действия. Он высокоэффективен в

борьбе с листогрызущими вредителями. В состав Лепидоцида входят следующие компоненты: клеточные культуры и споры продуцента *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*, дельта-эндотоксин белково-кристаллической формы, инертный наполнитель, который обеспечивает стабильность и сохранность препарата [1].

Споры *Bacillus thuringiensis*, входящие в состав Лепидоцида, после попадания в кишечник насекомого прорастают и проникают сквозь стенку кишечника, попадая в гемолимфу. В гемолимфе бактерии активно размножаются, вызывая септицемию насекомого. Белковый токсин, содержащийся в препарате, приводит к общему параличу пищеварительного тракта насекомого в течение первых 4-х часов после попадания в желудок. Затем, в течение 12–24 часов, развивается общая бактериальная септицемия организма насекомого. При достаточной дозе препарата гусеницы прекращают питаться, перестают двигаться, меняют окраску, сморщиваются, чернеют и массово погибают в течение 3–7 суток [3].

Лепидоцид можно смешивать в баковых смесях с другими биологическими препаратами. Препарат обладает совместимостью со многими химическими пестицидами, а также возможно использование в комплексе с макро- и микроэлементами. Лепидоцид может быть успешно использован для решения проблемы резистентности популяций насекомых-вредителей к химическим пестицидам.

Лепидоцид применяют на растениях любого возраста, в любую фазу развития растений (в том числе во время цветения). Биопрепарат не проникает в растительные ткани, не накапливается в листьях и плодах, не оказывает влияния на вкусовые качества продуктов.

Лепидоцид относится к четвертому классу опасности, при применении в рекомендуемых нормах расхода безопасен для человека, теплокровных животных, рыб, гидробионтов, пчел и энтомофагов. Срок ожидания пять дней, что позволяет производить обработку незадолго до сбора урожая [1].

Цель исследования заключалась в оценке эффективности биологического инсектицида Лепидоцид П в борьбе с розанной листоверткой (*Archips rosana* L.) на голубике высокорослой.

Опыты были заложены на посадках голубики высокорослой коллективного фермерского хозяйства «ФруктГолден» Столинского района Брестской области. Сорт голубики – Блюкроп.

Обработку насаждений голубики высокорослой проводили после массового отрождения гусениц розанной листовертки. Поскольку выход из яиц гусениц вредителя растянут во времени, вторую обработку препаратом проводили спустя 7 дней после первой.

Рабочий раствор препарата Лепидоцид П готовили в день обработки из расчета 1,5 кг/га. Препарат размешивали в чистой воде при температуре 18 °С. Для повышения эффективности и продления срока действия биоинсектицида в рабочий раствор добавляли прилипатель Липосам (1 л/га), который предварительно растворяли отдельно в небольшом количестве воды в пропорции 1:1 и тщательно размешивали до однородной массы.

Обработку плодоносящих насаждений голубики высокорослой проводили в сухую безветренную погоду в вечерние часы при температуре воздуха 20 °С. В контроле вносили воду. Опыт заложен в четырехкратной повторности, одна повторность – 25 м². Расход рабочей жидкости при проведении обработки препаратом Лепидоцид составил 800 л/га.

Оценку биологической эффективности проводили путем подсчета численности погибших личинок розанной листовертки на учетных делянках опыта. Расчет биологической эффективности осуществляли по общепринятой методике. Полученные данные статистически обрабатывали методом дисперсионного анализа.

В таблице приведены результаты исследований по определению биологической эффективности биоинсектицида Лепидоцид П в отношении гусениц розанной листовертки на посадках голубики высокорослой.

Таблица – Эффективность биоинсектицида Лепидоцид П против гусениц розанной листовертки (*Archips rosana* L.) на посадках голубики высокорослой

(КФХ "ФруктГолден", Столинский район Брестской области, 2018г.)

Вариант опыта	Численность погибших гусениц вредителя, особей	Биологическая эффективность, %
Контроль (вода)	1,3	–
Лепидоцид П	16,5	71,8
Лепидоцид П + Липосам	18,8	82,5
НСР ₀₅	0,04	–

Результаты опытов показали, что применение биопрепарата Лепидоцид П перспективно в борьбе с гусеницами розанной листовертки на посадках голубики высокорослой. Биологическая эффективность препарата составила 71,8%. Использование прилипателя Липосам позволило увеличить эффективность обработки на 10,7 % и повысить биологическую эффективность до 82,5%. Таким образом, биопрепарат Лепидоцид П обладает значительным потенциалом биологической активности для контроля численности гусениц розанной листовертки на голубике высокорослой.

Список использованных источников

1. Агансонова, Н.Е. Биологическая эффективность новых микробиологических препаратов против насекомых вредителей / Н.Е. Агансонова, В.А. Павлюшин // Защита растений на рубеже ХХ1в. – Минск, 2001.– С. 332–335.
2. Бабенко, З.С. Насекомые фитофаги плодовых и ягодных растений лесной зоны Приобья / З.С. Бабенко. – Томск, 1982. – 268с.
3. Бурцева, Л.И. Бактериальные болезни насекомых / Л.И. Бурцева; М.В. Штерншис; Г.В. Калмыкова //Патогены насекомых. Структурные и функциональные аспекты. – М.: Круглый год, 2001. – С. 145–189.
4. Рассел, Д. Голубика высокорослая / Д. Рассел, Р. Кон. – М.: Книга по Требованию. – 2013. – 144 с.

УДК 635.9.594.2

**БЛЕТИЛЛА ПОЛОСАТАЯ (*ORCHIDACEAE* JUSS.)
В ОРАНЖЕРЕЙНОЙ КУЛЬТУРЕ**

*Бурчик Наталия Анатольевна,
Козлова Ольга Николаевна,
Гетко Нелли Владимировна, д.б.н., доцент
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

Сохранение биоразнообразия мировой флоры является приоритетным направлением деятельности ботанических садов. Это в полной мере актуально для растений тропического и субтропического поясов Земли, испытывающих интенсивные антропогенные нагрузки в естественных местах произрастания и сохраняемых в оранжереях умеренного климата. Орхидеи в этом плане особенно чувствительны к изменению факторов среды в местах их естественного обитания, и при увеличении антропогенных нагрузок исчезают первыми [1, с. 226; 2, с. 65].

В коллекции Центрального Ботанического сада НАН Беларуси произрастает 333 вида орхидей, относящихся к четырем экологическим группам: эпифитные (*Vanda coerulea* Griff. ex Lindl., *Ascocentrum miniatum* (Lindl.) Schltr.), литофитные (*Dendrobium kingianum* Bidwill ex Lindl.), бриофильные (*Bulbophyllum clandestinum* Lindl.), геофитные орхидеи. И если в первых трех группах орхидеи чаще представлены красивоцветущими видами, то среди геофитных орхидей, таких сравнительно немного, и одним из них является род *Bletilla* Rchb.f.. Среди представителей данного рода встречаются растения с крупными и яркими цветками. К ним относится *Bletilla striata* (Thunb.) Rchb.f., – Блетилла полосатая.

Данный вид произрастает в Японии (в северной части о.Хонсю), на Южных Курилах, в Китае и Вьетнаме. Растет на лугах, на средних или больших высотах. Соцветие – малоцветковая кисть. Длина цветоносов, в зависимости от вида, от 20 до 40 см. Цветки мелкие, со слабым ароматом, имеют классическую орхидную форму. Листья широкие гофрированные, ланцетовидные. Соцветие, образующиеся на верхушке побега, может иметь до 8 цветков и от 2 до 5 см в диаметре [3, с.80]. Корневая система представлена коротко корневищными клубнелуковицами, несущими 6–8 корней до 30 см длиной [4, с.73].

И хотя в условиях естественных популяций у видов с крупными и многоцветковыми побегами образуется от 20 до 100 тысяч семян, число протокормов и молодых растений, сохранившихся в потомстве, сравнительно не велико [2, с. 65]. Посадочный материал *Bletilla striata* в условиях ЦБС НАН Беларуси был получен с использованием методов культуры *in vitro*. Семенной материал поступил в ЦБС в 2006 году из Conservatoire et Jardin Botaniques (Женева, Швейцария) в рамках международного обмена диаспорами между ботаническими садами. Для получения асептических культур производили посев семян в стерильных условиях. В качестве основной – использована среда MS [5, р.473] с добавлением 1 г/л активиро-

ванного угля. Посевы культивировали в темноте до момента появления протокормов. Далее банки с сеянцами переносили на стеллажи с подсветкой, где после шести месяцев культивирования получали готовые для адаптации растеньица.

Для адаптации полученных *in vitro* растений в одном случае в качестве субстрата был использован мох сфагнум, как традиционный для орхидных после культуры *in vitro*, а в другом – многокомпонентный субстрат, состоящий из верхового торфа, агроперлита, мха сфагнума и мелкой сосновой коры (фракции 0,2–0,3 см) в соотношении 1:1:1:1. Результат адаптации на сфагнуме был отрицательным, растения погибли. На многокомпонентном субстрате сохранилось 90% сеянцев, и данный тип субстрата в настоящее время используется нами для адаптации орхидей – геофитов.

Виргинильный период у сеянцев *Bletilla striata* длился пять лет, и на шестой год они вступили в генеративную фазу. В оранжерейных условиях цветение наступило в зимний период. Длительность цветения составила три недели. В настоящее время у растений наблюдается ежегодное цветение. В условиях оранжерейной культуры в ЦБС НАН Беларуси растения характеризуются следующими морфологическими признаками: клубнелуковица, образованная 6 метамерами, достигает 4–5 см в диаметре, побег несет 4–5 зеленых листа, соцветие терминальное из 4–6 цветков.

Bletilla striata успешно культивируется в Японии, Северной Америке, Германии в качестве садового декоративного растения. Научное название рода *Bletilla* Rchb. f. образовано добавлением уменьшительного суффикса к названию американского рода орхидей *Bletia* Ruiz & Pav. — Блетия. Который, в свою очередь, назван в честь испанского фармацевта и ботаника Luis Blet, жившего в XVIII веке. Представители этих двух родов похожи, при этом растения из рода Блетилла имеют меньшие размеры. Успешно селекционируется. В настоящий момент известно 4 сорта данного вида ('Junpaku', 'Tri Lips', 'Blue Dragon', 'Big Bob') и одна форма – *Bletilla striata* f. *Alba* [6, с.12].

Список использованных источников

1. Хомутовский М.И. Культивирование наземных орхидей и перспективы их использования в озеленении//Цветоводство: история, теория, практика. Материалы VII Международной научной конференции. – Мн., Конфидо, 2016–226 с.
2. Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (Биология, экология, охрана).– М. Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 65 с.
3. Botanica's orchids: over 1,200 species listed / I. Laurel Glen//Thunder Bay Press. –2002. – 80 p.
4. Татаренко И.В. Атлас побегово–корневых модулей орхидных России и Японии. – М. Модерат, 2015. – 73 с.
5. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture / T. Murashige [et al]. // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15. – P. 473–497.
6. Бурчик Н.А. Изыски в цветнике. Садовый дизайн.– Мн., 2018. –Май – июнь. – 12 с.

УДК: 633/635: [582.711.713]

ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИОНОМЕМБРАННЫХ СУБСТРАТОВ ПРИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ВИШНИ В УСЛОВИЯХ *EX VITRO*

***Викс Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник,
Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси
Деревинский Андрей Васильевич, к.с.–х.н., доцент,
заведующий кафедрой общей биологии и ботаники,
Белорусский государственный педагогический университет
имени Максима Танка***

Ограничивающим фактором для промышленного микроразмножения плодовых культур являются проблемы адаптации *ex vitro*. В настоящее время недостаточно чётко решён вопрос перевода пробирочных растений в нестерильные условия. Ещё большей проблемой представляется слабый и недружный рост адаптированных микрорастений после высадки [1].

В связи с рядом особенностей пробирочных растений, такими, как слабое функционирование устьичного аппарата, отсутствие кутикулярного слоя и корневых волосков, могут наблюдаться значительные потери высаженного в субстрат материала, поэтому состав субстрата необходимо подбирать для каждого вида и сорта растений [2–4].

Целью исследования было изучение особенностей влияния иономембранных субстратов на адаптацию к нестерильным условиям предварительно укорененных *in vitro* растений шести сортов вишни.

Объектами исследований являлись растения вишни следующих сортов: Гриот белорусский, Ливенская, Ровесница, Вянок, Ласуха, Новодворская.

Для укоренения растений–регенерантов в условиях *in vitro* использовали половинный минеральный состав питательной среды Мурасиге и Скуга (MS) с добавлением β–индолилмасляной кислоты (ИМК) в концентрации 0,5 мг/л. Длительность субкультивирования составляла 6 недель. В качестве субстратов использовали торф, ионообменный субстрат БИОНА–111, перлит.

Адаптация растений проводилась в условиях культуральной комнаты при освещенности 2,5–3 тыс. люкс, температуре 21–23°C и фотопериоде 16/8 часов. Период адаптации составлял 45 дней, после чего адаптированные растения распикировывались в отдельные горшки [1]. Статистическую обработку проводили, используя ANOVA (однофакторный дисперсионный анализ) в программе *Statistica 6.0*, а также *Excel*.

Получены статистически значимые (критерий Дункана $p \leq 0,05$) различия в уровне приживаемости растений сортов вишни в зависимости от используемого субстрата и сорта (рисунок 1).

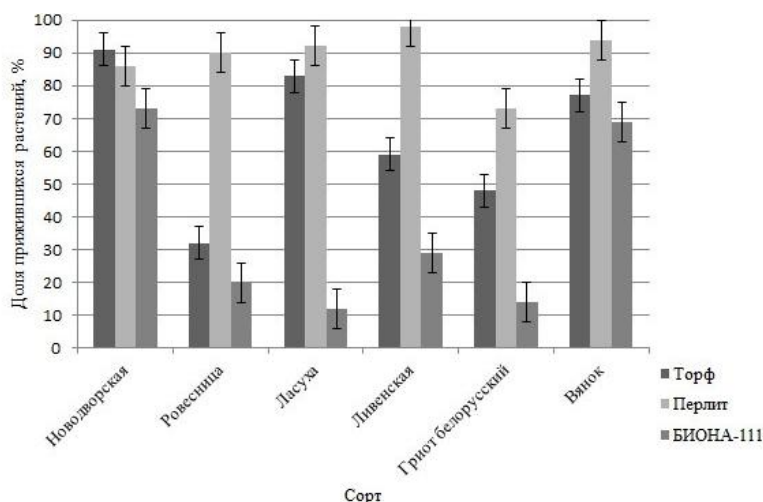


Рисунок 1 – Доля приживаемости (%) на разных субстратах при адаптации растений–регенерантов сортов вишни

Выживаемость растений на перлите по сравнению с БИОНА–111 для вишни сорта Ровесница и Ливенская увеличилась, приблизительно, в 3 раза, для сорта Гриот белорусский – в 5 раз, для сорта Ласуха – почти в 8 раз.

Показано, что адаптация растений вишни сортов Новодворская и Вянок в меньшей степени зависела от адаптационных субстратов, в то время как для сортов Ровесница, Ливенская и Гриот Белорусский высокая результативность адаптации получена только при использовании перлита, для сорта Ласуха – перлита и торфа.

При использовании лучших субстратов доля адаптированных растений, предварительно укорененных *in vitro*, составила: Ливенская – 98 %, Вянок – 94 %, Ласуха – 92 %, Новодворская – 91 %, Ровесница – 90 %, Гриот белорусский – 73 %.

Установлено, что как тип используемого субстрата, так и сорт оказывали значимое влияние (критерий Дункана $p \leq 0,05$) на длину корневой системы растений–регенерантов вишни (рисунок 2).

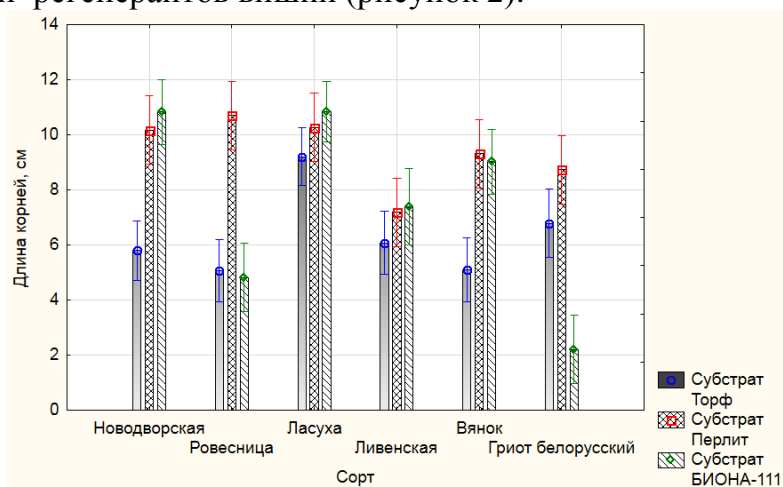


Рисунок 2. – Средняя длина корневой системы сортов вишни в зависимости от субстрата

Наибольшая длина корней для сортов Новодворская, Ласуха и Ливенская была получена при использовании ионообменного субстрата БИОНА–111.

Использование перлита при адаптации растений позволило получить наибольшую среднюю длину корней у сортов Ровесница, Вянок и Гриот белорусский. Для сорта Ровесница превышение показателя средняя длина корней на перлите составило 2 раза. Этот сорт явился наиболее требовательным к адаптационному субстрату при анализе показателей процент прижившихся растений и длина корней.

Наибольшей длиной корневой системы на лучшем субстрате характеризовались растения вишни сортов Новодворская – $10,8 \pm 0,55$ см и Ласуха – $10,8 \pm 0,5$ см, им немного уступили растения сорта Ровесница с результатом $10,7 \pm 0,55$ см, Вянок – $9,3 \pm 0,55$ см, Гриот белорусский – $8,7 \pm 0,55$ см, и самые короткие корни отмечены у растений сорта Ливенская – $7,4 \pm 0,6$ см.

Таким образом, на основании результатов исследований особенностей влияния иономембранных субстратов на адаптацию к нестерильным условиям предварительно укорененных *in vitro* растений сортов вишни: Гриот белорусский, Ливенская, Ровесница, Вянок, Ласуха, Новодворская, можно сделать следующие выводы:

1. Использование субстрата перлит для выращивания растений вишни сортов Ливенская, Ровесница, Гриот белорусский в культуре *ex vitro* позволяет в среднем в 2 раза увеличить долю приживаемости при адаптации растений–регенерантов по сравнению с субстратами торф и БИОНА–111. Сорта вишни Новодворская и Вянок показали наименьшие требования к субстратам при адаптации. Исключение составляет сорт Ласуха, наиболее требовательный к субстрату БИОНА–111.

2. Применение субстратов перлит и БИОНА–111 по сравнению с торфом позволяет сформировать наиболее развитую корневую систему у растений–регенерантов сортов вишни Новодворская, Ласуха, Ливенская, Вянок. Субстрат БИОНА–111 в среднем в 2,5 раза ингибирует рост корневой системы у растений–регенерантов Ровесница и Гриот белорусский по сравнению с субстратом перлит.

3. Лучшими субстратами для адаптации растений сортов вишни Ливенская, Вянок, Ровесница, Гриот белорусский к нестерильным условиям является – перлит; для сорта Ласуха – перлит, торф; а для сорта Новодворская – БИОНА–111.

Список использованных источников

1. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* / Н. В. Кухарчик [и др.] ; под общ. ред. Н. В. Кухарчик. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 208 с.

2. Помология. Слива, вишня, черешня / Н. Н. Туровец [и др.]. – Л. : Урожай, 2004. – Т. 4. – 272 с.

3. Pierik, R. L. M. *In vitro* culture of higher plants / R. L. M. Pierik. – Dordrecht., Martinus Nijhoff Publishers. – 1987. –V. 5. P. – 344.

4. Vegvari, G. Further information to acclimatization of «*in vitro*» / G. Vegvari, J. Vertesy // Intl. J. Hort. Sci. – 1999. – Vol. 5. – P. 54–58.

ПРИМЕНЕНИЕ КОРНЕВИНА ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ ОРАНЖЕРЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ С ФИТОНЦИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ

*Кабушева Ирина Николаевна, к.б.н., ст. научный сотрудник,
Глушакова Наталья Михайловна, научный сотрудник,
Сак Наталья Леонидовна, научный сотрудник
Центральный ботанический сад НАН Беларуси*

В настоящее время интерес к озеленению интерьеров значительно повысился, что связано не только с расширением коммерческого ассортимента комнатных растений и распространением новых тенденций в фитодизайне (например, фитостена, фитомодуль), но и с более глубоким изучением полезных свойств тропических и субтропических видов. В современном фитодизайне сформировалось особое направление – медицинский фитодизайн, т.е. создание фиторекреаций с использованием ассортимента фитонцидных видов растений для профилактики и лечения инфекционных заболеваний человека [1].

Как показали исследования [1], фитонцидные свойства присущи целому ряду тропических и субтропических растений, в том числе представителям семейств Миртовые, Лавровые, Самшитовые. На современном этапе разработку технологий размножения перспективного ассортимента растений актуально проводить с применением регуляторов роста.

Цель данной работы – изучить влияние корневина при укоренении стеблевых черенков оранжерейных растений с фитонцидными свойствами.

Объектами исследования послужили стеблевые черенки самшита вечнозеленого *Buxus sempervirens* L. cv. Suffruticosa, саркококки иглицелистной *Sarcococca ruscifolia* Stapf (*Buxaceae*), каллистемона линейного *Callistemon linearis* (Schrad. & J.C.Wendl.) Colv. ex Sweet, мирта обыкновенного *Myrtus communis* L. cv. Boetica (*Myrtaceae*) из коллекционного фонда оранжерейных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

Черенкование проводили согласно общепринятой методике. Опыт закладывали в двух вариантах: контроль и обработка нижних срезов черенков порошком корневина с повторностью 15–30 черенков в каждом варианте опыта. Через 76 дней после закладки опыта определяли параметры корневой системы и надземной части укоренившихся черенков. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета Statistica 5.0, для установления достоверности различий между выборками использовали тест Уилкоксона для непараметрических данных.

Как следует из полученных данных (таблица), обработка черенков корневином оказала положительное влияние на процент их укоренения по сравнению с контролем, повышая значение этого показателя с 21,4 до 34,5% у *Buxus sempervirens* cv. Suffruticosa, с 71,4 до 100 % у *Sarcococca ruscifolia* и с 25,0 до 53,9 % у *Myrtus communis* cv. Boetica. Черенки *Callistemon linearis* проявили лучшую способность к укоренению в кон-

трольном варианте – процент укоренения составил 48,3%, в то время как в варианте с корневином наблюдали отрицательный эффект – данный показатель снизился до 27,6%.

Таблица – Процент укоренения и морфологические параметры укорененных стеблевых черенков представителей семейств *Buxaceae* и *Myrtaceae* при применении корневина

Морфологический параметр	<i>Buxus sempervirens</i> cv. Suffruticosa	<i>Sarcococca ruscifolia</i>	<i>Callistemon linearis</i>	<i>Myrtus communis</i> cv. Boetica
	контроль корневин	контроль корневин	контроль корневин	контроль корневин
Число укоренившихся черенков, %	$\frac{21,4}{34,5}$	$\frac{71,4}{100}$	$\frac{48,3}{27,6}$	$\frac{25,0}{53,9}$
Длина зоны корнеобразования, см	$\frac{2,65 \pm 0,89}{3,67 \pm 0,41}$	$\frac{0,80 \pm 0,25}{0,67 \pm 0,18^*}$	$\frac{0,52 \pm 0,11}{0,49 \pm 0,08}$	$\frac{0,90 \pm 0,08}{2,36 \pm 0,42}$
Число корней первого порядка, шт.	$\frac{21,2 \pm 8,84}{39,8 \pm 7,73}$	$\frac{15,3 \pm 1,86}{14,8 \pm 1,81}$	$\frac{5,29 \pm 1,15}{5,50 \pm 1,18}$	$\frac{5,0 \pm 3,51}{19,0 \pm 4,63}$
Суммарная длина корней первого порядка, см	$\frac{68,9 \pm 35,0}{103,3 \pm 24,4}$	$\frac{35,2 \pm 5,47}{46,9 \pm 5,71^*}$	$\frac{10,4 \pm 2,80}{17,4 \pm 4,02^*}$	$\frac{8,23 \pm 1,18}{31,4 \pm 6,09}$
Длина самого длинного корня, см	$\frac{6,78 \pm 1,09}{6,31 \pm 0,61}$	$\frac{4,09 \pm 0,58}{5,52 \pm 0,45^*}$	$\frac{3,67 \pm 0,49}{5,46 \pm 0,54}$	$\frac{1,77 \pm 0,94}{6,07 \pm 1,13}$
Число листьев в приросте побегов, шт.	$\frac{-}{0,20 \pm 0,02}$	$\frac{2,90 \pm 0,46}{2,80 \pm 0,37}$	$\frac{7,92 \pm 2,56}{13,1 \pm 2,31}$	$\frac{-}{1,0 \pm 0,49}$
Прирост побегов в длину, см	$\frac{-}{0,05 \pm 0,01}$	$\frac{1,01 \pm 0,51}{0,51 \pm 0,24}$	$\frac{2,04 \pm 0,67}{17,3 \pm 4,01^*}$	$\frac{-}{0,20 \pm 0,10}$

Примечание – Знаком* отмечены достоверные различия по сравнению с контролем (при $p \leq 0,05$).

Применение корневина оказало положительное влияние на морфологические параметры укорененных черенков *Buxus sempervirens* cv. Suffruticosa, вызывая увеличение длины зоны корнеобразования, числа корней первого порядка, суммарной длины корней первого порядка. Кроме того, у черенков самшита вечнозеленого сорта Suffruticosa в варианте с корневином отмечался прирост надземной части, в то время как в контроле за период проведения эксперимента отрастания побегов не наблюдалось.

У *Sarcococca ruscifolia* корневином вызывал статистически достоверное увеличение длины корней (суммарная длина корней первого порядка, длина самого длинного корня) и уменьшение длины зоны корнеобразования.

В случае с *Callistemon linearis* обработка черенков корневином приводила к достоверному возрастанию параметров как подземной (суммарная длина корней первого порядка), так и надземной части (прирост побегов в длину).

Для *Myrtus communis* cv. *Voetica* положительный эффект корневина по отношению к контролю отмечен для всех изученных морфометрических параметров корневой системы. У опытных черенков данного сорта мирта обыкновенного, обработанных корневином, наблюдался рост побегов и образование новых листьев в отличие от контрольных черенков (рисунок 1).

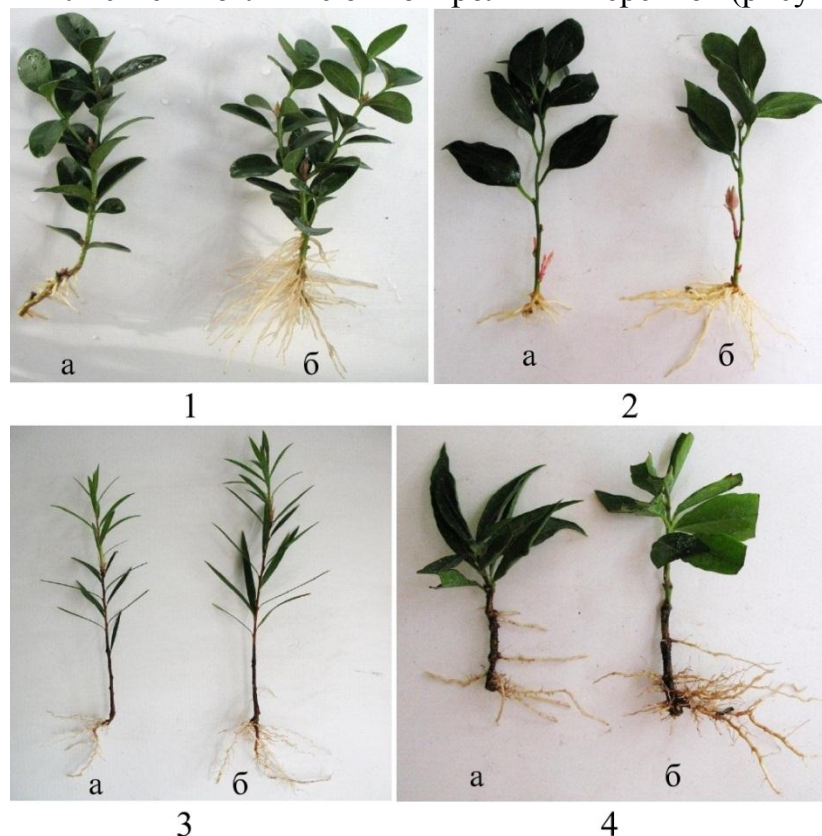


Рисунок 1 – Внешний вид 76-дневных черенков *Buxus sempervirens* cv. *Suffruticosa* (1), *Sarcococca ruscifolia* (2), *Callistemon linearis* (3), *Myrtus communis* cv. *Voetica* (4) в контрольном варианте (а) и в варианте с корневином (б)

Таким образом, применение корневина при укоренении стеблевых черенков оранжевых растений с фитонцидными свойствами из семейств *Buxaceae* и *Myrtaceae* в целом оказывает положительное влияние на их морфологические параметры, что позволяет получить качественный посадочный материал при проведении массового черенкования (рисунок 2).



Рисунок 2 – Однолетние растения *Buxus sempervirens* cv. *Suffruticosa* (1), *Sarcococca ruscifolia* (2), *Callistemon linearis* (3), *Myrtus communis* cv. *Boetica* (4), выращенные из укорененных стеблевых черенков

Список использованных источников

1. Ткаченко, К.Г. Медицинский фитодизайн – использование растений для санации помещений и профилактики инфекционных заболеваний / К.Г. Ткаченко, Н.В. Казаринова // Научные ведомости. – 2008. – № 6 (46). – С. 79–85.

УДК 631.8:635.91

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФИТОГОРМОНОВ В ЛУКОВИЧНЫХ РАСТЕНИЯХ

***Каленчук Татьяна Владимировна, ассистент
Полесский государственный университет
Володько Иван Казимирович, к.б.н.,
зам. директора по научной работе
Центральный ботанический сад НАН Беларуси
Хрипач Владимир Александрович, д.х.н., академик,
зав. лаб. химии стероидов
Институт биоорганической химии НАН Беларуси***

Брассиностероиды представляют собой класс растительных гормонов необходимых для роста, развития и адаптации растений в окружающей среде [1, с.45]. Они присутствуют во всех растительных объектах и обладают ростомодулирующим и адаптогенным действием. Содержание брассиностероидов в растениях составляет менее $10^{-5}\%$ и в сопоставимых концентрациях они проявляют свое биологическое действие [2, с.78; 3, с.48]. Установлено, что при обработке различных цветочно–декоративных культур в концентрациях 0,00025% (эпибрассинолид) и 0,000375% (гомобрассинолид) на литр водного раствора наблюдается заметный ростостимулирующий и адаптогенный эффект, приводящий к увеличению сроков цветения, повышению качества продукции и устойчивости растений к неблагоприятным условиям и болезням. Известно также, что некоторые синтетические аналоги брассиностероидов проявляют заметную биологическую актив-

ность, сопоставимую с природными brassinosterоидами [4, с.26]. Эти факторы обуславливают научный и практический интерес к синтезу и исследованию производных brassinosterоидов, а также к разработке удобных, высокочувствительных и быстрых методов их анализа.

Полевой эксперимент проводился на опытном участке ЦБС НАН Беларуси, лабораторный – в ИБОХ НАН Беларуси в лаборатории химии стероидов. Исследовали влияние 24–эпибрассинолида и 28–гомобрассинолида на рост и развитие 9 сортов гиацинта гибридного (5 садовых групп) и 10 сортов тюльпанов 2–х садовых классов.

Опыт был поставлен в 5 вариантах. Схема постановки опыта: обработка 2–х кратная с интервалом 2 недели в стадии отрастания и начала бутонизации данных сортов. Вариант 1 – контроль (дистиллированная вода), вариант 2 – раствор ЭБ 10^{-7} , вариант 3 – раствор ЭБ 10^{-9} , вариант 4 – раствор ГБ 10^{-7} , вариант 5 – раствор ГБ 10^{-9} . В каждом варианте обрабатывали по 10 растений в 4–х кратных повторностях. Растения обрабатывались методом опрыскивания, до стекания первой капли с листа, по методике С.П. Потапова. Для обработки использовался разбрызгиватель ручной $V=1000$ мл.

Растительный материал собирали в стадии массового цветения каждого сорта для конкретной культуры. Для выделения фракций содержащей brassinosterоиды из вегетативной (лист, луковица) и генеративной (цветок) части пробы собирали в полевых условиях по схеме опыта. Каждую навеску гомогенизировали с добавлением дистиллированной воды. Затем фильтровали через фильтр под насосом. Сухой остаток высушивали и взвешивали, а водную часть экстрагировали этилацетатом для отделения фракции содержащей brassinosterоиды, повторно отфильтровывали через силикогель и упаривали на ротационном испарителе. Пробы смывали с ротационных колб спиртом и переносили в пенициллиновые флаконы. Повторно упаривали и добавляли в каждый образец фосфатный буфер (рН 7,4).

Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора с известной концентрацией brassinosterоида на рабочем буферном растворе (0.02 М фосфатный буфер, рН 7.2, 1% БСА, 1% NaCl и 0.02% Tween 20) с добавлением 0.01% тимеросала в качестве консерванта. Концентрация стероида в калибровочных пробах составляла 0, 1, 3, 10, 30 и 100 нмоль/л. Подготовленные к работе калибровочные пробы, расфасованные в стеклянные флаконы и закупоренные резиновыми пробками, стабильны при 4–8°C как минимум, в течение 4–х месяцев.

В лунки планшета вносили по 50 мкл калибровочных проб. Планшеты инкубировали в течение 2–х часов при 37°C в термостатах.

Созданные на базе лаборатории химии стероидов тест–системы ИФА–БС и ИФА–ГБС использовали для анализа содержания индивидуальных стероидных гормонов в растениях.

Проведенные исследования позволили количественно определить наличие brassinosterоидов в растительном материале изучаемых культур и выявить закономерности изменения уровня гормона в зависимости от ти-

па органа растения (вегетативные и генеративные) и сортовой принадлежности луковичных растений (тюльпаны и гиацинты).

Список использованных источников

1. Khripach, V. A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. de Groot. – San Diego : Academic Press, 1999. – 456 p.
2. Synthesis and study of novel of brassinosteroid derivatives / R.P. Litvinovskaya, M.E. Raiman, T.V. Kalenchuk, V.A. Khripach. / 2 International Symposium “Plantgrowth substances: intracellular hormonal signaling and applying in agriculture”, Kyiv, 8–12 October 2007. / National Academy of sciences of Ukraine, Institute of Bioorg. Chem. And Petroleum Chem. – Kyiv, 2007. – P. 78.
3. Синтез и иммунохимическое определение 28-гомобрассиностероидов / В. А. Хрипач [и др.] // Вести НАН. – 2008. – № 3. – С. 48–58.
4. Каленчук, Т.В. Влияние эпибрассинолида и гомобрассинолида на культуру тюльпанов / Каленчук Т.В., Чернецкая А.Г., Бученков И.Э. // Вести БГПУ, серия 3 «Физика. Математика. Информатика. Биология. География» – №3 (77). – 2013. – С. 24–29.

УДК 582.669.26: 57.053/033

ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОГО УРОВНЯ МОЩНОСТИ НА HAIRY ROOTS ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SILENE* L.

*Ковзунова Ольга Викторовна, к.б.н., научный сотрудник
ГНУ «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси»*

*Эрст Анна Алексеевна, к.б.н., старший научный сотрудник
Центрального сибирского ботанического сада СО РАН
Решетников Владимир Николаевич, академик, заведующий
отделом биохимии и биотехнологии растений*

*ГНУ «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси»*

Вторичные метаболиты растений представляют собой богатейший источник полезных для человека веществ, прежде всего медицинского назначения. Получить низкомолекулярные биорегуляторы в промышленных масштабах не всегда возможно из-за их низкого содержания, а также вследствие ограниченной доступности самих растений. Использование современных биотехнологических подходов может решить проблему доступности природных соединений для практического использования в промышленности нашей республики. Культура генетически трансформированных корней представителей рода смолевка — перспективный источник ценных вторичных метаболитов, в частности фитоэкдистероидов, обладающих высокой гормональной активностью [1]. В последние годы активно исследуется воздействие КВЧ-излучения фактора на фотосинтезирующие организмы. Выдвинут ряд гипотез относительно первичных механизмов действия

КВЧ–излучения на биологические объекты. Тамбиев А.Х с коллегами, суммируя существующие на настоящий момент данные, считают, что наиболее вероятная причина, влияющая на метаболизм облученных клеток и на проявление стимулирующих эффектов, – это изменение транспортной функции мембран, связанное, возможно, с развитием самоускоряющихся механизмов, имеющих место в их липидной фазе в присутствии кислорода [2].

Изначальной задачей был подбор оптимального режима обработки, при котором наблюдалось бы максимальное увеличение содержания БАВ. Основываясь на работах [3, 4] нами были выбраны 3 режима, при которых наблюдалось максимальное повышение исследуемых метаболитов в каллусах. В качестве основных режимов обработки был выбран миллиметровый диапазон: 1). 65–71 ГГц время воздействия 10 минут; 2). 65–71 ГГц время воздействия 20 минут; 3). 64–66 ГГц время воздействия 20 минут.

Анализ содержания флавоноидов и оксикоричных кислот в генетически трансформированных корнях трех представителей рода Смолевка показал, что ЭМП СВЧ оказывает положительный стимулирующий эффект на биосинтез исследуемых БАВ в hairy roots. Наибольший же стимулирующий эффект наблюдался при обработке в миллиметровом диапазоне 65–71 ГГц и времени воздействия 20 во всех исследуемых образцах.

Так, содержание флавоноидов и оксикоричных кислот при режиме 1 в *S. linicola* увеличивалось на ~114 % по сравнению с контролем, а *S. sendtneri* и *S. frivaldszkyana* — на 117 %. Тенденция к увеличению содержания исследуемых веществ наблюдалась и при обработке режимом 3 (64–66 ГГц – 20 мин). Содержание флавоноидов в *S. frivaldszkyana* возросло на 117 % , в *S. linicola* — на 113 %, а в *S. sendtneri* — на 114,5%. При анализе содержания оксикоричных кислот наблюдалась сходная ситуация: в *S. frivaldszkyana* содержание увеличивалось на 133 %, а в *S. linicola* и *S. sendtneri* — не происходило увеличение содержания исследуемого вещества.

При обработке генетически трансформированных корней режимом 3 содержание флавоноидов в *S. linicola*, *S. sendtneri* и *S. frivaldszkyana* увеличилось на 142,65 и 153% по отношению к контролю соответственно. Также наблюдалось увеличение содержания оксикоричных кислот: наибольшее в *S. sendtneri* – на 150%, в *S. frivaldszkyana* на 133%, а у *S. linicola* на 120%.

Как видно, ЭМП СВЧ при всех режимах физического воздействия стимулировал биосинтез БАВ в асептических культурах hairy roots представителей рода *Silene*. Наиболее «отзывчивыми» оказались корни *S. sendtneri*. Возможно, это связано с «начальным» уровнем содержания вторичных метаболитов, т.е. чем меньше содержание, тем больше «ответ».

Были выделены общие пулы белков из генетически трансформированных корней трех представителей рода смолевка, асептически выращенных на среде МС растений рода *Silene* L., а также корней, обработанных электромагнитным излучением миллиметрового диапазона низкого уровня мощности (ЭМП СВЧ) в диапазоне 65–71 ГГц и времени воздействия 10 и

20 минут. Методом 1 D–электрофореза были получены протеомные карты «hairy roots» при воздействии ЭМП СВЧ и проведен их сравнительный анализ.

Обнаружены зоны, в которых присутствуют дифференциально экспрессируемые белки, претендующие на роль белков–маркеров функционального состояния различных представителей рода Смолевка. Были выявлены белки с молекулярной массой от 1224,3 до 8,2 кДа наблюдаемые у всех представителей рода Смолевка. Экспрессия белков с одинаковой молекулярной массой у разных видов значительно отличалась.

Протеомный анализ общего пула клеточных белков генетически трансформированных корней представителя рода Смолевка при воздействии электромагнитного излучения миллиметрового диапазона низкого уровня мощности выявил белки–маркеры, не характерных для hairy roots без обработки и при различной экспозиции.

Для вида *S. linicola* было выявлено 15 белков, не экспрессируемые в корнях, культивируемых без обработки ЭМП СВЧ. Так, обработка в диапазоне 57–71 Гц и экспозиции 10 минут вызвало экспрессию 2 белков–маркеров с Mr 45,9; 22,2 и 20,8 . А при экспозиции 20 минут выявлены белки с Mr 144,4; 98,2; 39,5; 13,2 и 12,1, которые можно считать маркерными белками. Белки с молекулярной массой 180,4; 133,6; 59,1; 30,9; и 20,5 также синтезировались при воздействии ЭМП СВЧ у представителей вида *S. frivaldszkyana* . Эти белки можно расценивать как белки–маркеры повышенного синтеза целевых БАВ hairy roots *S. linicola* при воздействии ЭМП СВЧ.

Также была выявлена группа белков, которые синтезируются в рRi корнях вида *S. sendtneri*, при обработке электромагнитным излучением. Вот белки с Mr 89,7; 24,8; и 9,2 характерны при экспозиции 10 минут, а белки с Mr 48,6; 43,5; и 33,8 при экспозиции 20 минут. Также было выявлено 3 белка, синтезируемые при обработке как в 10, так и 20 минут: 93,2; 73,8 и 17,8 кДа, которые можно считать белками–маркерами hairy roots *S. sendtneri* при воздействии ЭМП. 13 белков с молекулярными массами 125,7; 113,0; 109,5; 85,6; 68,6; 12,1 и 9,7 встречаются также при обработке ЭМП СВЧ у представителей рода *S. frivaldszkyana*, а белки 98,2; 64,8; 57,5; 56,3; 49,8; 18,8 для представителей рода *S. linicola*. Все эти белки можно рассматривать как белки, возможно, отвечающие за повышенный биосинтез БАВ. 9 белков, идентифицируемых при электрофорезе: 104,7; 75,2; 64,8; 51,5; 39,7; 35,7; 20,4; 18,8 и 17,4 кДа, синтезируются в контрольных (без обработки) генетически трансформированных корнях. Для *S. frivaldszkyana* маркерными белками можно считать 13 белков с Mr 74,9; 70,5 при времени обработки 20 минут и 38,7; 17,3 и 8,2 при времени обработки 10 минут. А также белки, экспрессируемые у данного представителя рода смолевки в ответ на обработку: 41,8; 40,9 и 24,8 кДа. Белки с молекулярной массой 54,6; 51,5; 17,9 и 16,5 кДа отмечены у представителей вида *S. frivaldszkyana* как при обработке корней, так и в контрольных (без обработки) образцах.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что обработка ЭМП СВЧ может выступать в качестве физического модификатора метабо-

лизма биологически активных веществ в культурах генетически трансформированных рRi корней представителей рода *Silene*. Оптимальным режимом является миллиметровая обработка в диапазоне 5–71 ГГц и времени экспозиции 20 минут, при котором содержание вторичных метаболитов увеличивается на 33%. Протеомный анализ общего пула клеточных белков выявил белки–маркеры, экспрессия которых сопровождается повышенным биосинтезом вторичных метаболитов.

Список использованных источников

1. Лафон, Р. Фитостероиды и мировая флора: разнообразие, распределение, биосинтез и эволюция / Р. Лафон // Физиология растений. — 1998. — Т. 45. — № 3. — С. 326 – 346.
2. Physiological criterion of cyanobacterium growth stimulation / A. N. Tambiev [et al.] // Proceedings of the 8th International Biotechnology Symposium, Paris, France, 17–22 Juli 1988: abstr. book. – Paris, 1988. – P. 245.
3. Воздействие электромагнитного поля сверхвысоких частот низкого уровня мощности на биосинтез биологически активных веществ в клеточных культурах *Silybum marianum* L. / О. В. Копач [и др.] // Вес. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2015. – № 2. – С. 5–8.
4. Копач, О. В. Воздействие электромагнитного поля на биосинтез БАВ в клеточных культурах *Silybum marianum* / О. В. Копач, Н. В. Пушкина // Гидробиология и общая экология: тез. докл. XXII Междунар. конф. студентов, аспирантов, и молодых ученых, Москва, 13–17 апр. 2015 г. / Моск. гос. ун–т им. М. В. Ломоносова. – М., 2015. – С. 340–341.

Авторы выражают благодарность научному сотруднику института «Ядерных проблем» БГУ Н.В. Пушкиной за помощь в обработке культур ЭМП СВЧ.

УДК 631.523:633ю264

КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ СОЗДАНИИ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ *ALOPECURUS PRATENSIS* L.

¹*Кондрацкая Ирина Павловна, научный сотрудник*

²*Столепченко Валентина Андреевна, к.с–х.н, ст. научный сотрудник*

¹*Яхимук Андрей Николаевич, научный сотрудник*

¹*Чижик Ольга Владимировна, к.б.н., зав. лабораторией*

²*Васько Петр Петрович, к.б.н., зав. отделом*

¹*Решетников Владимир Николаевич, академик НАН Беларуси,
заведующий отделом*

¹*Центральный ботанический сад НАН Беларуси*

²*РУП «Научно–практический центр НАН Беларуси по земледелию»*

Вклад биотехнологии в сельскохозяйственное производство заключается в облегчении традиционных методов селекции растений, разработке

новых молекулярных и клеточных технологий, позволяющих повысить эффективность сельского хозяйства [1]. При создании межвидовых гибридов *Alorpecurus pratensis* L мы использовали метод отдаленной гибридизации, метод эмбриокультуры из незрелой зерновки и ДНК–генотипирование.

Межвидовая и межродовая гибридизация (отдаленная гибридизация) используется в случае, если селекционер ставит задачу получить новые формы в сочетании признаков родительских форм, сильно отличающихся друг от друга. Для отдаленной гибридизации выделяются по одному или нескольким признакам лучшие растения из коллекционных или клоновых питомников (продуктивность, кустистость, облиственность, зимостойкость, устойчивость к болезням). В данной работе гибридизацию проводили в условиях фитотро–тепличного комплекса (ФТК) и в полевых условиях. В фазу полного вымётывания проводилась изоляция растений лисохвоста, в период цветения 12 апреля в ФТК и с 15 мая в поле (рисунок 1). Опыление проводилось при полном цветении метелок без кастрации пыльников.

Для преодоления про– и постгамной несовместимости нами было культивировано на питательную среду более 300 зародышей межвидового гибрида лисохвоста лугового. Специально подобранный состав компонентов питательных сред для культивирования незрелых зародышей предоставляет все необходимые вещества для развития зародыша и, таким образом, заменяет эндосперм. При отдаленной гибридизации в результате рекомбинации генов происходит интенсивный формообразовательный процесс. Это позволяет ускорить отбор перспективных форм, объединяющих геномы в гибридах лисохвоста. Жизнеспособные растения лисохвоста лугового, полученные в результате проведенных биотехнологических работ высаживали в почвенные условия ФТК. Рассада выращивается с проведением подкосов по мере нарастания биомассы при наступлении фазы кущения. Хорошо раскутившиеся растения в условиях ФТК, прошедшие яровизацию, высаживали в полевые условия, в рядки с междурядьем 0,7 м х 0,35 м.



Рисунок 1– Изоляция растений лисохвоста лугового в полевых условиях

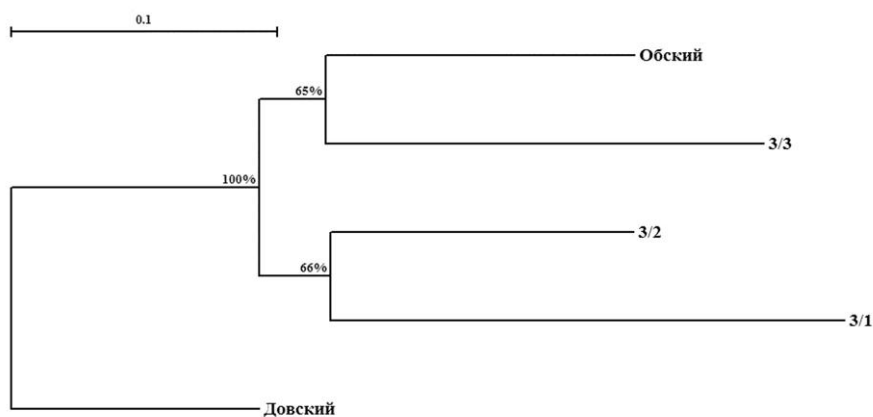


Рисунок 2 – Индивидуальное размещение лисохвоста лугового (0,7 м X 0,35 м)

В питомниках селекционного материала межвидовых гибридов лисохвоста, которые были заложены с индивидуальным стоянием (0,7м X 0,7м и 0,7м X 0,35м) растений (рисунок 2), проводилась оценка как глазомерно по 10–ти балльной шкале (мощность растений, характер и уровень облиственности, кустистость, пораженность болезнями и повреждаемость вредителями, реакция на неблагоприятные метеорологические условия), так и прямым учетом с взвешиванием, измерениями, анализами, с пересчетом на одно растение по основным хозяйственно–ценным признакам (продуктивность зеленой и сухой массы и семян).

Растения перспективных сортообразцов лисохвоста лугового наблюдались при прохождении следующих основных фенологических фаз: всходы в год посева, у растений второго года жизни – весеннее отрастание; кущение; выход в трубку; выметывание; цветение; созревание; позднелетнее кущение.

ДНК–маркирования проводилось с использованием техники ПЦР, для чего было отобраны праймеры, маркирующие межмикросателлитные (ISSR–техника) участки ДНК [2]. Для генотипирования было отобрано 5 ISSR –праймеров, обладающих достаточным полиморфизмом и имеющих воспроизводимую амплификационную активность. Для сортообразцов лисохвоста лугового и родительских форм максимальное количество локусов (ДНК–маркеров) 17 было идентифицировано с помощью праймера UBC–810, минимальное — 7 с использованием праймеров IS3 и IS6. В общей сложности было идентифицировано 340 локусов (ДНК–маркеров). Из всего пула маркеров 282 маркера являлись полиморфными и позволило выявить высокий уровень полиморфизма у исследуемых сортообразцов лисохвоста лугового — в среднем 82,94% . На основании 340 ДНК–маркеров, полученных с использованием трех ISSR–праймеров были рассчитаны генетические дистанции и произведена кластеризация исследованных сортообразцов лисохвоста лугового по методу NJ (метод присоединения соседей), сконструированы отдельные дендрограммы для двух вариантов, где корневым таксоном был выбран один из родительских сортов (Довский или Обский). Данные генотипирования выявили сходную топологию изучаемых сортообразцов лисохвоста лугового в обоих вариантах кластеризации. На дендрограммах видно, что гибриды 3/1 и 3/2 генетически более близки с родительской формой Довский, а гибрид 3/3 — с родительской формой Обский. Значения bootstrap–анализа для всех узлов на дендрограммах больше 50%, что указывает на достоверную топологию ветвей.



Корневой таксон *Довский*. Узлы, имеющие достоверную топологию (более 50%), обозначены соответствующим значением bootstrap-анализа (1000 реплик) в %.

Рисунок 3 – NJ дендрограмма, отражающая степень генетического сходства между сортообразцов лисохвоста лугового на основе 340 ДНК-маркеров

По данным мультилокусных ISSR-спектров для исследованных образцов лисохвоста лугового впервые в стране составлены генетические паспорта. В таблице приведен пример генетического паспорта сортообразца 3/3 межвидового гибрида лисохвоста лугового.

Таблица – Мультилокусный генетический паспорт *Alopecurus pratensis* L.. сортообразец 3/3

ПраЙмеры	Маркеры
ISSR	
IS3 (C)	⁴ C ₁₄₅₀ ⁵ C ₁₄₀₀ ⁸ C ₁₂₄₄ ¹⁰ C ₇₈₀ ⁴ C ₇₄₀ ⁶ C ₇₀₅ ⁶ C ₆₅₀ ⁶ C ₆₁₂ ¹⁰ C ₅₅₅ ⁷ C ₅₁₃ ⁸ C ₃₉₀ ¹⁰ C ₃₇₃ ⁵ C ₂₇₇
UBC-810 (I)	⁶ I ₁₅₅₀ ⁸ I ₁₁₂₀ ⁹ I ₁₀₅₀ ¹⁰ I ₉₃₀ ⁶ I ₈₃₀ ⁵ I ₆₆₀ ⁶ I ₅₈₅ ⁴ I ₅₂₀
B4 (U)	⁵ U ₂₅₀₀ ⁵ U ₁₇₅₀ ⁵ U ₁₄₃₀ ¹⁰ U ₁₂₀₀ ⁸ U ₁₀₉₀ ⁸ U ₉₆₀ ⁸ U ₉₂₀ ⁵ U ₈₈₀ ⁴ U ₇₀₆ ³ U ₆₇₆ ⁷ U ₆₄₀ ⁹ U ₅₄₀ ⁷ U ₃₇₇
IS6 (F)	F ₁₅₀₅ F ₁₂₅₀ F ₉₃₀ F ₈₉₀ F ₅₀₅ F ₄₇₀ F ₃₈₅ F ₂₇₇ F ₂₃₂
H12(H)	H ₈₂₀ H ₇₈₅ H ₇₄₅ H ₆₄₀ H ₅₅₅ H ₄₂₀ H ₄₀₅ H ₃₉₀ H ₃₀₅

Список использованных источников

1. Генетические основы селекции растений. В 4т. Т.4.Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия/А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева.– Минск: Беларуская навука, 2014.–653 с.
2. Poyraz, I. An efficient DNA isolation method from *Nigella sativa* L.(Ranunculaceae) seeds for RAPD and ISSR analysis /I. Poyraz// Bilecik Seyh Edebali Universitesi Fen Bilimleri Dergisi, Cilt:1,Sayi:1, 2014.–P.22–27.

УДК 581.14.6:634.738:634:737

**ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА
РЕГЕНЕРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ
ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ *VACCINIUM
CORYMBOSUM* L.**

Кутас Елена Николаевна, д.б.н., гл.н.с.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси

Питательная среда – это тот субстрат, на котором протекают все морфогенетические и регенерационные процессы характерные для экспланта, введенного в культуру *in vitro*. Подбору и оптимизации состава питательных сред посвящено огромное количество публикаций. Их анализ позволяет прийти к выводу, что успех клонального микроразмножения растений зависит от присутствия в питательной среде компонентов, способных вызывать регенерацию растений из ткани экспланта.

На первом этапе микроразмножения в целях сохранения жизнеспособности эксплантов одним из обязательных условий является добавление в питательную среду антиоксидантов, которые способствуют предотвращению активации гидролитических ферментов, вызывающих гибель эксплантов.

После выживания эксплантов на питательной среде перед исследователем стоит задача вызвать у них определенные морфогенетические процессы, например, каллусогенез, образование соматических эмбриоидов, регенерацию побегов непосредственно из ткани экспланта, дифференциацию почек в каллусе или в ткани экспланта и другие процессы.

В этой связи в питательную среду необходимо вносить соединения гормональной природы, соли азота, биологически активные вещества негормональной природы (витамины, аминокислоты, гидролизат казеина).

Потребность экспланта в тех или других факторах, способных индуцировать регенерацию побегов для каждого вида растения определяется экспериментальным путем [1–5].

Нами были проведены экспериментальные исследования, касающиеся изучения регенерационного потенциала 14 интродуцированных сортов голубики высокой (Bluecrop, Blueray, Dixi, Herbert, Rancocas, Covill, Earlyblue, Scammel, Atlantic, Concord, Tifblue, Woodart, Delite, Stanley) на 4 типах питательных сред: Мурасиге–Скуга (MS), WPM (среда для древесных растений), Андерсона, Luge, различающихся по содержанию солей и витаминов, гормональных добавок и других компонентов, представленных 18 модификациями (см. Таблицу).

В качестве первичных эксплантов использовали почки молодых, только что распустившихся побегов. Материал стерилизовали в 0,1% растворе азотнокислого серебра. Учет количества регенерантов на один эксплант проводили после второго субкультивирования.

Таблица – Состав питательных сред, использованных для изучения регенерационной способности интродуцированных сортов *Vaccinium corymbosum* L.

Компонент, мг/л	Модификация среды																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Соли и витамины по MS	+	-	1/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Соли и витамины по WPM	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
Соли и витамины по Андерсону	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Соли и витамины по Lyene	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
Мезоинозит	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	80	80	100	80	100	100
Аденин сульфат	-	80	80	80	80	40	60	80	80	60	60	40	60	-	80	60	-	-
Индолилуксусная кислота	1,0	5,0	-	2,0	2,0	1,5	2,5	4,0	4,0	5,0	5,5	5,0	-	-	4,0	1	1	1
Гибберелловая кислота	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	2,0	-	-	-	-	-
Нафтилуксусная кислота	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	1,0	2,0	-	-	-	-
Бензиламинопурин	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	5,0	4,0	-	-	-	-
Изопентениладенин	10	10	2,0	5,0	4,0	-	10	15	15	20	25	20	-	-	15	5	5	5
Сахароза, г/л	20	20	20	30	30	20	20	30	30	20	25	25	25	25	30	20	30	30
Агар, г/л	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
pH	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	5,8	5,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8

Примечание: <<+>> – компонент присутствует в среде; <<->> – компонент отсутствует в среде; 1/2 –половинная доза компонента в среде.

Анализ результатов экспериментальных исследований показал, что регенерационный потенциал интродуцированных сортов голубки высокой находится в зависимости от модификации среды, другими словами от ее состава, от компонентов, присутствующих в ней.

Регенерация отсутствовала у всех исследованных сортов на среде 12-ой модификации, содержащей соли и витамины по Lugene.

Аналогичным образом вели себя сорта на питательных средах 3-ей, 6-ой, 7-ой модификации. Из 5 модификаций с солями по Lugene (6-ой, 7-ой, 12-ой, 15-ой, 16-ой) наиболее благоприятной оказалась среда 15-ой модификации, так как на ней наблюдали регенерацию побегов у всех сортов без исключения.

Из трех модификаций питательных сред (1-ой, 3-ей, 10-ой), в основу которых положена среда Мурасиге–Скуга, на среде 1-ой и 10-ой модификации подавляющее большинство сортов голубки высокой регенерировали побеги.

Исследованные нами 4 модификации питательных сред (5-ая, 9-ая, 14-ая, 18-ая) на основе среды Андерсона дают основание считать, что среда 9-ой модификации является оптимальной для регенерации интродуцированных сортов голубки высокой, так как регенерационный потенциал составил от 2 у сорта Woodart до 7 у сорта Dixi регенерантов на эксплант.

Из исследованных 6 модификаций питательных сред по WPM (2-ой, 4-ой, 8-ой, 11-ой, 13-ой, 17-ой) для успешной регенерации побегов оптимальной оказалась среда 8-ой модификации, на которой регенерационный потенциал равен в среднем 4 регенеранта на эксплант.

Таким образом, из исследованных 18 различных модификаций питательных сред, только на средах двух модификаций (8-ой по WPM и 9-ой по Андерсону), отмечен самый высокий регенерационный потенциал для всех 14 сортов без исключения. Следовательно, эти два состава питательных сред (WPM 8-ой и Андерсона 9-ой модификации) целесообразно использовать для клонального микроразмножения интродуцированных сортов голубки высокой.

Список использованных источников

1. Сорока, А.И. Влияние состава среды на процессы каллусогенеза и регенерации в культуре пыльников льна / А.И. Сорока // Цитология и генетика. – 2004. – Том 38, № 2. – С. 20–25.

2. Noreldaim, H. Effects of nutrient media constituents on growth and development of banana (*Musa* spp.) shoot tips cultured *in vitro* / H. Noreldaim // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Vol. 11, N 37. – P. 9001–9006.

4. Wiszniewska, A. Promoting effects of organic medium supplements on the micropropagation of promising ornamental *Daphne species* (Thymelaeaceae) / A. Wiszniewska, E. Hanus-Fajerska, K. Grabski, Z. Tukaj // In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant. – 2013. – Vol. 49, N 1. – P. 51–59.

3. Duangsee, K. Influence of Nutrient Composition and Plant Growth Regulators on Callus Induction and Plant Regeneration in Glutinous Rice (*Oryza sativa* L.) / K. Duangsee, S. Bunnag // Pakistan Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 17, N 1. – P. 98–103.

5. Mohammadi, A. Effect of Different Hormonal Treatment on Stevia (rebaudiana Bertoni) Micro-propagation / A. Mohammadi, R. Zarghami, A. Kashani, G. Mohammadi // Pakistan Journal of Biological Sciences. – 2017. – Vol. 20, N 9. – P. 457–464.

УДК 577.21:57.088.2:582.912.46

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИК ВЫДЕЛЕНИЯ ФРАГМЕНТОВ ДНК ГОЛУБИКИ ВЫСОКОЙ ИЗ АГАРОЗНОГО ГЕЛЯ

*Пасовец Маргарита Вадимовна, магистрант
Водчиц Наталья Васильевна, зав. НИЛ КТР
Волкова Елена Михайловна, к.с./х.н., доцент
Полесский государственный университет*

Введение. Метод электрофореза основан на разделении (фрагментов) молекул ДНК, движущихся с различной скоростью в электрическом поле. С помощью данного метода в агарозном геле фрагменты ДНК, различающиеся по размеру легко разделить, а затем исследовать каждый отдельно. Агарозный гель образует трехмерную полимерную ячеистую структуру, электронейтрален, химически инертен по отношению к ДНК. Благодаря этим свойствам легко можно выделить необходимый фрагмент ДНК с сохранением его биологической активности [4, с. 17].

Элюирование фрагментов ДНК из агарозных гелей – это стандартный метод, который часто используется в молекулярной биологии. Хотя существует ряд протоколов и коммерческих наборов, доступных для выделения фрагментов ДНК из агарозных гелей, может возникать ряд трудностей таких как: извлечение малого количества ДНК, недостаточное удаление ингибирующих веществ, присутствующих в агарозе, а также соосаждение агарозы с ДНК [6, с. 2862].

Цель работы – сравнение двух методик выделения фрагментов ДНК голубики высокой из агарозного геля.

Методика и объекты исследований. Исследования были проведены на базе научно-исследовательской лаборатории прикладной и фундаментальной биотехнологии биотехнологического факультета учреждения образования “Полесский государственный университет” (далее БТФ ПолесГУ). В качестве исследуемых объектов использовали ткани голубики высокой, сортов Bluecrop, Northland, Bluejay, произведенные методом клонального микроразмножения *in vitro* на базе научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве БТФ ПолесГУ.

ДНК выделяли протоколом «ЦТАБ–PVP–меркапроэтонол» [1, с.116]. Измерение концентрации ДНК проводили по стандартной методике на спектрофотометре NanoDrop 1000, в диапазоне длин волн 220–350 нм.

Реакционная смесь с праймером UBC 818 для проведения ISSR–ПЦР готовилась в объеме 25 мкл и включала стандартные компоненты [1, с. 116].

Длину фрагментов амплифицированной ДНК оценивали с помощью горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле. В дальнейшем, выяв-

ленный у всех сортов, мономорфный фрагмент длиной 450 п.н. элюировали двумя методиками: через иглу и с помощью центрифугирования.

Реампликоны использовали в качестве ДНК–матрицы в повторных ISSR–ПЦР–реакциях.

Результаты и их обсуждение. В соответствии с техническими возможностями нашей лаборатории для выделения фрагментов ДНК из агарозного геля были протестированы следующие методики: выделение фрагмента ДНК из геля через иглу и метод элюции ДНК из агарозного геля с помощью центрифугирования [2, с. 79; 3, с. 155]. Данные методы достаточно доступны и не требуют затрат большого количества времени. Концентрация и очистка ДНК, выделенной двумя методиками, приведена в таблице. Значения для ДНК, полученной первым способом (методом иглы) более низкие. Возможно, это связано с тем, что даже через иглу 26 калибра вместе с растворенной ДНК в пробирку попадает небольшое количество агарозного геля.

Таблица – Спектрофотометрические характеристики образцов ДНК

	1 метод		2 метод	
	Конц (нг/мкл)	Степень очистки λ 260/280	Конц (нг/мкл)	Степень очистки λ 260/280
Bluecrop	27.0	1.65	33.4	1.78
Northland	26.3	1.68	90.4	1.76
Bluejay	40.6	1.66	39.8	1.79

В дальнейшем элюированные фрагменты подвергали обогащению через повторную амплификацию и проводили электрофоретический анализ. При наличии маркеров известной молекулярной массы возможно определение размера фрагмента ДНК. На полученной электрофореграмме помимо фрагмента 450 п.н. наблюдали еще один – длиной 300 п.н.. Это можно объяснить тем, что изначально фрагмент ДНК не разделился по размеру.

При сравнительном анализе ISSR–ПЦР–профилей видно, что для фрагментов, выделенных второй методикой, характерны четкие контуры (свидетельствует об отсутствии примесей и остатков геля). Профили, полученные с помощью первой методики, более размытые (рис.).

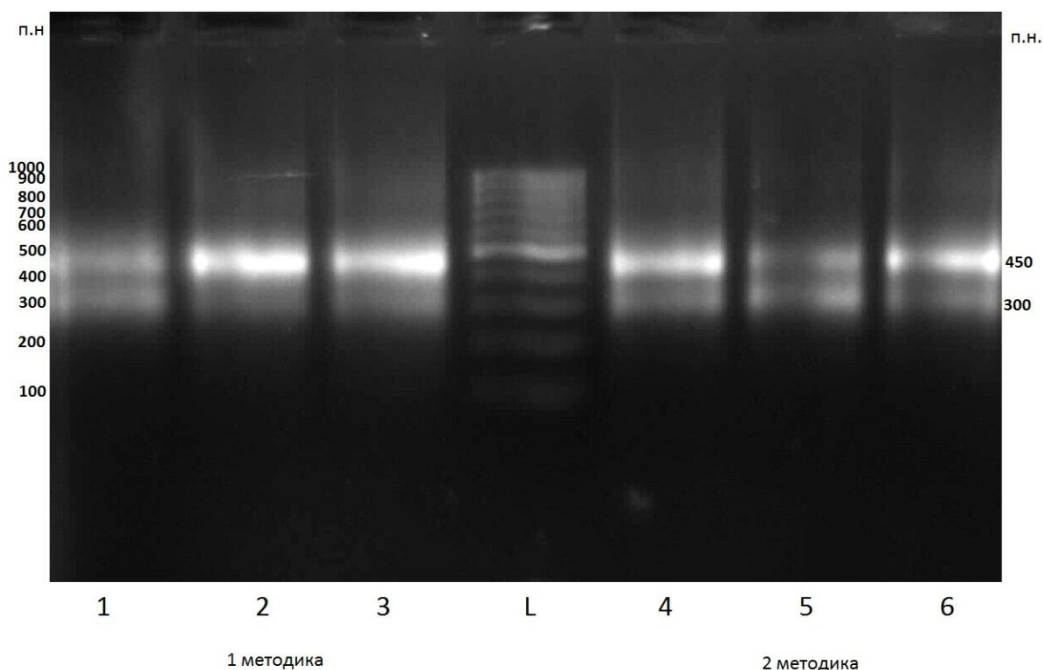


Рисунок – Электрофореграмма ISSR–фрагмента 450 п.н. (праймер UBC 818) для сортов голубики: 1,4 – Bluecrop; 2,5 – Northland; 3,6– Bluejay. L – размерный стандарт (п.н.). 1 методика – выделение фрагмента ДНК из геля через иглу, 2 методика – выделение фрагмента ДНК из агарозного геля с помощью центрифугирования.

Вывод. По результатам исследований можно сделать вывод, о том, что обе методики могут использоваться для элюирования ДНК последовательностей. Но более эффективной является метод элюции ДНК из агарозного геля с помощью центрифугирования. В дальнейшем полученные реампликоны могут использоваться в различных молекулярно–биологических исследованиях, например как CAPS–анализ и создание SCAR–маркеров на основе уникальных последовательностей ДНК.

Список использованных источников

1. Водчиц, Н.В. Применение ISSR–маркеров для генетической паспортизации и сертификации растений рода *Vaccinium* / Н.В. Водчиц // Весці НАНБ. Сер. біял. Навук. – 2016. – № 3.– С. 115–120.
2. Методы работы с ДНК / Методическое пособие / Н.А. Глинская [и др.] – Пинск: ПолесГУ, 2017. – 88 с.
3. Остерман, Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование: практ. пособие / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
4. Сельскохозяйственная биотехнология: учебник для вузов / В. С. Шевелуха [и др.]; под ред. В. С. Шевелухи. – 2–е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. Шк., 2003. – 469 с.
5. Wang, Z. Isolation of DNA fragments from agarose gel by centrifugation / Z. Wang, T.G. Rossman // Nucleic Acids Research. – 1994. – Vol. 22, No. 14. – P. 2862 – 2863

УДК 602:57.085.2:634.7

**ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*
РАСТЕНИЙ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ "НЕЛЬСОН"
(*VACCINIUM CORYMBOSUM* "NELSON")**

***Портянко Андрей Валентинович, студент
Национальный университет биоресурсов
и природопользования Украины,***

***Чернобров Оксана Юрьевна, к.с.–х.н., заведующий
научно–исследовательской лабораторией биотехнологии растений***

***Обособленное подразделение
Национального университета биоресурсов и
природопользования Украины
«Боярская лесная опытная станция»***

В настоящее время украинские производители плодовойгодной продукции заинтересованы в выращивании новых перспективных культур, среди которых особое место занимает голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.) – ценное пищевое, лекарственное и декоративное растение. Однако, существующие методы вегетативного размножения голубики чрезвычайно трудоемкие и не позволяют оздоравливать растения от ряда заболеваний [1]. В этом контексте значительный интерес представляет метод культуры изолированных тканей растений *in vitro*, который дает возможность получить оздоровленный генетически однородный посадочный материал в течении года с минимального количества доноров [2, 3].

Отечественными и зарубежными авторами были разработаны технологии микрклонального размножения для отдельных генотипов растений рода *Vaccinium* L. В то же время известно, что использование клонального микророзмножения требует решения ряда вопросов научного–исследовательского характера, связанных с видовой специфичностью растения: выбором донора, сезоном изоляции растительного материала, типом эксплантов, получением асептической культуры, подбором питательных сред на всех этапах микроразмножения, адаптацией растений–регенерантов к условиям открытого грунта [2, 3, 4]. Необходимость преодоления отдельных специфических моментов возникает уже на начальном этапе размножения растений *in vitro*: получение асептической культуры, сохранение жизнеспособности тканей, подготовка эксплантов к регенерации и стабилизации роста *in vitro*. Именно поэтому целью исследования была оптимизация методики введения эксплантов растений *V. corymbosum* "Nelson" в культуру *in vitro* для массового микрклонального размножения.

Для исследований использовали части побегов длиной 15–30 см, которые отбирали с 3–4–летних растений–доноров *V. corymbosum* "Nelson" в сентябре–октябре 2017–2018 гг. В качестве эксплантов, применяли микропобеги длиной 10–15 мм. Стерилизация растительного материала заключалась в выдерживании в мыльном растворе и проточной воде (по 20–

30 мин.), ополаскивании дистиллированной водой, обработке 70 % этиловым спиртом (30–60 сек.), погружении в стерилизующий раствор и 3–5-кратном промывании в стерильной дистиллированной воде (по 10–15 мин. в каждой порции). В качестве стерилизующих веществ использовали: 0.1 % HgCl_2 , 1.0 % AgNO_3 , 2.5 % NaClO . Экспланты вводили в культуру *in vitro* на базовую безгормональную питательную среду по прописи Мурасиге и Скуга (МС) [5]. Также в среды вносили $100 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ мезоинозитола, $30 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сахарозы и $7,0\text{--}7,3 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ агара микробиологического. Регенерационную способность эксплантов исследовали на МС с добавлением регуляторов роста цитокининового типа действия: 6–бензиламинопурина (6–БАП), 6–фурфуриламинопурина (кинетин), N–изопентениламинопурина (2–иП). Растительный материал культивировали по общепринятой методике [2, 3] в культуральном помещении при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$ и освещении 2,0–3,0 клк с 16–часовым фотопериодом и относительной влажности воздуха 70–75 %. Исследования выполнены в научно–исследовательской лаборатории биотехнологии растений ОП НУБиП Украины «Боярская ЛОС».

В результате проведенных исследований установлены условия эффективной стерилизации (более 70 %) эксплантов растений *V. corymbosum* "Nelson": применение ступенчатого способа, который заключался в выдерживании растительного материала 1 мин. в 70 % этиловом спирте, погружение на 10–11 мин. в 2.5 % NaClO с последующим переносом в 1.0 % AgNO_3 . В условиях обработки растительного материала в течение 15 мин. в 1.0 % AgNO_3 доля асептических жизнеспособных эксплантов составила 45–55 %. Использование для их стерилизации 2.5 % NaClO или 0.1 % HgCl_2 в течение 15 мин. нецелесообразно, поскольку в этих процедурах эффективность не превышала 30 %. Активный рост микропобегов *V. corymbosum* "Nelson" фиксировали в весенний период на среде МС с внесением $1.0\text{--}2.0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 2–иП. При цикле культивирования 45 суток высота микропобегов составляла 1,5–3,0 см, наличие корневой системы не наблюдали. В летний и осенний период регенерационная способность растительного материала на выше указанной среде достоверно снижалась, также наблюдали наличие желтой пигментации листьев, с последующим их опаданием. Частые субкультивирования микропобегов (каждые 3–4 суток) не дали положительного результата. Использование в качестве регуляторов роста $0,5\text{--}2,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 6–БАП или $0,5\text{--}2,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кинетина не индуцировало рост и развитие микропобегов, вызывало отмирание тканей.

Итак, в результате исследований оптимизирована методика введения эксплантов растений *V. corymbosum* "Nelson" в культуру *in vitro* использование которой позволяет получать значительное количество асептических жизнеспособных микропобегов. Дальнейшие исследования направлены на стабилизацию роста культуры *V. corymbosum* "Nelson", изучение влияния регуляторов роста на морфогенетический потенциал тканей и органов *in vitro* для массового микроклонального размножения.

Список использованных источников

1. Курлович Т.В. Клюква, Голубика, Брусника: пособие для садоводов любителей / Курлович Т.В. / – М.: Ниола–Пресс, 2007. – 200 с.
2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
3. Smith R. H. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. – 2012. – 55 pp.
4. Yavorska N.Y. Microclonal propagation of the varieties of highbush blueberry *Vaccinium corymbosum* L. / Yavorska N.Y., Lobachevska O.V., Khorokavtsiv Ya. D., Kyyak N. Ya. // Biotechnologia Acta. – 2016. – Vol. 9, N. 5. – P. 30–37.
5. Murashige T. A Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15, N. 3. – P. 473.

УДК 633.367 : 631.352 : 547.94

ОЦЕНКА ГИБРИДОВ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО РАЗНЫХ ПОКОЛЕНИЙ ПО КОМПЛЕКСУ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

*Романчук Ирина Юрьевна, старший научный сотрудник,
Анохина Вера Степановна, к.б.н., зав. сектором,
Саук Ирина Борисовна, старший научный сотрудник,
Карпиевич Вадим Александрович, младший научный сотрудник
Белорусский государственный университет*

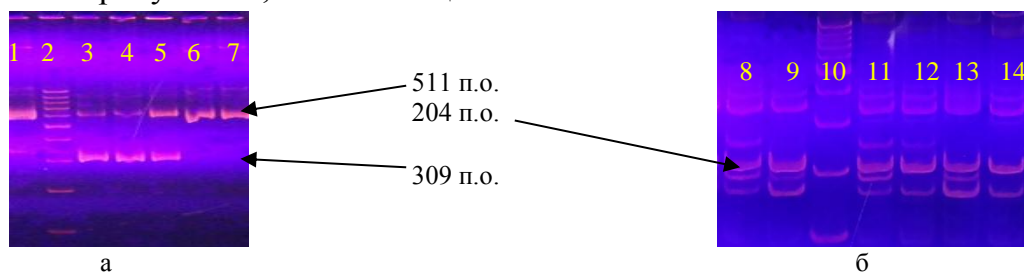
Широкий внутривидовой полиморфизм люпина узколистного требует комплексной оценки биологических и хозяйственно значимых признаков и генов, детерминирующих эти признаки, при определении перспективности каждого генотипа для разных направлений селекции. Эта информация необходима и для составления описательной базы генотипов растений каждой культуры. Преимущества ДНК–маркеров для селекции связаны с возможностью отбора на стадии семян генотипов с интересующими аллелями доместизируемых генов. Это значительно снижает расходы на выделение нового перспективного по ряду признаков образца за счет сокращения сроков селекции и повышения ее эффективности, особенно в случае использования кодоминантных маркеров, позволяющих выявить гомо– и гетерозиготные генотипы. Такое детальное изучение образцов необходимо для защиты авторских прав и при создании паспорта сорта (образца).

В ходе выполнения работ нами были высеяны для восстановления всхожести перспективные образцы люпина узколистного, ранее полученные в БГУ. Выделенные 6 стабильных по морфологическим (окраска цветков и листьев, тип ветвления) и биохимическим (индивидуальный анализ алкалоидности листьев) признакам образцы поколений F4 и F8 были изучены с использованием праймеров хозяйственно ценных признаков люпина, влияющих на урожайность и продуктивность растений. Заболеваемость

люпина антракнозом и растрескиваемость бобов приводят к снижению урожайности за счет снижения качества семян либо за счет потери последних в случае растрескиваемости бобов. Наличие у генотипов генов твердокаменности приводит к снижению всхожести семян, а требовательность к яровизации приводит к удлинению вегетационного периода, что также неблагоприятно для урожайности растений люпина узколистного. В связи с этим проведена оценка геномов отобранных форм с использованием праймеров к генам нерастрескиваемости бобов (гены *tardus* и *lentus* – праймеры TaLi и LeM1 и LeM2 [1,2], соответственно), устойчивости к антракнозу (*LanR1*, *AnSeq3* и *AnSeq4* [3,4]), отсутствию твердокаменности (*mollis* – MoLi) [5] и нетребовательности к яровизации (*ku* – KuH) [6].

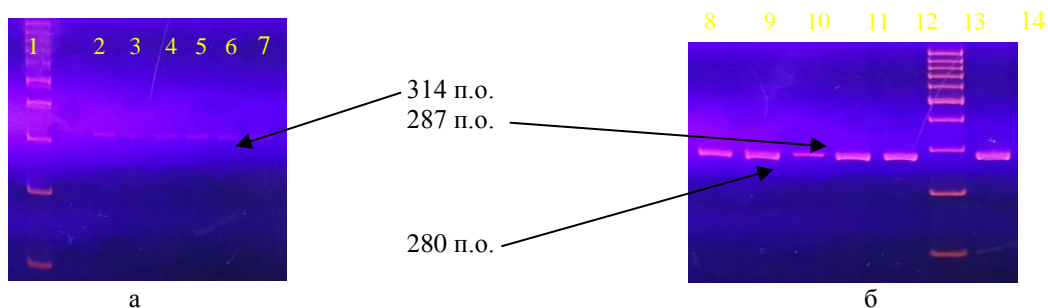
Алкалоидность листьев определяли с помощью алкалоидочувствительной бумаги в полевых условиях и дальнейшим отбором проб с учетом количественного определения уровня алкалоидности по [7]. ДНК выделяли набором Plant DNA Preparation Kit, Jena, Germany. Амплификацию проводили на приборе Agilent Technologies Sure Cycler 8800, а электрофоретическое разделение продуктов амплификации – на приборе Helikon VE-10 при силе тока до 25 мА (источник тока ДНК-технологии Эльф-4). После окрашивания гелей бромидом этидиума проводили визуализацию электрофореграмм и оценку полученных результатов.

Отобранные по результатам фенологических наблюдений относительно стабильные генотипы были изучены по наличию у них генов (аллелей), детерминирующих хозяйственно значимые признаки. Результаты оценки по ДНК-маркированию и фенотипическим характеристикам представлены на рисунках 1,2 и в таблице.



1 – F4 Миртан x Дикаф-14, 2 – маркер молекулярного веса, 3 – F4 К 1992 x Apendrilon, 4 – F4 Apendrilon x К 1992, 5 – F4 АН846, 6 – F4 Н846К-2, 7 – F8 М-Д14; 8 – F4 Миртан x Дикаф-14, 9 – F4 К 1992 x Apendrilon, 10 – маркер молекулярного веса, 11 – F4 Apendrilon x К 1992, 12 – F4 АН846, 13 – F4 Н846К-2, 14 – F8 М-Д14

Рисунок 1– Результаты типирования образцов люпина узколистного: а – по праймеру *TaLi* к гену нерастрескиваемости бобов *tardus*, б – по праймеру *LeM2* к гену *lentus*



1 – маркер молекулярного веса, 2 – F4 Миртан х Дикаф–14, 3 – F4 К 1992 х Apendrilon, 4 – F4 Apendrilon х К 1992, 5 – F4 АН846, 6 – F4 Н846К–2, 7 – F8 М–Д14; 8 – F4 Миртан х Дикаф–14, 9 – F4 К 1992 х Apendrilon, 10 – F4 Apendrilon х К 1992, 11 – F4 АН846, 12 – F4 Н846К–2, 13 – маркер молекулярного веса, 14 – F8 М–Д14

Рисунок 2– Результаты типирования образцов люпина узколистного: а – по праймеру *MoLi* к гену отсутствия твердокаменности семян *mollis*, б – по праймеру *KuH* к гену *ku* – нетребовательность к яровизации

Полученные данные полевой и лабораторной оценки позволяют заключить, что образец Миртан х Дикаф–14 (F4), обладающий детерминированным типом ветвления и безалкалоидной зеленой массой, может быть рекомендован для использования в селекции на кормовые цели как источник низкого содержания алкалоидов, генов нарастрескиваемости бобов, нетребовательности к яровизации и отсутствию твердокаменности семян. Однако его геном не содержит аллелей устойчивости к антракнозу. Близкородственный ему гибрид М–Д14 (F8) несет практически все доместизируемые аллели изученных генов, за исключением аллеля антракнозоустойчивости *AnSeq4*. Для него же характерна синяя окраска цветков и индетерминантный тип ветвления.

Таблица – Данные комплексной оценки выделенных образцов гибридного происхождения люпина узколистного селекции БГУ

Образец	Тип ветвления	Окраска цветков	Алкалоидность листьев, % ОСВ	Результаты типирования с праймерами к генам хозяйственно ценных признаков						
				<i>tardus</i>	<i>lentus</i>		<i>Lanr1</i>		<i>mollis</i>	<i>ku</i>
				TaLi	LeM1	LeM2	An-Seq3	An-Seq4	MoLi	KuH
F4 Миртан х Дикаф–14	детер	белая	менее 0,02	D	+	+	s	s	D	D
F4 К 1992 х Apendrilon	ветв	синяя	0,48 ± 0,001*	D+W	+	+	r	–	D	W
F4 Apendrilon х К 1992	ветв	синяя	0,56 ± 0,013*	D+W	+	+	r	r	D	D
F4 Н846К–2	ветв	белая	0,30 ± 0,004*	D	+	+	r	s	D	W
F4 АН846	ветв	синяя	0,27 ± 0,005*	D+W	+	+	–	r	D	W
F8 М–Д14	ветв	синяя	менее 0,02	D	+	+	r	–	D	D

Примечания – F – поколение гибрида; детер – растения с детерминированным ветвлением; ветв – растения индетерминантного типа ветвления; ОСВ – относительно сухое вещество; * – достоверно при P не более 0,05; r – аллель устойчивого генотипа; s – аллель восприимчивого генотипа; d – доместизируемый аллель; w – аллель дикого генотипа.

Образец Apendrilon х К 1992 (F4) имеет в своем генотипе все аллели изученных генов, желаемые для создания перспективного генотипа, однако характеризуется высоким уровнем алкалоидности, в связи с чем он может использоваться для селекции на сидеральные цели либо как источник указанных доместизируемых аллелей генов хозяйственно ценных признаков.

Наличие полиморфизма аллелей гена *tardus*, детерминирующего нарастрескиваемость бобов, требует дополнительного отбора в последующих поколениях у образцов К 1992 х Apendrilon (F4) и АН846 (F4).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Development of a co-dominant DNA marker tightly linked to the gene *tardus* conferring reduced pod shattering in narrow-leaved lupin / X. Li [et al.] // *Euphytica*. – 2010. – 176, 1. – P.49–58.
2. Development of two sequence-specific PCR markers linked to the *le* gene that reduced pod shattering in narrow-leaved lupin / J.G. Boersma [et al.] // *Gen. and Mol. Biol.* – 2007. – Vol. 30, № 3. – P. 623 – 629.
3. Application of next-generation sequencing for rapid marker development in molecular plant breeding: a case study on anthracnose disease resistance in *Lupinus angustifolius* L. / H. Yang [et al.] // *BMC Genomics*. – 2012. – 13: 318.
4. Идентификация гена устойчивости к антракнозу *Lanr1* у люпина узколистного с помощью ДНК-маркеров / С. Ю. Гришин [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. – 2015. – Т. 50, № 1. – С. 30–36.
5. A molecular marker linked to the *mollis* gene conferring soft-seediness for marker-assisted selection applicable to a wide range of crosses in lupin breeding / X. Li [et al.] // *Molecular breeding*. – 2012. – 29. – P. 361 – 370.
6. Development of a sequence-specific PCR marker linked to the *Ku* gene which removes the vernalization requirement in narrow-leaved lupin [Текст] / J.G. Boersma [et al.] // *Plant Breeding*. – 2007. – 126. – P. 306 – 309.
7. Усовершенствованный колориметрический метод определения алкалоидов в люпине / Т.В. Яговенко [и др.] // *Кормопроизводство*. – 2004. – № 3. – Стр. 27–29.

УДК 582.287.238:608.2

ОЧИСТКА ФЕРМЕНТОВ, ОБЛАДАЮЩИХ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PLEUROTUS OSTREATUS*)

Сакович Валерия Васильевна, м.б.н., ассистент
Буснюк Екатерина Васильевна, магистрант
Жерносеков Дмитрий Данилович, к.б.н., доцент
Полесский государственный университет

Протеолитические ферменты широко используются в сыроделии. Однако крупномасштабное производство сычужных ферментов из животного сырья имеет трудности из-за ограниченной сырьевой базы, что приводит к поиску альтернативных источников получения протеолитических энзимов [1, с.1849]. Одним из перспективных альтернативных источников получения протеолитических ферментов являются базидиальные грибы, среди которых имеются активные продуценты молокосвертывающих протеиназ [2, с.110]. В литературе имеются данные, что экстракт плодовых тел *P. ostreatus* имеет сходство с препаратами, используемыми в молочной промышленности, и после проведения очистки может быть применен в сыроделии [3, с.849].

Целью данной работы является хроматографическая очистка ферментного препарата из культуральной жидкости *P. ostreatus*.

Для глубинного культивирования использовали «дикий» штамме *P. ostreatus*, картофельно–сахарозную среду. Инкубировали в течение 14 дней в темноте при температуре 27 °С при 70 об/мин. Концентрацию белка определяли спектрофотометрически. За единицу молокосвертывающей активности принимали количество фермента, сворачивающее 100 мл молока за 40 мин при 35 °С. Общую протеолитическую активность определяли по лизису желатина в тонком слое агарового геля. Для первичной очистки применялся метод высаливания с использованием хлорида натрия. Для удаления соли применялся метод диализа. Для концентрирования препарата применяли лиофильную сушку. Катионообменную хроматографию проводили с на колонке (1,5 X 3) КМ–сефарозой (Bio–Rad, США). Анионообменную хроматографию проводили на колонке (1,5 X 3) с DEAE–сефарозой (Bio–Rad, США).

Нами был проведен первый этап очистки ферментов. Для высаливания энзимов культуральной жидкости *P. ostreatus*, использовались две соли: сульфат аммония и хлорид натрия. Ранее, по литературным данным, производилось высаливание этими солями ферментов из экстрактов плодовых тел и мицелия. В наших экспериментах использование сульфата аммония не привело к желаемому результату. В связи с тем, что методика высаливания ферментов из культуральной жидкости *P. ostreatus* отсутствует, нами были подобраны оптимальные условия. Наилучший результат дало полное насыщение раствора хлоридом натрия, температура 4 °С, рН 4,7, перемешивание 60 об/мин и 12 ч. Осаждение хлоридом натрия в нашем случае имеет еще одно явное преимущество при дальнейшем использовании ферментного препарата в пищевой промышленности: данная соль является удобным и нетоксичным реагентом. После высаливания был проведен диализ. Условия диализа также были установлены экспериментально: температура 4 °С, перемешивание 60 об/мин и 20 ч. Также для этих этапов очистки был подобран оптимальным буферный раствор: 0,1 М ацетатный рН 4,7, в котором сохраняется активность ферментов.

Таблица 1 – Начальные этапы очистки молокосвертывающих ферментов *P. Ostreatus*

Фракция	Объем, мл	Белок мг/мл	МСА во фракции, ед/мл	Общая МСА	Удельная МСА	Степень очистки
Культуральная жидкость	200	0,185	5	1000	27	1
Осаждение хлоридом натрия	50	0,22	5	250	22,7	0,84
Раствор лиофильного порошка	5	1,07	33	165	30,8	1,14

Как видно из таблицы 1, первый этап очистки культуральной жидкости позволил сохранить практически всю исходную молокосвертывающую активность.

Часть лиофильного порошка использовали для дальнейшей очистки препарата, содержащего МСА и ПА на ионообменниках (КМ– и ДЭАЭ–сефароза).

Хроматография на КМ–сефарозе показала, что протеолитическая активность исходного препарата представлена тремя фракциями:

1. Ферменты, которые элюируются с колонки буфером без добавления соли. Ферменты данной фракции обладают как общей протеолитической, так и молокосвертывающей активностью.

2. Ферменты, которые элюируются с колонки буфером, содержащим от 0,1 до 0,25 М NaCl. Ферменты данной фракции обладают общей протеолитической активностью, однако молокосвертывающей не обладают.

3. Ферменты, которые элюируются с колонки буфером, содержащим от 0,1 до 0,75 М NaCl. Ферменты данной фракции обладают общей протеолитической активностью, однако молокосвертывающей не обладают.

Таким образом, произошло частичное разделение молокосвертывающей и общей протеолитической активности препарата.

Данный метод можно рекомендовать для дальнейших более детальных исследований свойств протеолитических ферментов, входящих в исходный препарат, например, субстратной специфичности.

При хроматографии на ДЭАЭ–сефарозе фермент, обладающий молокосвертывающей активностью, не связывается с носителем, при этом достигается его очистка в 22.7 раза. Как видно из таблицы 2, при данном виде хроматографии МСА и общая протеолитическая активность не разделяются.

Таблица 2 – очистка ферментного препарата на ДЭАЭ–сефарозе

Фракция	Объем, мл	Белок мг/мл	Активность во фракции, ед/мл	Общая активность	Удельная активность	Степень очистки
Р–р лиофильного порошка	5	1,07	33	165	30,8	1
МСА:объединенная фракция	8	0,13	92,5	740	698	22.7
ПА: объединенная фракция	8	0,13	24,31	194,5	183,5	5.2

Хроматографическое разделение МСА и ПА на КМ–сефарозе можно рекомендовать для дальнейших более детальных исследований протеолитических ферментов, входящих в исходный препарат. Очистку ферментного препарата, обладающего МСА, с помощью хроматографии на ДЭАЭ–сефарозе предлагаем использовать в сыроделии на этапе образования сыр-

ного сгустка. Планируется дальнейшая очистка препарата, обладающего МСА и изучение субстратной специфичности ферментов, входящих во фракции, разделяемые хроматографией на ионообменных носителях.

Список использованных источников

1. Emmanuel, V. Caseinolytic and milk-clotting activities from *Moringaoleifera* flowers / V. Emmanuel, E. PontualBelany, E. CarvalhoRanilson, S. Ranilson, C. BezerraLuana, B.B. Coelho, M.G.Paiva// Food Chemistry. – 2012. – Vol. 135. – No. 6. – P. 1848–1854.
2. Лебедева, Г.В. Выделение и характеристика фермента сычужного действия из плодовых тел вешенки обыкновенной / Г.В. Лебедева, М.Т. Проскуряков, М.А. Кожухова // Пищевая химия, 2008 – 114 с.
3. Salehi, M. Purification and characterization of a milk-clotting aspartic protease from *Withaniacoagulans* fruit / Mahmoud Salehi, Mahmoud RezaAghamaali, Reza H.Sajedi, S. MohsenAsghari, EisaJorjani// International Journal of Biological Macromolecules. – 2017. – Vol. 98. – P. 847–854.

УДК 581.143.6

БИОТЕХНОЛОГИЯ ДЛЯ УСТОЙЧИВОГО СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА РОДА SYRINGA L.

*Спиридович Елена Владимировна, к.б.н., доцент,
Зубарев Андрей Васильевич, научный сотрудник,
Хотляник Наталья Владимировна, научный сотрудник,
Лазарук Георгий Викторович, младший научный сотрудник
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

Род сирень (*Syringa* L.) относится к семейству Маслинные (Oleaceae Lindl). Карл Линней в 1753г. описал два вида сирени: *S. vulgaris* L. и *S. persica* L. По разным источникам род сирень (*Syringa* L.) насчитывает от 22 до 40 видов. В течение последних десятилетий систематика рода перетерпела ряд изменений. Применяя новый молекулярно-генетический подход к исследованию системы рода, удалось придать ей естественность и простоту. Ныне она включает таксоны в ранге шести секций [1]. Многие из видов рода *Syringa* L. имеют высокую декоративность и применяются в озеленении, однако сирень известна и своими лекарственными свойствами. Биохимические исследования представителей этого рода позволили идентифицировать в листьях, цветках, коре более 140 ценных продуктов вторичного метаболизма, в том числе простые и сложные фенилпропаноиды, иридоиды, органические кислоты и эфирные масла [2]. Самые большие коллекции сирени собраны в ботанических садах и дендропарках различных стран.

Коллекция рода сирень Центрального ботанического сада НАН Беларуси начинала создаваться одна из первых в 30 годы прошлого столетия, в настоящее время включает 24 таксона, представленных 15 видами. Для сохранения имеющегося генофонда, их целевого омоложения и реализации

биохимического потенциала предложен биотехнологический подход. *In vitro* коллекция рода *Syringa* ботанического сада в Беларуси представлена в основном сортами *S. vulgaris* L., за последний год она пополнилась образцами видовой сирени.

Для выбора оптимальной модели культивирования *in vitro* и особенностей клонального микроразмножения растений различных таксономических групп рода *Syringa*, изучались биологические особенности каждого таксона и использовалась разработанная технология для *Syringa vulgaris* L. [3]. Изучение биологических особенностей видов растений в природных условиях (сроки вегетации, строение почки, особенности роста и др.) служит основой для разработки биотехнологических приемов сохранения, дальнейшего устойчивого воспроизводства и практического использования [4]. С целью выявления наиболее перспективных видов сирени для введения в культуру *in vitro* был проведен биохимический скрининг коллекционных фондов данного рода на содержание биологически активных соединений в коре. В ходе исследования, проведенного в отделе биохимии и биотехнологии ЦБС, выявлена группа таксонов рода *Syringa* L. с высоким содержанием сирингина в коре [5], и наибольшим уровнем комплексной продуктивности. Полученные данные позволяют нам выделить из общей коллекции образцов видовых сиреней группу наиболее перспективных для плантационного выращивания и для биотехнологических исследований с целью получения клеточных культур – продуцентов фенилпропаноидов *in vitro*. В виду того, что технологичнее и менее ущебно для насаждений использование побегов без листьев, для промышленного получения сирингина подходят образцы №5 (*Syringa reflexa* C.K.Schneid), №8 (*Syringa villosa* Vahl, 1950), №15 (*Syringa reticulata* subsp. *amurensis* (Rupr.) P.S.Green & M.C.Chang) и №28 (*Syringa josikaea* J.Jacq. ex Rchb.f., 1986). Для введения в культуру *in vitro* с целью дальнейшего получения каллусных и клеточных культур можно рекомендовать образцы №5 (*Syringa reflexa* C.K.Schneid), №8 (*Syringa villosa* Vahl, 1950), №28 (*Syringa josikaea* J.Jacq. ex Rchb.f., 1986), №31 (*Syringa josikaea* J.Jacq. ex Rchb.f., 1948).

В качестве первичных эксплантов для введения в культуру использовали молодые побеги с пазушными почками, полученные выгонкой в лабораторных условиях (срезка веток с материнских растений коллекции проводилась в период с января по март). В качестве стерилизующих агентов использовались: хозяйственное мыло, 0,4%-й раствор фунгицида «Ридомил Голд» (экспозиция 7 мин.), 0,06%-й раствор «Хлороцида» (Бел Асептика) (экспозиция 30 мин.). Для введения в культуру *in vitro* использовали модифицированную питательную среду Murashige & Skoog с полуторным содержанием макросолей, добавлением 1 мг/л 2-ип; источник углерода – сахараза (20 г/л), уплотнитель – агар (Sigma) (7 г/л). Экспланты культивировали при стандартных условиях выращивания *in vitro*: температура 24 ± 1 °С, 16/8-часовой фотопериод, интенсивность освещения 3–4 клк. В процессе работы выявлено, что на этапе введения в культуру наблюдается выраженная видоспецифичность изучаемых таксонов сирени. Долю адаптировавшихся эксплантов можно наблюдать в таблице.

Таблица – Доля адаптировавшихся эксплантов в зависимости от гормонального состава среды

Номер таксона	Дата введения в культуру	Доля адаптировавшихся эксплантов в зависимости от гормонального состава среды в %					
		1	2	3	4	5	6
<i>Syringa josikaea</i> J.Jacq. ex Rchb.f.	23.03.17	100	100	75	75	62,5	100
<i>Syringa josikaea</i> J.Jacq. ex Rchb.f.	22.03.17	80	50	–	75	50	75
<i>Syringa villosa</i> subsp. <i>wolfii</i> (C.K.Schneid.) Jin Y.Chen & D.Y.Hong.	21.03.17	100	100	75	100	100	80
<i>Syringa reticulata</i> (Blume) H.Hara	23.03.17	66	100	100	100	100	66
<i>Syringa reticulata</i> subsp. <i>pekinensis</i> (Rupr.) P.S.Green & M.C.Chang	21.03.17	27,1	8,3	8,3	–	20	–
<i>Syringa pubescens</i> Turcz.	23.03.17	–	–	–	–	0	0
<i>Syringa josikaea</i> J.Jacq. ex Rchb.f.	23.03.17	–	–	25	25	100	66
<i>Syringa reticulata</i> subsp. <i>amurensis</i> (Rupr.) P.S.Green & M.C.Chang	4.04.17	16,6	0	25	50	0	75
<i>Syringa reticulata</i> subsp. <i>pekinensis</i> (Rupr.) P.S.Green & M.C.Chang	30.03.17	20	20	0	40	60	80
<i>Syringa vulgaris</i> L.	12.04.17	75	100	–	80	60	73,3
<i>Syringa villosa</i> subsp. <i>wolfii</i> (C.K.Schneid.) Jin Y.Chen & D.Y.Hong.	6.04.17	50	75	100	75	66	50

Биотехнологический метод обеспечивает устойчивое воспроизводство и генетическую идентичность исходным формам. Наилучшие показатели морфогенетического потенциала проявили виды *S. villosa* Vahl. (сирень волосистая) и *S. vulgaris* L. (сирень обыкновенная), самый низкий – *S. reticulata* subsp. *pekinensis* (Rupr.) P.S. Green & M.C. Chang (сирень пекинская). Растения, относящиеся к разным таксонам, отличаются уровнем тотипотентности клеток и регенерационным потенциалом. Это обуславливает необходимость дифференцированного подхода к дальнейшей разработке методик сохранения и размножения в культуре ткани *in vitro* изучаемых видов сирени.

Список использованных источников

1. Phylogenetics and Diversification of *Syringa* Inferred from Nuclear and Plastid DNA Sequences/ Li Jianhua [et al.]// Castanea. — 2012. — Vol. 77, №1. — P. 82–88.
2. Phytochemical and pharmacological progress on the genus *Syringa*/ G. Su [et al.]// Chemistry Centr. J. — 2015. — Vol. 9, №1. — P. 1–12.
3. Popowich E.A., Brel N.G. Growth and micropropagation of lilac and rose aseptically for prolongation cultivation studying // 9–th Conference of Horticulture. Vol. 3. Lednice, 2001. Czech Republic. P. 665–668.

4. Решетников, В.Н. Биотехнология растений и перспективы ее развития/ В.Н. Решетников, Е.В. Спиридович, А.М. Носов// Физиология растений и генетика. — 2014. — Т. 46, №1. — С. 3–18.

5. Спиридович Е.В. Селекционная оценка содержания сирингина у представителей рода сирень (*Syringa L.*) в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси / Е.В. Спиридович, П.С. Шабуня, А.В. Башилов и [и др.]. // Доклады НАН Беларуси. – 2017., Т.61, № 6, с. 80–88.

УДК 57.084.1:581.14:634.73

ВЛИЯНИЕ LED-ОСВЕЩЕНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ *VACCINIUM CORYMBOSUM L. EX VITRO*

Федоренко Марта Петровна¹, аспирант
Волотович Антон Анатольевич², к.б.н., доцент
Кудряшова Оксана Александровна³, к.б.н.

¹**Полесский государственный университет**

²**Крестьянско–фермерское хозяйство «Бокша»**

³**Медицинское частное унитарное предприятие «Беломнимед»**

Свет является одним из основных средообразующих факторов в жизни растений, и контролирует практически все физиолого–биохимические процессы растительного организма [1]. Выращивание растений в условиях лабораторий, оранжерей и закрытого грунта требует выбора современных и энергоэффективных источников освещения, например, таких как светодиоды. С помощью светодиодов возможно конструирование источников освещения с определенным спектральным составом света под конкретные виды растений и стадии их развития [2, 3]. Так, одним из важных факторов, влияющих на успешную адаптацию и рост растений–регенерантов, перенесенных в условия *ex vitro*, является оптимальный спектральный состав и интенсивность освещения.

Целью данной работы было анализ изменчивости биометрических показателей роста у микроклонально размноженных растений голубики высокой в процессе их адаптации к условиям *ex vitro* при светодиодном и люминесцентном освещении.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили на базе научно–исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве учреждения образования «Полесский государственный университет». В качестве объекта исследований использовали укорененные в культуре *in vitro*, внешне однотипные регенеранты голубики высокой *Vaccinium corymbosum L.* позднеспелого сорта Elizabeth. Укорененные регенеранты, в количестве 40 шт. высаживали в прозрачные пластиковые контейнеры объемом 1,5 л, заполненные на 1/3 грунтом, который представляет собой смесь верхового торфа и карьерного песка в соотношении 1:1. Контейнер закрывали прозрачной пластиковой крышкой в целях создания условий влажной камеры и ставили на стеллажи адаптационного помещения (изолированные отсеки объемом по 0,45 м³) под источники светодиод-

ного (с соотношением красный:синий в спектре освещения 3:1, мощностью 50 Вт,) и люминесцентного (OSRAM Natura L36W/76, 4000 лк, мощностью 72 Вт, CCT=3500 К) освещения с фотопериодом 16 часов день, 8 часов ночь. Растения культивировали на стеллажах адаптационного помещения при температуре (+25)°С и относительной влажности воздуха 82%. Опыт осуществляли в двукратной биологической повторности.

Для оценки роста проводили анализ жизнеспособности растений, изменчивости высоты растений, количества листьев, количества растений с побегами, высоты побегов, количества листьев у побегов, массы растения с корнями. Замеры анализируемых признаков проводили на 0-й, 14-й, 28-й, 42-й и 56 день культивирования *ex vitro*.

Результаты и обсуждение. Анализ изменчивости жизнеспособности растений выявил достоверное при $P<0,01$ превышение в 1,04 раза данного показателя при светодиодном освещении на 42–56 дни культивирования.

Анализ изменчивости прироста высоты у растений сорта Elizabeth на 42–56 дни выявил достоверное при $P<0,01$ превышение показателей в 1,10–1,14 раза под светодиодным освещением (рисунок 1). Показатель прироста количества листьев был также достоверно при $P<0,01$ выше у растений под светодиодами на 42–56 дни, в 1,15–1,23 раза (рисунок 1).

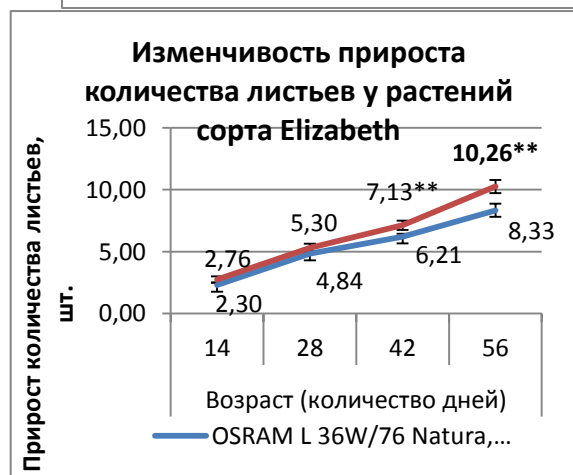
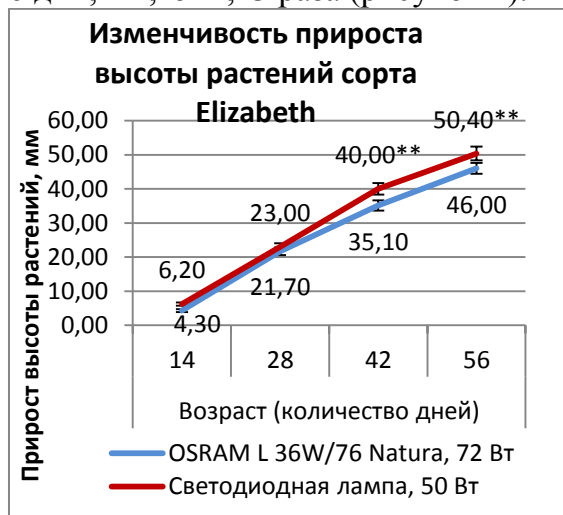


Рисунок – Изменчивость прироста высоты и прироста количества листьев у растений *Vaccinium corymbosum* L. *ex vitro* сорта Elizabeth

Аналогичные результаты по данным признакам для сорта Elizabeth были получены в наших предыдущих исследованиях с использованием источников освещения меньшей мощности [4].

Количество растений с побегами под светодиодным освещением на 56 день было достоверно при $P < 0,01$ больше в 1,61 раза.

Показатели сырой массы растения с корнями, высоты побегов, количества листьев у побега также имели тенденцию к увеличению в 1,20, 1,50 и 1,09 раза соответственно при светодиодном освещении.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное при $P < 0,05$ и $P < 0,01$ влияние типа освещения на изменчивость показателей прироста высоты растений и количества листьев, при этом доля влияния фактора (типа освещения) составила 1% и 3%, соответственно. Обнаружено также достоверное влияние возраста растений на изменчивость всех показателей за исключением жизнеспособности растений. Однофакторный дисперсионный анализ не выявил достоверного влияния типа освещения на изменчивость показателей сырой массы растения с корнями, высоты побегов, количества листьев у побега.

Заключение. Применение светодиодного освещения с заданными параметрами приводит к увеличению всех анализируемых биопродукционных параметров, при этом достоверно увеличиваются показатели прироста высоты растений и количества листьев, а также количества растений с побегами, через 56 дней культивирования *ex vitro*. Таким образом, спектральный состав источника светодиодного освещения, энергопотребление которого в 1,4 раза ниже, чем у люминесцентного, обеспечивает максимальную высоту растений, достоверно при $P < 0,01$ превышающую в 1,1 раза показатели в контроле, без излишнего вытягивания или укорочения междоузлий; а также развитие достоверно при $P < 0,01$ большего в 1,2 раза количества листьев, по сравнению с контрольными показателями, более раннюю активацию пазушных почек, и стимуляцию роста боковых побегов. При этом количество растений с побегами под светодиодным освещением на 56 день культивирования, по сравнению с люминесцентным, достоверно при $P < 0,01$ было в 1,61 раза больше.

Список использованных источников

1. Конев, С.В. Фотобиология / С.В. Конев, И.Д. Волотовский // Минск : Изд. БГУ, 1979. – 384 с.
2. Бахарев, И. Применение светодиодных светильников для освещения теплиц: реальность и перспектива / И. Бахарев, А. Прокофьев, А. Туркин, А. Яковлев / Современные технологии автоматизации. – 2010. – № 2. – С. 76–82.
3. Robert C. Morrow LED lighting in horticulture / Robert C. Morrow // HortScience. – 2008. – Vol. 43(7). – P. 1947–1950.
4. Федоренко, М.П. Влияние LED-освещения на рост растений *Vaccinium corymbosum* L. *ex vitro* / М.П. Федоренко, А.А. Волотович // Сборник материалов II международной научно-практической конференции «Биотехнология: достижения и перспективы развития». – Пинск, 2017. – С. 43–45.

**ВЛИЯНИЕ РАСТЕНИЙ-НЕЖИВИТЕЛЕЙ
НА ЧИСЛЕННОСТЬ *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* (Ro1)**

*Федоренко Александр Леонидович, аспирант
Институт защиты растений НААН Украины*

Золотистая картофельная цистообразующая нематода *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) – один из наиболее распространенных и вредных карантинных объектов в Украине и мире. По данным Европейской организации защиты растений (ЕОЗР) золотистую нематоду обнаружено в 69-ти странах мира [1, с. 221].

Из культурных растений, кроме картофеля, поражает еще томаты. Из сорняков растениями-хозяевами считаются паслен сладко-горький (*Solanum dulcamara* L.), крылатый паслен (*S. alatum* Moench), несколько линий черного паслена (*S. nigrum* L.) и иногда белена черная (*Hyoscyamus niger* L.). Они поражаются не так сильно, как картофель, но могут играть роль как растения, резервирующие заражение. К растениям - хозяевам относятся также баклажан (*S. melongena* L.). Самое большое значение все еще имеет севооборот. Возделывание непоражаемых (растений-неживителей) растений снижает количество нематод в первые 2-3 года в зависимости от условий примерно на 30-50% [2, с. 187].

Возделывание не поражаемых полевых культур (зерновые колосовые, однолетние и многолетние бобовые, свекла сахарная и кормовая, кукуруза, капустные масличные на семена и зеленое удобрение), а также овощных и зеленных, типичных для приусадебного сектора (лук, чеснок, огурец, петрушка, укроп, сельдерей, морковь, свекла столовая, редька и др.) очищает почву от ЗКЦН на 30–60 % в зависимости от погоды и уровня до посевной заселенности почвы [3, с. 42].

Посев сельскохозяйственных культур осуществлялся строчным или сплошным способом вручную, с заправкой семян на глубину 2-5 см в зависимости от вида культуры и с последующей укаткой. Зеленую массу растений скашивали после их вегетации (примерно через два-три месяца). Отбор почвенных проб, выделение цист глободеры (выделяли флотационным методом) и их анализ осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [4, с.113]. Эффективность снижения численности глободеры в почве была определена, как процентное соотношение разницы исходной и послеуборочной плотности популяции нематоды в почве.

Так, при одногодичном выращивании растений-неживителей наиболее эффективное снижение численности картофельной нематоды обеспечивало возделывание гороха и ярой пшеницы (очищали почву от личинок и яиц золотистой нематоды на 49,7% и 40,7%, соответственно). Далее следуют рапс и огурцы, позволявших очистить почву от *G. rostochiensis* (Ro1) на 24,9% (с 20456 л+я/100см³ до 15366 л+я/100см³) и 20,9% (с 9709 л+я/100см³ до 7680 л+я/100см³). Наименьшую противнематодную эффективность обес-

печивали капуста и горчица. Во время выращивания этих культур процент снижения личинок в почве составил соответственно 15,4% и 13,6%.

Таким образом, одногодичное выращивание растений-неживителей дает возможность снизить численность *Globodera rostochiensis* (Ro1) в почве на 13,6-49,7%.

Список использованных источников

1. Сігарьова Д.Д. Селекція на стійкість до нематодозів – найефективніший метод захисту сільськогосподарських культур / Д.Д. Сігарьова, О.І. Рудник // Захист і карантин рослин: міжвід. темат. наук. зб. Ін-т захисту рослин НААН. – Київ, 2005. - Випуск 51. – С. 221-228.

2. Деккер Х. Нематоды растений и борьба с ними / Х. Деккер. – М.: Колос, 1972. – 445с.

3. Бабич А.Г. Влияние севооборота на численность золотистой картофельной нематоды / А.Г. Бабич, А.А. Бабич, Р.Д. Сухарева, А.А. Статкевич // Защита и карантин растений. – Москва, 2014. – С. 42-45.

4. . Кирьянова Е.С. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними / Е.С. Кирьянова, Э.Л. Кралль– Л.: Наука, 1969. - Т. 1, 447 с.

УДК 632.651 : 635.21

РАЗРАБОТКА ЛАБОРАТОРНОГО МЕТОДА ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ К ДИТИЛЕНХОЗУ СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА КАРТОФЕЛЯ

***Федоренко Светлана Владимировна, аспирант
Институт защиты растений
Национальной академии аграрных наук Украины***

Дитиленхоз - это нематодное заболевание, возбудителем которого является клубневая нематода *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945. В связи с существенной вредоносностью этого вида нематоды, происходит значительная потеря урожая как в период хранения (до 50%), так и во время переборки картофеля после сбора (до 50%) [1, с.61]. Степень влияния *D. destructor* на растения картофеля проявляется в задержке роста (36,7 - 45,5%), снижении урожайности (21,3 -45,8%), уменьшении количества товарных клубней (25,0 - 75,0%) [2, с.98]. В зараженных клубнях меньшее количество крахмала, качество его хуже, больше мелких крахмальных зерен, а содержание общего и белкового азота ниже. Такие клубни скорее поражаются другими патогенными организмами (такими как грибы, бактерии, многочисленные клещи и сапрозойные нематоды).

Эффективный способ защиты картофеля от дитиленхоза - создание устойчивых сортов. Важным и одновременно сложным вопросом является выбор лучшего способа внесения инвазии во время проведения испытаний для оценки селекционного материала картофеля к *Ditylenchus destructor*. Так, с литературных источников известно несколько способов создания искусственного инвазионного фона в условиях теплицы: внесение в почву измельченных дитиленхозных клубней в каждую лунку при посадке карто-

феля; оборачивание клубней фильтровальной бумагой, смоченной суспензией нематод; внесение в лунки при посадке агаризованной среды с живыми нематодами; заражение клубней при посадке суспензией нематод, полученных на культуре гриба *F. sambucinum* [3, с.43]. Инфекционный фон при полевых исследованиях создают путем внесения в каждое гнездо при посадке картофеля зараженных измельченных клубней. Сложность создания инфекционного фона проявляется в том, что существующие методы трудны в использовании и протеворечивы в эффективности, - именно этим и подтверждается актуальность исследования.

Объект исследования - создание искусственных инвазионных дитиленхозных фонов для оценки селекционного материала картофеля к *Ditylenchus destructor*.

Задачи исследования: 1) разработать новые методы создания искусственных инвазионных фонов; 2) в лабораторных условиях оценить уровень устойчивости селекционного материала картофеля к дитиленхозу.

Материалом для исследований служили популяции клубневых нематод *D. destructor*, размноженных на чистой культуре грибов *Fusarium solani* (Mart.) Sacc, 3 сорта (Барбара, Лазурит, Москворецкий) зарубежной и 2 сорта (Незабудка и Свитанок киевский) картофеля отечественной селекции. Клубни высаживали в вегетационные сосуды объемом 3 л, с последующим внесением под картофель инвазии в виде "сечки" (измельченной дитиленхозной ткани), "дисков" (срезанных на границе здоровой и больной ткани) и водной суспензии нематод, очищенной от культуры грибов. Уровень инвазионной нагрузки составлял 500 нематод на один сосуд. Повторность опыта трехкратная. Проявление заболевания на клубнях нового урожая устанавливали во время уборки. Новообразовавшиеся клубни обследовали на поражение дитиленхозом, клубни с внешними признаками заболевания подвергали лабораторному фитонематологическому анализу.

Распространенность болезни определяли по общепринятой в фитопатологии формуле [4, с.61]. Стойкость образцов устанавливали за процентом поражения клубней: к относительно устойчивым относили те, которые после испытания имели до 10% пораженных клубней, к среднеустойчивым - те, которые имели 10,1 - 20% пораженных клубней, к слабо восприимчивым - 20,1 - 30%, к восприимчивым - 30,1 - 40%, к очень восприимчивым - более 40% [5, с.294].

Исследования показали, что один сорт, а именно Лазурит оказался устойчив к дитиленхозу при всех методах внесения инвазии. При создании инфекционного фона водной суспензией нематод сорт картофеля Москворецкий проявил себя как относительно устойчив, так как процент заражения клубней дитиленхозом составлял 7,7%. Сорт Барбара идентифицирован как слабо восприимчив, так как распространенность болезни достигала 16,7%. При остальных методах создания искусственных инвазионных фонов признаков поражения на новообразовавшихся клубнях этих сортов не было обнаружено.

Что касается сортов Незабудка и Свитанок киевский, то при всех методах внесения инфекции были обнаружены больные клубни. Наибольшее

количество поврежденных клубней дитиленхозом было отмечено для сорта Свитанок киевский. При использовании в качестве источников инвазии измельченных дитиленхозных клубней в виде “сечки”, поражение клубней картофеля нового урожая составляло 25,0%, при заражении картофеля “дисками” – 30,0%, а при внесении при посадке живых клубневых нематод – 50,0%. Сорт отнесен к группе восприимчивых.

Несколько ниже отмечен процент заражения клубней для сорта картофеля Незабудка: при внесении инвазии в виде “сечки” – 16,7%, “дисков” – 21,4%, водной суспензии нематод – 36,3%. Сорт Незабудка отнесен к группе слабо восприимчивых сортов.

Следует отметить, что во всех вариантах с внесением в почву в качестве источника инвазии культуры нематоды, распространенность дитиленхоза была выше, чем при использовании других методов заражения клубней. Учитывая, что внесение инвазии живыми личинками эффективный и менее трудоемкий способ, он значительно облегчит создание нематодоустойчивых сортов.

Таким образом, разработан лабораторно - тепличный метод оценки устойчивости к дитиленхозу селекционного материала картофеля, применение которого позволило выделить устойчивый сорт Лазурит и относительно устойчив сорт Москворецкий.

Список использованных источников

1. Кораб И. И. О системе мероприятий по борьбе со стеблевой нематодой картофеля – *Ditylenchus destructor* Thorne в севооборотах / И. И. Кораб, Е. Ф. Терещенко // Нематодные болезни растений. – М., 1954. – С. 61–66.

2. Багаева У.В. Изучение устойчивости сортов картофеля к клубневой нематоды в условиях Республики Северная Осетия-Алания / У.В. Багаева [и др.] // Вестник АГУ. - 2018.- №1 (216). – С. 98-102.

3. Иванюк В.Г. Устойчивость картофеля к стеблевой нематоды (*Ditylenchus destructor* Thorne) / В.Г. Иванюк, Д.А. Ильяшенко // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. - 2010. - № 3. - С. 43-48.

4. Иванюк В.Г. Влияние абиотических факторов внешней среды на жизнеспособность, развитие и патогенные свойства *Ditylenchus destructor* Thorne - возбудителя дитиленхоза картофеля / В.Г. Иванюк, Д.А. Ильяшенко // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. - Минск: Беларуская навука, 2008. - № 3. - С. 61-64.

5. Тактаев Б.А. Створення стійких проти бульбової нематоды (*Ditylenchus destructor* Thorne) сортів картоплі з комплексом господарськи цінних ознак / Б.А. Тактаев, Д.Д. Сігарьова, С.К. Бомок // Захист і карантин рослин. - 2013. - № 59. – С. 294-302.

ПРОТЕОМНЫЕ МЕТОДЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

*Чижик Ольга Владимировна, к.б.н.
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

В настоящее время протеомика стала необходимой методологией в различных сферах клеточной биологии. Эффекты мутаций, различного рода воздействия на живой организм, изменения путей метаболизма, процессы дифференциации и дедифференциации клеток растений можно проследить по тому, как они сказываются на уровнях биосинтеза и функциональной активности белков.

Протеом, в отличие от генома, который является статическим по своей природе, обладает динамическими возможностями. Он постоянно меняется, реагируя на воздействия целого ряда экзогенных и эндогенных факторов (условия произрастания, стрессы, регуляция экспрессии генов и т.д.) и поддерживая физиологическое равновесие в клетке. Углубление знаний о структуре белков клеточных ядер остро необходимы для развития клеточной биотехнологии и генетической инженерии, поскольку именно клеточное ядро является основной мишенью такого рода воздействий и знание структуры и свойств его компонентов (функциональных компартментов) необходимо для разработки биотехнологических приемов регуляции функциональной активности этого информационного центра растительного организма [1, 2].

В отделе биохимии и биотехнологии растений важное место в исследованиях занимает выявление гетерогенности и участия белков в формировании надмолекулярного комплекса и функциональной активности клеточных ядер высших растений при их экспрессии и модификации генома [3].

Учитывая то обстоятельство, что конкретным объектом генно-инженерных работ является ДНК клеточного ядра, можно ожидать, что включение чужеродного гена приведет к изменению экспрессии синтеза соответствующих белков.

Введение гена изопентилтрансферазы (ipt), изменяя баланс фитогормонов, оказало влияние на свойства клеточного ядра, что привело к изменению синтеза соответствующих белков и проявилось в изменении гетерогенности белкового состава при электрофорезе (отличия по количеству и интенсивности зон).

При встраивании в ядро табака (*Nicotiana tabacum* L.) бактериальной ДНК, несущей ipt-ген, наблюдалось увеличение гетерогенности эухроматина I в листовой ткани (с 30 до 32 зон) и ядерного матрикса (с 18 до 23 зон), тогда как в кариоплазме и гетерохроматине число зон сократилось (на 4 и 3) (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о влиянии чужеродного ipt-гена на перераспределение белков в структурных частях ядра, поскольку общая гетерогенность белков ядра контрольных и ipt-растений осталась одинаковой – 130 зон.

Таблица 1 – Число зон при электрофорезе ядерных белков из листовой ткани контрольных и ipt-растений *Nicotiana tabacum* L.

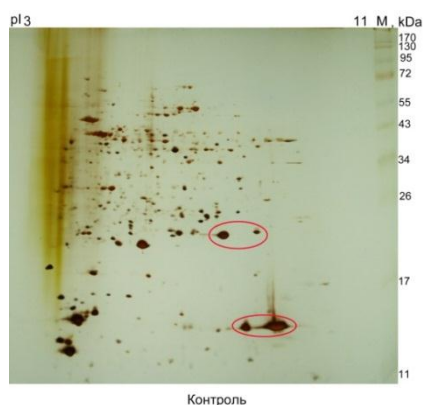
№ Фракции белков ядра	экстракция ядерных белков, лист	
	число белковых зон	
	контроль	ipt-растение
1 (кариоплазма)	29	25
2 (эухроматин I)	30	32
3 (эухроматин II)	29	29
4 (гетерохроматин)	24	21
5 (ядерный матрикс)	18	23
всего	130	130

Электрофоретическое разделение ядерных белков каллусов контрольных и модифицированных растений табака также показало их значительную гетерогенность, подобную листовой ткани (табл. 2). В каллусах ipt-растений имелись дополнительные зоны, наиболее отчетливо проявляющиеся во фракции № 3 (с 23 до 28 зон), тогда как в листовой ткани наибольшие изменения наблюдались во фракциях № 1 и № 5.

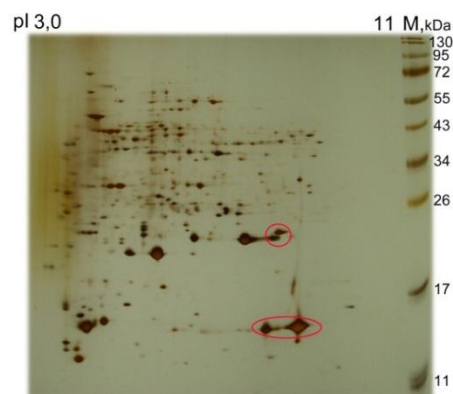
Таблица 2 – Число зон при электрофорезе ядерных белков каллусов контрольных и ipt-растений *Nicotiana tabacum* L.

№ фракции ядерных белков	контроль	ipt-каллусы	% по отношению к контролю
1	28	27	96
2	29	30	103
3	23	28	122
4	22	22	100
5	13	13	100
всего	115	120	104

Проведены исследования белковых спектров и экспрессии белков генетически модифицированных линий клюквы крупноплодной (введен ген тауматина II) и исходного генотипа методом 2D-электрофореза (рис.1).



Контроль



Линия № 15

2–Д протеомные карты контрольных и генетически модифицированных растений клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon* Ait.)

Полученные протеомные карты имели сходную картину белковых пятен, только в области Мм 13,0 – 14,0 ; 19,0– 19,5; 23,3 – 24,0 и 65,6 – 70,0 кДа зафиксированы изоформы, отличные от таковых контроля. В дальнейшем для идентификации полученных изоформ будет проведен масс-спектрометрический анализ.

Отсутствие значительных изменений в спектре общих белков в трансгенных растениях, на наш взгляд, связано с тем, что вставка гетерологичного гена *thaa II* не затронула функциональной области генома. Полученные экспериментальные данные о составе белков ядра и их участии в организации его структуры создают теоретическую базу для целенаправленных биотехнических работ по созданию форм растений с заданными свойствами.

Список использованных источников

1. Клеточные ядра растений – экспрессия и реконструкция: Сб. науч. тр. I Региональной науч. конф. Минск, 28–29 мая 2001 г. / Минск, РУПП «Барановичская укрупненная типография, 2001. – 187 с.
2. Решетников, В.Н. Клеточные ядра высших растений / В.Н.Решетников – Мн.: Наука и техника, 1992.– 82 с.
3. Чижик, О.В., Спиридович Е.В., Решетников В.Н. Клеточные ядра растений – экспрессия и реконструкция / О.В.Чижик, Е.В.Спиридович Е.В., В.Н.Решетников // Сб. науч. тр. I Региональной науч. конф. – Мн., 2001. – С. 143 – 151.
4. Решетников, В.Н. Геномика, протеомика и генетическая инженерия растений: перспективы практического использования / В. Н. Решетников, и др. // Центральный ботанический сад НАН Беларуси: сохранение, изучение и использование биоразнообразия мировой флоры / [В. В. Титок и др. ; под ред. В. В. Титка, В. Н. Решетникова] ; Нац. акад. наук Беларуси, Центр. ботан. сд. – Минск, 2012. – Гл. 17. – С. 298–313.

БИОТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ И АКВАКУЛЬТУРЕ

УДК 577.21/:597.2/5

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ ТКАНЕЙ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА

Водчиц Н.В., зав. НИЛ КТР

Розумец А.В., 5 курс

Волкова Е.М., к.с./х.н., доцент

Ярмош В.В., аспирант

Полесский государственный университет

Введение. Выделение ДНК является первым и наиболее важным этапом молекулярно–генетического исследования. От качества его исполнения зависит успех всех последующих этапов исследования и результат. Неправильный выбор метода выделения ДНК или его неверное осуществление могут привести либо к получению загрязненной ДНК, непригодной для исследования, либо вообще к ее потере [1].

В общем случае, для выделения ДНК клетку необходимо разрушить тем или иным способом, а нуклеиновую кислоту очистить от других клеточных компонентов. Необходимо отделить ДНК от протеинов, входящих в состав нуклеопротеидных комплексов хроматина. При этом важно защитить её от действия нуклеаз и максимально сохранить целостность, поскольку длинные линейные молекулы ДНК при их изоляции из клетки неизбежно фрагментируются [4].

В настоящее время в аквакультуре Беларуси, начиная с 2012 года, выращивается африканский клариевый сом, мышечная ткань которого характеризуется высоким содержанием незаменимых аминокислот, Омега–3 жирных кислот, а также целым комплексом витаминов. Одной из важнейших характеристик данного вида рыбы является низкое содержание жира в ткани, что позволяет отнести его к диетическим продуктам [6].

Цель работы: поиск оптимального метода выделения ДНК с высокой степенью ее очистки от примесей из тканей африканского клариевого сома.

Методика и объекты исследования. Исследования были проведены на базе научно–исследовательской лаборатории прикладной и фундаментальной биотехнологии биотехнологического факультета учреждения образования “Полесский государственный университет” (далее БТФ ПолесГУ). В качестве исследуемых объектов использовали ткани (фрагменты усов и плавников) африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*), выращенного в искусственных условиях на базе аквариальной лаборатории БТФ ПолесГУ.

Для выделения ДНК использовали два разных метода: солевая [8] и фенол–хлороформная экстракция [7].

Длину фрагментов выделенной ДНК оценивали путём горизонтального электрофореза в 0,8 % агарозном геле, в трис–боратном буфере, при напряжении 70 V в течение 40 мин, по интенсивности флуоресценции в УФ–свете после связывания НК с бромистым этидием.

Точное измерение концентрации ДНК проводили по стандартной методике по объему 1,5 мкл полученного экстракта в 1–3 повторностях на спектрофотометре NanoDrop 1000, в диапазоне длин волн 220–350 нм.

Реакционная смесь для проведения ПЦР готовилась в объеме 25 мкл и включала стандартные компоненты. Амплификацию проводили на термоциклере Biometra [3].

Длину фрагментов амплифицированной ДНК оценивали в 2%-ном агарозном геле, в трис–боратном буфере, при напряжении 50 V в течение 180 мин. Визуализация результатов электрофореза проводилась в приборе гель–документирования Quantum ST4.

Результаты и их обсуждение. Успешное применение молекулярно–генетических методов анализа в значительной степени зависит от получения достаточного количества высокомолекулярной ДНК с ненарушенной структурой и высокой степенью очистки.

Для того чтобы получить высокоочищенные нуклеиновые кислоты необходимо использовать наиболее подходящие методы выделения ДНК.

У рыб наилучшим материалом для выделения ДНК, который можно взять прижизненно без причинения серьезных повреждений, являются фрагменты плавников [5]. В частности, у сомов – фрагменты усов, это объясняется явлением регенерации, т.е. восстановлением организмом утраченных частей тела на той или иной стадии жизненного цикла.

В работе провели сравнение двух методов выделения нуклеиновых кислот из биологического материала. В таблице приведены спектрофотометрические данные исследования чистоты и концентрации ДНК образцов.

Таблица – Спектрофотометрические характеристики образцов ДНК

Выделение №	Исследуемый объект	Солевая экстракция		Фенол–хлороформная экстракция	
		конц.	очистка	конц.	очистка
1	<i>Clarias gariepinus</i> (фр. пл.)	483,6	1,88	32,4	1,90
	<i>Clarias gariepinus</i> (фр.усов)	382,5	1,88	28,9	1,90
2	<i>Clarias gariepinus</i> (фр. пл.)	180,1	1,90	35,1	1,91
	<i>Clarias gariepinus</i> (фр. усов)	317,6	1,95	35,4	1,90

В основе метода солевой экстракции лежит агрегация нуклеиновых кислот в присутствии соли (NaCl) и спирта. Положительно заряженные ионы соли нейтрализуют отрицательный заряд на сахаро-фосфатном скелете ДНК, приводя к снижению растворимости последних в воде. В состав лизирующего буфера входит ЭДТА, хелатирующий агент, связывающий ионы металлов (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} и др.), который приводит к ингибированию металл-зависимых ферментов и нуклеаз, разрушающих ДНК. SDS (додецил-сульфат) – поверхностно-активное вещество, также входящее в состав лизирующего буфера, создает на белках сильный отрицательный заряд, вследствие чего происходит их денатурация и отделение от нуклеиновых кислот. Вызывает разрушение структуры мембран, вследствие разрушения её белковых составляющих.

После осаждения изоамиловым спиртом нуклеиновая кислота отделяется от раствора центрифугированием. Осадок, содержащий ДНК, отмывается 70% этиловым спиртом с последующим центрифугированием. Нужно отметить, что нуклеиновая кислота менее растворима в изопропанол, чем в этаноле, соответственно для ее осаждения требуются меньшая концентрации изопропанола [2].

Анализ ДНК, полученной методом солевой экстракции показал, что соотношение поглощения при 260/280 нм, в среднем, равно 1,90, что свидетельствует о том, что полученные образцы не содержат примесей. Наиболее высокая концентрация ДНК для сома составила: из фрагмента плавника – 483,6 нг/мкл; из фрагмента усов – 382,5 нг/мкл, а наименьшая соответственно: 180,1 нг/мкл и 317,6 нг/мкл.

Проанализировав данные по итогу выделения ДНК вторым методом (фенол-хлороформная экстракция), можно отметить, что применение смеси фенол : хлороформ : изоамиловый спирт (в пропорции 25:24:1) позволяет активно денатурировать белки, в том числе полностью инактивирует РНКазы. Из исследуемого объекта была получена ДНК высокой очистки 1.90–1,91, но при этом имела невысокие концентрации: для фрагментов плавника составила от 32,4 нг/мкл до 35,1 нг/мкл, для фрагментов усов – от 28,9 нг/мкл до 35,4 нг/мкл. Возможно фенол и хлороформ, действующие как депротенизирующий агент, из-за высокой концентрации приводят к деградации ДНК.

Применение реагента фенола, высокотоксичного раздражающего вещества, представляет опасность для здоровья человека [9].

На электрофореграмме образцов ДНК, выделенных двумя протоколами видно, что нуклеиновая кислота светится в виде довольно компактной полосы, что свидетельствует о ее малой фрагментации.

После проведения ПЦР-реакций с ДНК-матрицей, выделенной методом солевой экстракции, на электрофореграмме с праймером UBC 845 визуализировалось от 4 до 7 четких фрагментов.

После проведения ПЦР-реакций с ДНК-матрицей, выделенной методом фенол-хлороформной экстракции, на электрофореграммах с праймером UBC 845, определялись достаточно размытые 1–2 маркера.

Выводы. По результатам исследования можно сделать вывод, что метод солевой экстракции является более эффективным. Применение данного метода позволяет добиться выделения высокомолекулярной ДНК высокой концентрации, не требует использования вредного для здоровья человека реагента фенола. Степень очистки довольно высокая, что позволяет широко использовать препарат ДНК при проведении ПЦР-анализа. Этот метод более быстр в исполнении по сравнению с фенол-хлороформным методом выделения ДНК.

Список использованных источников

1. Бадзюк, И.Л. Анализ современных методов извлечения ДНК из биологических объектов судебной экспертизы / И.Л. Бадзюк [и др.] // Иркутск: Восточно-Сибирский институт МВД РФ. – 2012. – № 1. – С. 81–89.
2. Ведерников, В.Е. Сравнительная характеристика способов экстракции нуклеиновых кислот / В.Е. Ведерников // Лаборатория. – 2012. – №4. – С.14–15.
3. Водчиц, Н.В. Применение ISSR-маркеров для генетической паспортизации и сертификации растений рода *Vaccinium* / Н.В. Водчиц // Весці НАНБ. Сер. Біял. Навук. – 2016. – № 3. – С. 115–120.
4. Практикум по молекулярной генетике. Учебно-методическое пособие / А.Р. Каюмов, О.А. Гимадутдинов – Казань: Казань, КФУ, 2016. –36 с.
5. Способ получения ДНК из яйцеклеток рыб / Единый депозитарий результатов интеллектуальной деятельности [Электронный ресурс]. – 2018. – Режим доступа: <https://edrid.ru/rid/218.016.0c3a.html>. – Дата доступа: 28.10.2018.
6. Ценность и польза клариевого сома / Agastia farm [Электронный ресурс]. – 2018. – Режим доступа: <https://agastiafarm.com/o-nac/cennost-i-polza-soma/>. – Дата доступа: 28.10.2018.
7. Extraction of DNA from Fish Fins / Virtual Amrita Laboratories Universalizing Education [Электронный ресурс] – 2011. – Режим доступа: <http://vlab.amrita.edu/?brch=77&cnt=2&sim=218&sub=3>. – Дата доступа: 28.10.2018.
8. Extraction of DNA from tissue. High salt method / The University of Liverpool [Электронный ресурс]. – 2001. – Режим доступа: <https://www.liverpool.ac.uk/~kempsj/IsolationofDNA.pdf>. – Дата доступа: 28.10.2018.
9. Phenol and its toxicity / Afilah Abd Gami [et al.] // Journal of environmental microbiology and toxicology. – 2013. Vol. 2, № 1. – P. 11–24.

УДК 582.263:546.712:576.32/36

СОДЕРЖАНИЕ СУХОГО ВЕЩЕСТВА В КЛЕТКАХ *CHLORELLA VULGARIS* В СОСТОЯНИИ ХЛОРОЗА И ДОБАВЛЕНИИ $MnCl_2$ В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ

*Ильючик Ирина Анатольевна, ст. преподаватель
Никандров Виталий Николаевич, д.б.н., профессор
Полесский государственный университет*

В предыдущей статье мы уже упоминали о значении хлореллы (*Chlorella*) как объекта биотехнологии, в частности, для сельского хозяйства, а также о подверженности ее культуры хлорозу – подавлению образования хлорофилла и снижению эффективности фотосинтеза, в основе кото-

рого лежат нарушения энзиматических систем, катализирующих биосинтез пигментов [1].

Наиболее часто хлороз проявляется в отсутствие или при недоступности железа в питательной среде, а также в отсутствие марганца, меди, серы, калия и других элементов [2]. В ряде случаев хлороз устраняли внесением в питательную среду марганца. Вместе с тем избыточное внесение этого микроэлемента отрицательно сказывается на биосинтезе хлорофилла [3].

Однако нами при добавлении хлорида марганца в питательную среду были получены несколько неожиданные результаты. Так, при концентрации эффектора 0,01–10,00 мг/л рост культуры завершался уже на 5–е сутки, а доля клеток в состоянии хлороза заметно (в 1,9–2,5 раза) превосходила таковую в контрольном варианте, причем хлороз проявился уже на 5–е сутки. Можно было бы думать, что подобное явление обусловлено избытком катионов марганца в питательной среде. Это не согласуется с тем, что при добавлении хлорида марганца в питательную среду в концентрации 50 мг/л хлороз проявлялся лишь на 7–е сутки, причем доля клеток в состоянии хлороза уменьшалась в сравнении с контрольным вариантом в 2,5 раза. При внесении же в среду эффектора в максимальной концентрации – 137,5 мг/л хлороз не обнаруживался вообще, а биомасса в период 5–7–е сутки даже возрастала на 18% [1]. Эти результаты не позволяли понять обнаруженную особенность влияния хлорида марганца.

Цель настоящей работы – выявить влияние $MnCl_2$, в условиях ведущих к развитию хлороза, на содержание сухого вещества в клетках хлореллы – как одному из интегральных показателей состояния клетки.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлась зеленая одноклеточная водоросль хлорелла (*Chlorella vulgaris* IBCE C-19) из альгологической коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Для достижения хлороза условия культивирования изменяли как описано нами ранее [1] по сравнению с известными для физиологически полноценной культуры [4]. В питательную среду экспериментальных вариантов вносили $MnCl_2$ до конечной концентрации 0,01; 0,05; 0,10; 0,50; 1,00; 5,00; 10,00; 50,00 и 137,50 мг/л. В контрольном варианте эффектор не добавляли.

Для определения сухого вещества, трижды отмытые в дистиллированной воде клетки (1 мл), высушивали до постоянной массы в сушильном шкафу при 80 °С и взвешивали на аналитических весах.

Все эксперименты выполнены девятикратно. Полученные результаты обработаны статистически с вычислением t -критерия Стьюдента (Statistica 6.0).

Результаты и их обсуждение. Исходная посевная культура содержала 37,7 мкг сухого вещества на млн клеток. Через сутки роста уровень этого показателя в контроле возрос в 1,86 раза, а в остальных вариантах – на 14–38%. Изменения уровня сухого вещества в клетках хлореллы по отношению к первым суткам можно разделить на шесть типов (таблица, рисунок).

Таблица – Динамика накопления сухого вещества в клетках хлореллы при добавлении в питательную среду $MnCl_2$ ($n = 9$)

Концентрация $MnCl_2$, мг/л	Количество сухого вещества, мкг/млн клеток			
	Сутки культивирования			
	1	3	5	7
Контроль	70,0 ± 2,2	42,9 ± 1,6	84,2 ± 4,3	108,9 ± 6,9
0,01	52,2 ± 4,2*	34,2 ± 1,3*	79,5 ± 5,5	94,1 ± 4,1*
0,05	52,1 ± 3,9*	26,1 ± 1,2*	89,3 ± 4,0	147,6 ± 3,8*
0,10	47,8 ± 2,8*	49,9 ± 2,4	175,6 ± 2,6*	105,1 ± 9,7
0,50	51,4 ± 2,7*	30,8 ± 1,3*	175,8 ± 3,2*	95,9 ± 2,9
1,00	42,8 ± 3,1*	25,5 ± 2,3*	162,4 ± 7,1*	99,9 ± 2,4
5,00	72,7 ± 5,0	16,1 ± 0,2*	162,8 ± 2,2*	168,4 ± 3,5*
10,00	46,5 ± 3,1*	19,0 ± 1,1*	118,8 ± 3,9*	178,7 ± 9,1*
50,00	45,0 ± 2,9*	13,6 ± 0,1*	68,4 ± 6,5*	117,9 ± 6,7
137,50	49,7 ± 2,8*	21,8 ± 2,5*	46,1 ± 3,6*	43,1 ± 2,2*

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

а) содержание сухого вещества на 3–и сутки по сравнению с 1–ми снижено на 39–50%, к 5–м суткам возросло на 20–71%, а к 7–м суткам рост достиг 56–183% (характерно для контроля, концентраций $MnCl_2$ 0,01 и 0,05 мг/л);

б) уровень сухого вещества на 3–и сутки по сравнению с 1–ми сутками не менялся, а на 5–е и 7–е сутки возрастал по сравнению с 1–ми сутками на 242 и 120% соответственно (характерно для концентрации $MnCl_2$ 0,1 мг/л);

в) уровень сухого остатка на 3–и сутки по сравнению с 1–ми падал на 40%, но на 5–е возрастал на 240–280%, но к 7–м суткам рост показателя не превышал 87–133% (для концентраций $MnCl_2$ 0,5 и 1,0 мг/л);

г) уровень сухого вещества на 3–и сутки по сравнению с 1–ми сутками упал на 78%, а на 5–е и 7–е сутки поднялся на 124 и 132% соответственно (для концентрации $MnCl_2$ 5,0 мг/л);

д) содержание сухого вещества на 3–и сутки по сравнению с 1–ми падало на 59–70%, а к 5–м и 7–м суткам возросло на 52–155 и 152–284% соответственно (для концентраций $MnCl_2$ 10,0 и 50,0 мг/л);

е) при максимальной концентрации эффектора содержание сухого остатка не превысило уровень 1–х суток на всем протяжении эксперимента, причем уменьшение этого показателя на 3–и сутки составило 56%.

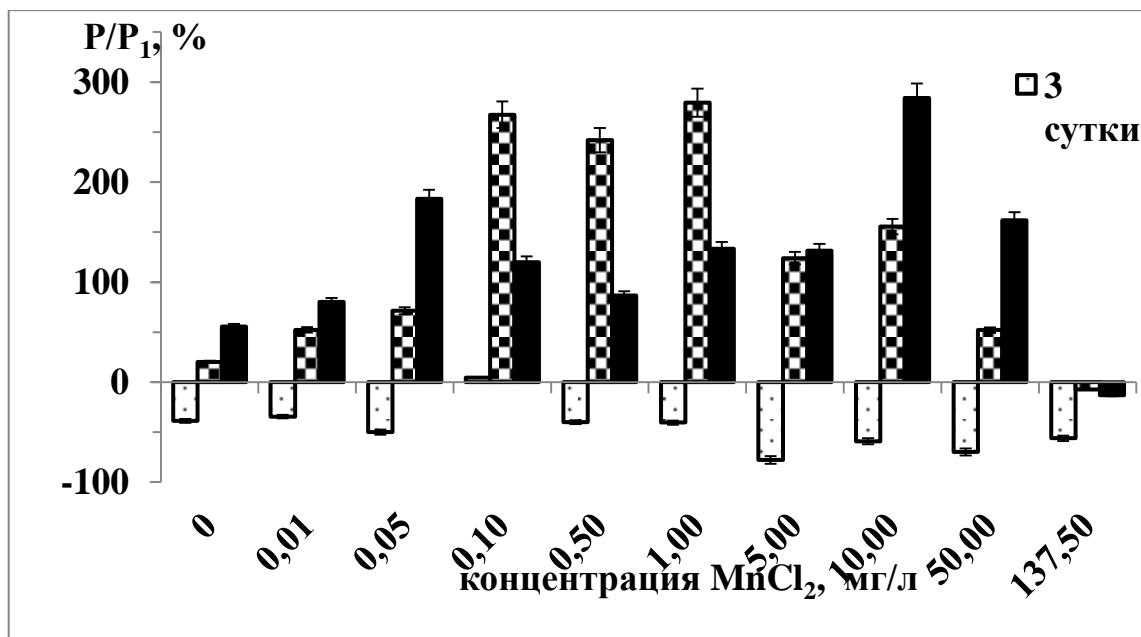


Рисунок – Изменения содержания сухого вещества в клетках *Ch. vulgaris* при росте (% к 1–м суткам культивирования, принятым за 100%) культуры на питательной среде с добавлением $MnCl_2$

Сопоставление выявленных особенностей изучаемого показателя с ранее полученными материалами об изменениях количества клеток культуры хлореллы [1] свидетельствует об определенных различиях: практически во всех вариантах, включая контрольный, проявление хлороза совпадало с уменьшением клеток в культуре, и лишь при максимальной концентрации $MnCl_2$, где хлороз не наблюдался, рост культуры продолжался и концентрация клеток к 7–м суткам в сравнении с 1–ми возросла в 2,2 раза, а уровень внутриклеточного белка в этот же период упал в 5,8 раз [1]. Складывается впечатление, что в этом варианте (т.е. при максимальной концентрации хлорида марганца) происходило своеобразное «разбухание» клеток, способствующее замедлению развития хлороза.

Список использованных источников

1. Ильючик, И.А. Влияние $MnCl_2$ на физиолого–биохимические показатели клеток *Chlorella vulgaris* в состоянии хлороза / И.А. Ильючик, В.Н. Никандров // Актуальная биотехнология. – 2018. – № 3 (26). – С. 389–394.
2. Carrasco–Gil, S. Silicon induced Fe deficiency affects Fe, Mn, Cu and Zn distribution in rice (*Oryza sativa* L.) growth in calcareous conditions / Carrasco–Gil S. et al. // *Plant Physiol and Biochem.* – 2018. – Vol. 125. – P. 153–163.
3. Huang, Y.L. Manganese toxicity in sugarcane plantlets grown on acidic soil of Southern China / Huang Y.L. et al. // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. – No 3. – e0148956.
4. Ильючик, И.А. Рост культуры хлореллы (*Chlorella vulgaris*) и накопление белка при добавлении $MnCl_2$ в питательную среду / И.А. Ильючик, В.Н. Никандров // *Веснік Палескага дзяржаўнага універсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук.* – 2018. – № 1. – С. 53–64.

УДК 639.3:635.01:57.044

**ВЛИЯНИЕ АКВАПОННОГО NFT–МОДУЛЯ НА ТЕМПЫ
МАССОНАКОПЛЕНИЯ КЛАРИЕВОГО СОМА
(CLARIAS GARIEPINUS B.,1868)**

*Козырь А.В., лаборант
Цвирко Лидия Сергеевна, д.б.н, профессор
Полесский государственный университет*

На данный момент в мире наблюдается острый дефицит продовольствия. С каждым годом ситуация будет усугубляться, так как происходит деградация и засоление плодородных почв, изменения климата. Засуха летом 2018 года значительно повлияла на урожай как в Европе, так и во всем мире. Так же, наблюдается чрезмерная нагрузка на ихтиофауну: множество морских обитателей находятся на грани вымирания, некоторые не доживают до репродуктивного возраста, что существенно снижает популяцию данных видов. В экономически нестабильных регионах Азии рыба является основным источником белка у населения. Что ведет к чрезмерному вылову гидробионтов. Для того чтобы в полном объеме сохранить видовое разнообразие гидробионтов необходимо существенно сократить квоты на вылов, организовать предприятия по искусственному воспроизводству и выращиванию товарной продукции. Одним из наиболее перспективных объектов тепловодной аквакультуры является клариевый сом (*Clarias gariepinus* B.,1868). Данный вид обладает высокой плотностью посадки, устойчив к гидрохимическому режиму, имеет высокие показатели темпа массанакопления. За 6 месяцев сом достигает массы 800–1200 грамм [1, с.30]. Чтобы достичь этих показателей и их превзойти необходимо увеличить норму кормления и понизить содержания азотистых соединений, которые отрицательно влияют на гидробионтов. Повышенное содержания азотистых соединений ведет к снижению иммунитета, ухудшается аппетит, что ведет к повышению кормового коэффициента и увеличению экономических затрат [2, с.186]. При достижении концентрации азотистых соединений ПДК наблюдается массовая гибель рыбы. Аквапоника – один из комбинированных симбиотических высокотехнологичных способов ведения сельскохозяйственных работ, сочетающих получение растительных продуктов питания на гидропонной основе в сочетании с индустриальным рыбоводством, воды которого обеспечивают растения органическими выделениями в качестве естественных удобрений [3, с.165], [4, с.265]. Аквапоника является одним из способов понижения концентрации азотистых соединений. Использование аквапонных установок позволяет очистить воду, и получить дополнительную прибыль за счет получаемой фитопродукции [5, с.66].

Исследования проводились на базе лаборатории–аквариальной Полесского государственного университета. Для проведения исследования была разработана опытная аквапонная установка состоящая из четырех ярусов. Каждый ярус имеет 7,2 м² полезной площади, общая полезная площадь аквапонного модуля 28,8 м².

Рыбоводные емкости были зарыблены сеголетками африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*), полученного в условиях лабораторно-аквариальной Полесского государственного университета, средней навеской 0,815 кг. Общая биомасса экспериментальной группы составила 34,2 кг.

Объект исследования содержался в рыбоводных емкостях из полипропилена объемом 0,5 м³ каждая, размерами 2000X600X500 мм. Биологическую очистку обеспечивал биофильтр объемом 0,25 м³ находящийся совместно с отстойником, объем которого так же равен 0,25 м³.

Необходимый температурный режим поддерживался с помощью автоматических термонагревателей BOYU HT-8300 на уровне 26±1 °С. Аэрацию обеспечивал электромагнитный воздушный компрессор BOYU ACQ-007 мощностью 100 Вт и расходом воздуха 110 л/мин. Водообмен обеспечивался с помощью погружного насоса EHEIM 7000 с циркуляционной мощностью 7000 л/ч. Для механической очистки воды использовался напорный фильтр BOYU EFU-10000 объемом 35 литров со встроенным ультрафиолетовым стерилизатором мощностью 13 Вт.

Кормление производилось комбикормом марки К-115.2, производства ОАО «Жабинковский комбикормовый завод». Массовая доля сырого протеина – 42 %, сырого жира – 12 %, сырой клетчатки 3 %. Суточный рацион кормления составлял – 3 % от биомассы (расход 1027 грамм корма в сутки), при кратности кормления 2 раза в день.

Исследования проводились в два этапа: на I этапе исследовалось массонакопление клариевого сома без аквапонного модуля, на II этапе при его использовании. Длительность эксперимента составила 30 дней. Взвешивания проводились каждые 5 дней. Результаты взвешиваний представлены в таблице.

Таблица – Темпы массонакопления клариевого сома без АМ и с его использованием

Взвешивания	Этап I, без использования АМ		Этап II, при использовании АМ	
	Средняя масса выборки, г	Средняя масса особи, г	Средняя масса выборки, г	Средняя масса особи, г
1	34230	815±8,17	37338	889±5,48
2	35532	846±7,22	38430	915±6,87
3	36456	868±6,19	39816	948±8,01
4	37002	881±8,02	41664	992±7,11
ПРИРОСТ грамм/ 15 дней	2772	66	4326	103

Было зафиксировано, что без использования АМ в рыбоводных емкостях наблюдалось повышение содержания азотистых соединений. При повышении содержания азотистых соединений объекты исследований ве-

дут себя пассивно, малоподвижны, слабо питаются. Несъеденные излишки корма по прошествии 15 минут после кормления удалялись, чтобы не усугублять гидрохимический режим.

При использовании аквапонного модуля не наблюдалось изменений гидрохимического режима в рыбоводных емкостях. Все показатели состояли в нижних пределах нормы. Рыба вела себя активно, охотно поедала корм. Гидрохимический режим складывающийся при использовании аквапонного модуля позволяет повысить суточную норму кормления, что в свою очередь положительно скажется на темпах массонакопления.

При использовании аквапонного модуля прирост биомассы за 15 дней составил 4326 грамм, что на 1554 грамма больше, чем в установке с традиционной биофильтрацией. Средний прирост при использовании АМ составил 103 грамма, в то время как в установках без АМ 66 грамм.

Использование аквапонных модулей позволят снизить концентрацию азотистых соединений, что оказывает положительное влияние на поедаемость кормов и активность гидробионтов, данный факт позволяет увеличить темпы массонакопления клариевого сома в полтора раза.

Список использованных источников

1. Бондаренко, А.Б. Клариевый сом / А.Б. Бондаренко, Г.А. Сычев, В.В. Приз // Рыбоводство. – М., 2008. – № 1. – С. 30–31.
2. Григорьев, С.С. Индустриальное рыбоводство / С.С. Григорьев – М.: Знамя, 2008. – 186 с.
3. Козырь, А. В. Влияние аквапонного NFT-модуля на содержание аммиак-аммония в тепловодных установках замкнутого водоснабжения при выращивании клариевого сома (*Clarias gariepinus*) / А.В. Козырь, Т.В. Масайло, В.В. Ярмош // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси: материалы XII междунар. молодежн. Научн.–практ. конф., Пинск, 6 апр./ Полес. Гос. ун–т.; ред.: К.К. Шебеко [и др.]. – Пинск, 2018. – Ч.3, – С. 170–172.
4. Тексье, У. Гидропоника для всех/ У. Тексье. – Париж: HydroScope, 2013. – 265 с.
5. Кириллова, Е. Гидропоника/ Е. Кириллова. – М.: Росмэн–Пресс Серия, 2005. – 92 с.

УДК 636.2.033: 636.2.084.413

ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ КУКУРУЗНОГО СИЛОСА ЗА СЧЕТ ВКЛЮЧЕНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

*Натынчик Татьяна Михайловна, старший преподаватель
Космович Екатерина Юрьевна, Савенков Олег Игоревич,
Макаревич Яна Валерьевна
Полесский государственный университет*

Введение. В решении проблемы протеина в рационах в рационах крупного рогатого скота важную роль травяные корма. Это обусловлено тем, что протеины травяных кормов в балансе кормового протеина крупно-

го рогатого скота занимает 60–65 % и они наиболее ценны для жвачных животных, так как содержат мало (20–40 %) водосолерастворимых фракций, быстро расщепляемых бактериями рубца жвачных до аммиака, который не успевает утилизироваться для синтеза микробного белка и, следовательно, неэффективно используется организмом животных [1, 3].

Анализ источников. Изыскание путей и способов снижения потерь питательных веществ при заготовке кормов продолжает оставаться одной из наиболее важных и сложных проблем кормопроизводства. Значительный удельный вес в зимних рационах животных отводится силосованным кормам и достигает 70 % по питательности [2, 5].

Значительно снизить потери питательных веществ и повысить качество кормов позволяет использование различных консервантов, широко применяемых в отечественной и зарубежной практике. Поэтому, исследования по изысканию новых способов силосования трав, кукурузы, которые могут обеспечить более полное сохранение питательных веществ и высокое их использование, всегда были актуальными [4, 5].

Цель работы – изучить сохранность питательных веществ кукурузного силоса заготовленного с консервантом–обогабителем и влияние скармливания его на продуктивные показатели и качество мяса бычков.

Материал и методика исследований. Для обогащения кукурузного силоса минеральными веществами использованы местные источники. До настоящего времени минеральные добавки завозились из других регионов, это не позволяло в полной мере обеспечить потребность животноводства в этих важных источниках питания, а также значительно повышалась стоимость производимой продукции.

Одним из источников протеина в кормах для жвачных животных может служить карбамид. Скармливание 1 кг его дает дополнительное увеличение живой массы – 1,5–3,2 кг. Эффективность его скармливания карбамида зависит от сбалансированности рациона. При разработке консерванта–обогабителя за основу взята добавка кормовая минеральная комплексная (ДКМК) и мочевины, которые вносили непосредственно при закладке силоса. Для приготовления 1 тонны консерванта смешивали 600 кг ДКМК и 400 кг мочевины.

Для изучения влияния кукурузного силоса с консервантом–обогабителем на продуктивность молодняка крупного рогатого скота выращиваемого на мясо в РУП «Экспериментальная база «Жодино» заложена опытная партия кукурузного силоса и контрольный вариант. Затем подобрано две группы бычков черно–пестрой породы методом пар–аналогов и организован научно–хозяйственный опыт.

Результаты исследований и их обсуждение. На основании данных химического анализа установлено, что питательность кукурузного силоса с консервантом–обогабителем на 0,03 кормовые единицы оказалась выше, чем контрольного. В нем так же отмечено увеличение содержания сырого протеина на 46,8 % и минеральных веществ по сравнению с контрольным вариантом.

Рацион животных в научно–хозяйственном опыте состоял из 16,5–17,3 кг кукурузного силоса и 2,17 кг комбикорма КР–3, приготовленного в хозяйстве.

Скармливание кукурузного силоса молодняку крупного рогатого скота не оказало отрицательного влияния на гематологические показатели животных. Все они находились в пределах физиологических норм.

Скармливание кукурузного силоса с консервантом–обогабителем позволило за 91 день опыта получить 82 кг прироста на голову, что на 7 кг больше, чем в контроле. Среднесуточный прирост соответственно оказался на 9,3 % выше. Затраты кормов в опытной группе составили 7,85 корм. ед. на 1 кг прироста или на 4,6 % ниже, чем в контрольной.

По убойным показателям существенных различий между животными контрольной и опытной групп не установлено. Масса туш составила 233,7 и 232 кг, выход туш – 56,4 и 57,2 %, убойный выход – 58,4 и 59,5 % соответственно. По массе внутренних органов (сердце, печень, легкие, селезенка, почки) так же значительных различий не установлено.

Анализ физико–химического состава длиннейшей мышцы спины показал, что у бычков опытной группы содержание сухого вещества находилось на уровне 26,4 %, в том числе протеина – 21,7, жира – 3,4 и золы – 1,3 % у животных контрольной группы соответственно – 23; 19,2; 2,9 и 0,9 %.

Показатели физико–химических исследований мяса характерны для доброкачественного свежего мяса.

Заключение. Заготовка кукурузного силоса с консервантом–обогабителем способствует повышению питательности корма, а его использование в составе рациона бычков на откорме повышает среднесуточные приросты на 9,3 %. Проведенные исследования химического состава продуктов убоя скота и их органолептическая оценка свидетельствуют о том, что мясо бычков, получавших кукурузный силос с консервантом–обогабителем, выгодно отличалось от контрольных животных по содержанию сухого вещества, в том числе протеина, жира и золы.

Список использованных источников

1. Ганущенко О.Ф. Эффективность заготовки и использования силосованных кормов, приготовленных с применением бактериальных консервантов: аналитический обзор / О.Ф. Ганущенко // Белорусский научный институт внедрения новых форм хозяйствования в АПК. – Минск, 2003. – С 52–59.

2. Конверсия энергии корма бычками в продукцию в зависимости от уровня легкогидролизуемых углеводов в рационе / В.Ф. Радчиков [и др.] // Веснік Сумського національного аграрного університету. Серія ”Тваринництво“: науковий журнал – 2017. – Вип. 7 (33) – С. 185–188.

3. Лемешевский, В.О. Биохимические критерии рубцового пищеварения крупного рогатого скота под влиянием качества кормового белка / В.О. Лемешевский, А.А. Курепин, Т.М. Натынчик // Фундаментальные и прикладные аспекты кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов : материалы конф., посвященной 120–летию М.Ф. Томмэ. Всероссийский научно–исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста (Дуб-

ровицы, 14–16 июня 2016 г.). – Дубровицы : ВНИИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2016. – С. 346–351.

4. Продуктивность молодняка крупного рогатого скота в зависимости от качества кукурузного силоса / А.Н. Кот [и др.] // Інноваційні рішення ефективного виробництва у тваринництві : тези доповідей Міжнародної науково–практичної інтернет–конференції / Міністерство освіти і науки України, Дніпровський державний аграрно–економічний університет; відповідальний за випуск: О.О. Іжболдіна. – Дніпро : Дніпропетровський державний аграрно – економічний університет, 2018. – С. 55–58.

5. Эффективность использования минеральных добавок из местных источников сырья в рационах телят / В.Ф. Радчиков, [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси. – Жодино, 2015. – Т. 45. – № 2. –С. 185–191.

УДК 636.084/.087;636.22

ЗАВИСИМОСТЬ РУБЦОВОГО ПИЩЕВАРЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРМОВ МОЛОДНЯКОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ОТ СТЕПЕНИ ИЗМЕЛЬЧЕНИЯ ЗЕРНА БОБОВЫХ

*Натынчик Татьяна Михайловна, старший преподаватель
Космович Екатерина Юрьевна, Савенков Олег Игоревич,
Макаревич Яна Валерьевна
Полесский государственный университет*

Введение. Количество и качество получаемой продукции напрямую связано с уровнем кормления. С ростом продуктивности сельскохозяйственных животных значительно возрастают требования к качеству кормов и их способности удовлетворять потребности организма в питательных веществах [1, 5].

Анализ источников. Дефицит кормового белка остается одной из основных проблем в кормлении сельскохозяйственных животных. При таких обстоятельствах, наряду с увеличением производства высококачественных белковых кормов, не менее важное значение имеет разработка способов повышения эффективности их использования. [2, 4].

Значительную часть протеина жвачные животные получают в составе концентрированных кормов. В то же время, скорость распада протеина в большей степени зависит от способов подготовки этих кормов к скармливанию. Поэтому успешное решение вопросов регулирования процессов пищеварения и обмена веществ в организме животных определяется выбором способа обработки высокобелковых кормов, позволяющим повысить эффективность использования питательных веществ [3, 5].

Цель работы –определить зависимость показателей рубцового пищеварения молодняка крупного рогатого скота и эффективности использования кормов от способов обработки высокобелковых концентрированных кормов.

Материал и методика исследований. Исследования проведены на молодняке крупного рогатого скота в физиологическом корпусе РУП

«Научно–практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству».

Формирование групп животных осуществляли по принципу пар–аналогов в соответствии со схемой исследований.

Различия в кормлении заключались в том, что в первой опытной группе часть комбикорма заменена размолотым (величина частиц до 1 мм) зерном бобовых культур, а во второй – дробленным (величина частиц 2 мм).

Интенсивность процессов рубцового пищеварения у бычков изучена путем отбора проб жидкой части содержимого рубца через фистулу спустя 2–2,5 часа после утреннего кормления в течение двух дней.

Динамику живой массы определяли путем индивидуального взвешивания животных в начале и в конце опыта.

Статистическая обработка результатов анализа была проведена с учетом критерия достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований и их обсуждение. В среднем в сутки подопытный молодняк получал 9,5 кг/голову сухого вещества рациона. Содержание обменной энергии в сухом веществе рациона опытных групп составило 10,0 МДж/кг. Количество клетчатки в сухом веществе составило 24–25 %. Соотношение кальция к фосфору находилось на уровне 1,7:1. Содержание сырого протеина в сухом веществе рационов составило 13 %. Во второй группе расщепляемость протеина рациона находилась на уровне 70 %, что на 3 % ниже, чем в первой. Такое различие обусловлено более низкой расщепляемостью протеина дробленной пелюшки. Исследование, проведенное на фистульных животных, показало, что протеин молотой пелюшки расщепляется на 72 %, а дробленной – на 39 %.

Результаты анализа показали, что значительных различий между показателями рубцового пищеварения отмечено не было. У животных, потреблявших дробленое зерно, в рубцовой жидкости отмечено снижение концентрации аммиака и небелкового азота на 6,8 % и 3,3 %. В этой же группе отмечено повышение содержания белкового азота на 5,8 % и инфузорий – на 4,3 %, что, возможно, обусловлено более интенсивным протеканием синтетических процессов.

Определение влияния использования обработанных высокобелковых кормов на физиологическое состояние подопытных бычков проводилось путем отбора и последующего анализа образцов крови подопытных животных.

Как показали исследования крови, животные опытных групп были клинически здоровы, все гематологические показатели находились в пределах физиологических норм.

Отмечено повышение содержания общего белка в крови животных второй опытной группы на 2,5 % и кальция на 2,7 %. В то же время в этой группе уровень гемоглобина, глюкозы мочевины и фосфора снизился на 2,9 %, 3,3, 8,3 3,0 % соответственно. Однако, отмеченные различия были недостоверны.

Потребление рационов с дробленным зерном оказало положительное влияние на энергию роста подопытных животных. Среднесуточные приросты

сты живой массы у животных второй группы увеличились на 4,1 % и составили 892 г. В результате валовой прирост живой массы за опыт был выше на 2,1 кг.

Расчет эффективности использования питательных веществ рациона показал, что затраты корма на 1 кг прироста в опытной группе снизились на 3,9 % и составили 9,8 корм. ед. Затраты протеина на кг прироста также были ниже на 4,3 %.

Заключение. Включение в рацион бычков дроблёного зерна пелюшки способствовало снижению степени расщепления протеина, концентрации аммиака и небелкового азота на 6,8 % и 3,3, повышение содержания белкового азота на 5,8 % и инфузорий – на 4,3 %, в рубце что, обусловлено более интенсивным протеканием синтетических процессов и обеспечило увеличение среднесуточного прироста на 4,1 %, при снижении затрат кормов на его получение на 3,9 %.

Список использованных источников

1. Активность процессов пищеварения в рубце у бычков при различном качестве белка / В.О. Лемешевский [и др.] // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук : навука–практычны журнал. – Пінск : ПолесГУ, 2016. – № 1. – С. 28–33.

2. Влияние разного уровня легкогидролизуемых углеводов в рационе на конверсию энергии корма бычками в продукцию / В.Ф. Радчиков [и др.] // Перспективы и достижения в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции. Сборник научных статей по материалам Международной научно–практической конференции, посвященной 85–летию со дня основания факультета технологического менеджмента (зооинженерного). Ставропольский государственный аграрный университет. – 2015. – С. 84–89.

3. Конверсия энергии рационов бычками в продукцию при скармливании сапропеля / В.Ф. Радчиков [и др.] // Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи. Матеріали IV Міжнародної науково–практичної конференції. Подільський державний аграрно–технічний університет. – Каменец–Подольський, 2014. – С. 154–155.

4. Новое в минеральном питании телят / В.Ф. Радчиков [и др.] // Новые подходы к разработке технологий производства и переработки сельскохозяйственной продукции: материалы Междунар. науч.–практ. конф., г. Волгоград, 6–7 июня 2018 г. / Под общ. ред. акад. РАН И.Ф. Горлова. – Волгоград: Издательство Волгоградского института управления – филиала РАНХиГС, 2018. – с. 59–63.

5. Рубцовое пищеварение и продуктивность бычков при разном измельчении зерна / В.Ф. Радчиков [и др.] // Інноваційні рішення ефективного виробництва у тваринництві : тези доповідей Міжнародної науково–практичної інтернет–конференції / Міністерство освіти і науки України, Дніпровський державний аграрно–економічний університет; відповідальний за випуск: О.О. Іжболдіна. – Дніпро : Дніпропетровський державний аграрно – економічний університет, 2018. – С. 83–85.

УДК 636.52/58.082.451

**ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА ПЛЕМЕННЫХ
ПЕТУХОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В РАЦИОНАХ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ПРОРОЩЕННОГО
ЗЕРНА ОВСА С СЕЛЕМАГОМ**

*Петрукович Т.В., к. с.-х. н., доцент
Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины*

Республика Беларусь относится к странам с динамично развивающимся птицеводством. Основное поголовье птицы в республике сконцентрировано на крупных промышленных птицефабриках, где практически весь производственный потенциал базируется на зарубежном генетическом материале. В настоящее время назрела необходимость к решению проблемы импортозамещения птицы, поскольку в связи со сложной эпизоотической обстановкой в мировом птицеводстве и при высоком удельном весе импортной птицы в общем поголовье, содержащемся на предприятиях республики, в первую очередь существует реальная угроза заноса в страну опасных инфекционных болезней птицы, распространенных за рубежом. Поэтому единственный выход в сложившейся ситуации – укрепление отечественной племенной базы в соответствии с мировыми стандартами продуктивности. Это даст возможность постепенно исключить импорт племенного молодняка за счет повышения конкурентоспособности птицы отечественной селекции. Таким образом, генетический потенциал продуктивных качеств птицы отечественной селекции является основой национальной продовольственной безопасности страны.

Перспективным способом воспроизводства птицы является искусственное осеменение [1]. Результативность этого метода в значительной степени определяется полноценностью кормления, основой которого выступает применение рационов, сбалансированных по всем питательным и биологически активным веществам, в особенности по витаминам и микроэлементам [3].

Целью наших исследований явилось изучение влияния пророщенного зерна овса с селемагом на воспроизводительную способность петухов родительского стада белорусской селекции.

Исследования проводились в клинике кафедры паразитологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Для проведения опыта из 180-дневных петухов родительского стада белорусской селекции методом случайной выборки были сформированы 3 группы производителей, в каждой из которых было по 10 племенных самцов. Петухов содержали индивидуально. Кур-несушек размещали в трехъярусной клеточной батарее по 10 голов в каждом ярусе.

Ежедневно петухам первой группы скармливали 140 г/гол. специализированного комбикорма ПК-4-1, второй группы – 115 г/гол. комбикорма ПК-4-1 и 25 г/гол. пророщенного овса, третьей группы – 115 г/гол. ком-

бикорма ПК-4-1 и 25 г/гол. пророщенного овса, обработанного перед проращиванием препаратом «Селемаг».

Овес проращивали в течение 42–48 ч до образования ростков длиной 1–2 мм и скармливали производителям во второй половине дня, рассыпая зерновую подкормку поверх основного корма. Пророщенный овес петухам скармливали 25 дней, что соответствовало полному циклу сперматогенеза.

Препарат распыляли на зерно с 17– по 21–й день перед закладкой на проращивание согласно инструкции по применению в соотношении 0,07 мл препарата на 0,5 л воды – из расчета на 1,0 кг зерна.

Яйца для инкубации начинали собирать через сутки после того, как несушки были осеменены 2 дня подряд. Доза осеменения составляла 0,050 мл разбавленной в соотношении 1:1 спермы. Для разбавления спермы использовали среду ВИРГЖ-2. Возраст кур и петухов на момент оценки воспроизводительных качеств составлял 205–210 дней.

Для оценки инкубационных качеств яиц определяли их оплодотворенность, выводимость и вывод цыплят. Процент выводимости яиц рассчитывали от числа оплодотворенных яиц, а процент вывода молодняка исчисляли от числа яиц, заложенных в инкубатор.

На всем протяжении исследований сперму от петухов получали согласно рекомендаций по системе оценки, отбора и использования петухов при искусственном осеменении по режиму: получение 3 эякулятов через день, предоставление 2 дней для отдыха. Осеменение использовали полиспермное. Первую контрольную группу кур осеменяли петухами, которым скармливали комбикорм ПК-4-1, вторую – петухами, в рацион которых добавлялся пророщенный овес, и третью группу осеменяли петухами, в состав рациона которых входил пророщенный овес, обработанный селемагом. Осеменяли кур один раз в 7 дней. Качество спермопродукции петухов оценивали по общепринятым методикам [2].

Как показали результаты исследования, до введения в рацион пророщенного овса и селемага показатели спермопродукции петухов всех групп были схожими: объем эякулята составлял 0,27–0,30 мл, концентрация сперматозоидов – 3,19–3,25 млрд./мл, активность спермиев – 8,3–8,5 баллов. Несмотря на изначально высокое качество спермопродукции и ее соответствие целям искусственного осеменения, применение пророщенного овса и селемага позволило достичь в опытных группах по сравнению с контрольной группой птицы увеличения объема выделяемой спермы на 0,02–0,05 мл (6,7–16,7%), содержания в ней спермиев на 0,06–0,17 млрд./мл (1,8–5,1%), активности спермиев на 0,2–0,5 балла (2,4–6,0%). Это свидетельствует о том, что пророщенный овес и еще в большей степени его комбинация с селемагом оказывают положительное влияние на воспроизводительные качества петухов. Вместе с тем следует отметить, что концентрация спермиев и их активность по сравнению с объемом эякулята являются более стабильными показателями, и поэтому подвергались под действием биологически активных веществ пророщенного овса, селемага значительно меньшему увеличению. В итоге наилучшее качество спермопродукции петухов было установлено в третьей группе птицы, получавшей пророщен-

ный овес с селемагом: объем эякулята составил 0,35 мл, концентрация спермиев 3,51 млрд./мл, активность спермиев 8,9 баллов. Разница между 1–й контрольной и 3–й опытной группой во всех случаях была достоверной ($p < 0,05$).

С целью изучения связи качества спермопродукции с оплодотворяющей способностью петухов – производителей, было проинкубировано 120 яиц (по 40 из каждой группы). В результате исследований отмечено, что оплодотворяющая способность петухов находилась в прямой связи с качеством спермопродукции.

Так, оплодотворенность яиц в третьей опытной группе была выше на 10,0 п.п. по сравнению с контрольной и на 5,0 п.п. по сравнению со второй опытной группой. Выводимость же яиц в третьей группе оказалась даже ниже, чем в первой контрольной группе на 1,1 и второй опытной группе – на 1,9 п.п. соответственно.

Общеизвестно, что самым главным показателем, определяющим результаты инкубации и экономическую эффективность, является вывод молодняка. Следует отметить, что в наших исследованиях, несмотря на то, что выводимость яиц в третьей группе была несколько ниже по сравнению с первой и второй подопытными группами, показатель вывода цыплят у петухов, где применяли пророщенное зерно овса с селемагом, все же был наиболее высоким – 82,5%, что больше на 7,5 п.п. по сравнению с контрольной и на 2,5 п.п. по сравнению со 2–й опытной группой.

Таким образом, результаты наших исследований подтвердили эффективность применения пророщенного овса, обработанного перед проращиванием препаратом «Селемаг», что способствовало улучшению качества спермопродукции петухов и повышению вывода цыплят.

Список использованных источников

1. Лебедева, И. А. Особенности исследований в области искусственного осеменения птицы / И.А. Лебедева, Ж.А. Проккоева // Птицеводство. – 2015. – № 6. – С. 21 – 24.
2. Сперма петухов и индюков неразбавленная свежеполученная. Технические требования и методы испытаний: ГОСТ 27267–87. – Введ. 01.07.88. – Москва: Гос. комитет СССР по стандартам: Госагропром СССР, 1987. – 5 с.
3. Чарыев, А. Б. Пророщенное зерно ячменя в рационе мясных кур / А. Б. Чарыев // Птицеводство. – 2016. – № 1. – С. 47 – 50.

УДК 664.951.6

ВЛИЯНИЕ КОНСЕРВИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТОВ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ

*Ярмошевич Юрий Андреевич, магистрант
Астренков Андрей Валерьевич, к.с./х. н., доцент
Полесский государственный университет*

Введение. Рыба и морепродукты являются одними из наиболее динамичных сегментов продовольственного рынка. Основным критерием роста является увеличение покупательной способности, как в разрезе конкретных рынков, так и в глобальной перспективе. Это развитие проявляется во многих частях мира, однако, наиболее заметно на развивающихся рынках, таких как СНГ, Китай, Бразилия [1, с. 22]. Интерес покупателей к рыбе представлен ее низкой ценой, особенно если это касается привозной охлажденной рыбы.

Беларусь не имеет прямого выхода к морю, в связи с чем перерабатывающие предприятия республики вынуждены активно импортировать морскую рыбу и морепродукты. В нашей стране насчитывается более 60 перерабатывающих предприятий, которые способны переработать 85 тыс. тонн продукции в год. Самыми крупными из них являются: СП «Санта Бремор» ООО (г. Брест), ОАО «Белрыба» (г. Минск), ОДО «Виталюр», СП «Леор Пластик» (г. Новогрудок), ГП «ПТЦ г. Браслав», ООО «Баренцево».

Крупнейшим производителем рыбных консервов в республике является – Коммунальное производственное унитарное предприятие «Производственно–технологический цех г. Браслав» (КПУП «ПТЦ г. Браслав»). Производственные мощности предприятия составляют 5,7 тыс. тонн в год. В своем производстве данный завод использует не только завозное сырье, но и рыбу выловленную из естественных водоемов Витебской области. Благодаря креативному подходу руководства к продвижению продукции на рынке и ее разнообразию на заводе изготавливают консервы из пресноводных видов рыб. В частности они производят продукцию из карпа, толстолобика, леща, щуки и мелких частиковых рыб. В качестве основных заливок используют томатный соус, овощи в томатной соусе и растительное масло. КПУП «ПТЦ г. Браслав» реализует свою продукцию по всей территории Беларуси в большей степени охватывая северные области страны.

По нашему мнению проведения исследований в области расширения ассортимента производства консервов из пресноводной рыбы вылавливаемой из естественных водоемов нашей республики является актуальной.

Материал и методы исследования. Для проведения микробиологического исследования изготовили 6 банок опытных образцов консервов из леща с добавлением масла, в три из них добавили консерванты – бензоат натрия (e211) и сорбат калия (e202). Учитывая максимально допустимую дозировку консервантов сорбат калия не превышал 0,2 % от массы продукта, бензоата натрия – 0,3%. [2, с. 136]. При производстве консервов учиты-

вали продолжительность стерилизации продукта, которая составила 160 минут при температуре 125 °С и давлении 3,5 атм. Пробы опытных образцов, в трехкратной повторности, высаживались на питательные среды в чашки Петри. Подсчет колоний микроорганизмов проводили через 24 ч. Затем определяли микробное число опытных образцов.

Обсуждение полученных результатов. В рыбной промышленности традиционными консервантами являются бензоат натрия и сорбат калия. Доказано, что бензоат натрия проявляет антимикробное действие, которое связано со способностью подавлять ферменты, осуществляющие окислительно–восстановительные реакции, и направлено главным образом против дрожжей и плесневых грибов.

В свою очередь, сорбат калия, также воздействует на развитие плесневых грибов, включая афлотоксинообразующие и дрожжи, благодаря способности ингибировать дегидрокиназу. Он не подавляет рост молочнокислой флоры, поэтому часто используется в смеси с другими консервантами.

Сочетание этих консервантов дает эффект синергии, который лучше проявляется при соотношении двух частей сорбата калия к одной части бензоата натрия.

Предполагалось, что опытные пробы с консервантами будут иметь меньшее микробное число, не желе те у которых консервант не использовался.

Однако, в опытных образцах с консервантом среднее значение составила 910 колоний, без консерванта – 673. При этом в пробах без консерванта помимо подсчитанных колоний наблюдался очаги сплошного налета в среднем по 5 шт. в каждой пробе.

Выводы. При производстве консервов большую роль имеют строгое соблюдение технологии, недопущение повышенной обсемененности на всех технологических операциях производственного процесса, выполнение санитарных требований, стерильность оборудования, чем консерванты.

Считаем, необходимым провести повторные исследования для проверки достоверности полученных результатов.

Список использованных источников

1. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры. Вклад в обеспечение всеобщей продовольственной безопасности и питания. Рим: ФАО, 2016.– 216 с.
2. Пищевая химия. Добавки : учеб. пособие для вузов / Л. В. Донченко, Н. В. Сокол, Е. В. Щербакова, Е. А. Красноселова; – 2–е изд. – М.: Изд. Юрайт, 2018. – 223 с.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ КОРМОПРОИЗВОДСТВА В АКВАКУЛЬТУРЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

*Ярмошевич Юрий Андреевич, магистрант
Астренков Андрей Валерьевич, к.с./х. н., доцент
Полесский государственный университет*

Введение. Согласно прогнозам ФАО, производство продукции аквакультуры к 2030 году достигнет рекордных отметок и составит около 109 млн. т. Примечательно, что порядка 89 процентов производства мировой аквакультуры в 2030 году будут обеспечивать азиатские страны. При этом Китай останется ведущим мировым производителем аквакультурной продукции. Специалисты ФАО прогнозируют увеличение производство аквакультуры на всех континентах, но наиболее значительный рост ожидается в Латинской Америке (49 %) и в Африке (61 %) [1]. Основными выращиваемыми видами рыб будут карп, тилапия и сом. Поэтому необходимо коренным образом пересмотреть отношение к производству комбикормов в нашей стране.

В прудовых хозяйствах республики доминирующим выращиваемым видом остается карп (76 – 80%) [2, с. 17]. Для его выращивания ежегодно комбикормовые заводы производят 50 – 60 тыс. тонн специализированных комбикормов [3, с 103]. При изготовлении комбикормов К–110 и К–111 для выращивания карпа на заводах используют сырье отечественного производства, при этом получают комбикорма хорошего качества.

Вторым динамично развивающимся направлением является индустриальное рыбоводство [2, с.19]. На действующих и вновь построенных рыбоводных комплексах ведется выращивание лососевых, осетровых и сомовых видов рыб. Лидирующие позиции в объеме производства индустриального рыбоводства занимает выращивание радужной форели, которое составляет 50 – 55 % от общего объема выпускаемой рыбной продукции. В меньшей степени выращиваются осетровые и на начальном этапе развития производства находятся сомовые виды рыб.

Основными проблемами в производстве ценных видов рыб является импортирование: жизнестойкого рыбопосадочного материала, специализированных комбикормов и технологического оборудования.

В Беларуси для выращивания товарной рыбы в индустриальных условиях используются комбикорма зарубежных производителей (Aller–Aqua, Sorrens и др.) и рецептурные корма разработанные для лососевых и осетровых рыб Институтом рыбного хозяйства [4, 5]. Данные комбикорма охотно закупаются многими рыбоводными хозяйствами, при этом часть корма производимого по рецептурам Института рыбного хозяйства экспортируется за рубеж.

Однако в кормопроизводстве остается не охваченным выращивание сомовых видов рыб. Поэтому разработка комбикормов для выращивания

клариевого сома в установках замкнутого водообеспечения является актуальным направлением.

Материал и методы исследования. Исследования экспериментальных комбикормов для сома проводились в аквариальной лаборатории ПолесГУ. Испытания проводили в 3 лотках. Объем каждого лотка составлял 0,5 м³. Кормление клариевого сома в двух лотках проводили экспериментальными кормами, контролем служил комбикорм фирмы Aller–Aqua. Длительность эксперимента составила 14 дней.

Обсуждение полученных результатов. По окончании опытов лучшие результаты получили в лотках № 2 и № 3, в которых рыбу кормили опытным кормом рецепт № 2 и комбикормом фирмы Aller–Aqua. Кормовой коэффициент в лотках № 2 и № 3 составил 1,04 и 1,20 соответственно. В первом лотке клариевого сома кормили опытным рецептом № 1. Рыба поела его не охотно, поэтому кормовой коэффициент составил 2,81.

Выводы. Полученные результаты исследования говорят о целесообразности применения рецептуры № 2 для выращивания клариевого сома.

Список литературных источников

1. Рыбная промышленность в России [Электронный ресурс]. – 2018. – Режим доступа : [http://fishretail.ru/news/k-2030-godu-proizvodstvo-akvakulturi-irastet-na-37-388481](http://fishretail.ru/news/k-2030-godu-proizvodstvo-akvakulturi-virastet-na-37-388481) – Дата доступа : 06.11.2018.
2. Агеец, В.Ю. Состояние аквакультуры в Республике Беларусь: возможности инновационного развития и научное обеспечение // В.Ю. Агеец / Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сб. науч. тр. – Минск, 2015. – Вып. 31. – С. 14 – 25.
3. Агеец, В.Ю. Проблемы производства кормов для рыб в Беларуси // В.Ю. Агеец / Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сб. науч. тр. – Минск, 2014. – Вып. 30. – С. 101 – 111.
4. Тютюнова, М.Н. Комбикорм для осетровых рыб на основе местного сырья / М.Н. Тютюнова [и др.] // Сб. тр. Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – Вып. 21. – Минск. 2005 г. – С.164 – 166.
5. Столович, В.Н. Отечественные производственные комбикорма для форели / Столович В.Н. [и др.] // Сб. тр. Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – Вып. 21. – Минск. 2005 г. – С.160–163.
6. Национальный Интернет–портал Республики Беларусь [Электронный ресурс] / К 2030 году производство аквакультуры вырастет на 37%. – Минск, 2005. – Режим доступа : <http://fishretail.ru> – Дата доступа : 25.01.2006.

БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

УДК 631.461.51

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО ШТАММА *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* НА РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРИТИКАЛЕ (*TRITICOSECALE*)

Жук Ольга Николаевна, к.б.н., доцент
Камельчук Янина Степановна, аспирант
Грушевская Дарья Александровна, магистрант
Лагодич Галина Александровна, магистрант
Полесский государственный университет

Беларусь активно включилась в развитие рынка органической продукции – принят закон о производстве и обращении органической продукции, что крайне важно для обеспечения населения качественными продуктами питания и развития экспортного потенциала. Для исполнения данного закона необходимо развивать биотехнологии и готовить кадры. Внедрение в производство современных биотехнологий, использование микробных биопрепаратов направлено на повышение устойчивости производства и качества продукции растениеводства.

Китай, США, страны ЕС, достигли потолка применения агрохимикатов и синтетических удобрений. Дальнейшее увеличение их применения уже не ведет к увеличению урожая, а, наоборот, провоцирует экологические проблемы, которые негативно влияют на производство продуктов питания и, в конечном результате, на здоровье человека. Новый биотехнологический виток земледелия направлен на взаимовыгодное сотрудничество с природой. Одним из биопрепаратов, который был разработан и применен в Советском Союзе в 30–х годах прошлого века является азотобактерин [3]. Его основу составляет *Azotobacter chroococcum* – род свободноживущих в почве бактерий, способных фиксировать атмосферный азот и переводить его в форму, доступную для усвоения растениями [1]. Позже было показано, что азотобактер не только может фиксировать атмосферный азот, но и выделять в окружающую его среду биологически активные вещества – витамины и стимуляторы роста, была установлена его способность угнетать рост фитопатогенных грибов. Поэтому при селекции штаммов азотобактера для производственных целей значительное внимание уделяется их способности стимулировать рост и развитие растений [2, 4].

Целью работы является провести функциональную оценку чистой культуры свободноживущих почвенных бактерий рода азотобактер, выделенных из природы. Для достижения поставленной цели требовалось выделить чистую культуру этих микроорганизмов и оценить ее способность стимулировать ростовые потенциалы сельскохозяйственных растений.

Чистую культуру *Az. chroococcum* получали из почвы методом многоступенчатой аналитической селекции. Идентификацию микроорганизмов проводили по комплексу ключевых признаков согласно определителю Берджи. Выделенные микроорганизмы культивировали в жидкой питательной среде состава, (г/л): KH_2PO_4 – 0,5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,3, NaCl – 0,3, FeSO_4 – 0,005, MnSO_4 – 0,005, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ – 0,005, CaCO_3 – 3,5, сахароза – 20. В течение 24 часов при температуре 27 °С количество бактерий достигало концентрации $1,3 \times 10^8/\text{см}^3$.

Было проведено 2 этапа экспериментов. В первом для определения влияния *Az. chroococcum* на всхожесть, прорастание, формирование корневой системы на примере представителя семейства Злаки – тритикале (*Triticosecale*) последний помещали в чашки Петри (по 20 зерен), покрытые фильтровальной бумагой и добавляли 20 мл культуральной среды, содержащей разные концентрации *Az. chroococcum*. Было проведено 6 серий экспериментов в 5-кратном повторе: № 0 – солевая среда, не содержащая микроорганизмы, № 1 – концентрация микроорганизмов составила $0,13 \times 10^8/\text{см}^3$, № 2 – $0,325 \times 10^8/\text{см}^3$, № 3 – $0,65 \times 10^8/\text{см}^3$, № 4 – $0,978 \times 10^8/\text{см}^3$, № 5 – $1,3 \times 10^8/\text{см}^3$, температура экспозиции – 22 °С, длительность – 5 суток.

Таблица 1 – Влияние *Azotobacter chroococcum* на рост тритикале

Разведение	1 сутки	2 сутки		3 сутки			4 сутки			5 сутки			
	Кол-во проросших семян, шт	Кол-во проросших семян, шт	Высота ростков, мм	Общее кол-во корней, шт	Кол-во проросших семян, шт	Высота ростков, мм	Общее кол-во корней, шт	Кол-во проросших семян, шт	Высота ростков, мм	Общее кол-во корней, шт	Кол-во проросших семян, шт	Высота ростков, мм	Общее кол-во корней, шт
№ 0	14	14	11,7 ±0,2	24	15	14,5 ±0,1	33	15	25,4 ±0,1	53	15	41,6 ±0,2	53
№ 1	18	18	9,6 ±0,1	40	19	24,4 ±0,2	60	19	41,8 ±0,1	66	19	59,0 ±0,1	66
№ 2	14	15	9,9 ±0,3	28	15	20,8 ±0,1	52	15	34,3 ±0,2	54	15	60,2 ±0,2	54
№ 3	17	18	9,0 ±0,2	37	18	21,2 ±0,1	60	18	37,1 ±0,2	60	18	54,2 ±0,1	60
№ 4	14	14	8,9 ±0,2	32	16	21,4 ±0,2	43	17	38,6 ±0,1	46	17	54,2 ±0,1	46
№ 5	17	17	7,8 ±0,1	30	17	22,2 ±0,1	44	17	38,1 ±0,1	47	17	56,1 ±0,2	47

Через одни сутки наблюдали первые признаки прорастания семян, на вторые – формирование ростка, на третьи – образование корневой системы. Результаты наблюдений представлены в таблице 1. Как следует из полученных данных, ростовые показатели семян в контроле были ниже таковых всех экспериментальных серий. Наилучший показатель образования

ростков тритикале отмечен в эксперименте № 2 (концентрация микроорганизмов $0,325 \times 10^8 / \text{см}^3$) – длина ростков достигала $60,2 \pm 0,2$ мм, наибольшее общее количество корней было сформировано при концентрации микроорганизмов $0,13 \times 10^8 / \text{см}^3$ (№ 1) – 66 шт.

Второй этап выполнен при высеве *Triticosecale* в грунт. Перед посевом семена на одни сутки помещали в сосуд, содержащий культуру *Az. chroococcum* в концентрации клеток $1,3 \times 10^8$ на 1 см^3 , контрольные зерна замачивали в воде, высаживали в ящики размером $40 \times 40 \times 15$ см, расстояние между зернами 5 см. Всего было высажено по 56 растений в каждой группе. Изучали влияние микроорганизмов на всхожесть, рост и формирование корневой системы. Для оценки формирования корневой системы, начиная с четвертого дня, по 5 растений каждой группы извлекали из грунта, подсчитывали количество корней и измеряли их длину. Результаты исследования представлены в таблице 2. В ходе проведенных экспериментов можно сделать вывод, что применение *Az. chroococcum* позволило ускорить прорастание семян, увеличить высоту ростка и к шестым суткам улучшить корнеобразование.

Таблица 2 – Влияние *Azotobacter chroococcum* на рост тритикале в грунте

День наблюдения	4		5		6	
Группа	Контроль	Эксперимент	Контроль	Эксперимент	Контроль	Эксперимент
Всхожесть семян, шт	33	38	37	46	39	47
Высота ростка, мм	23 ± 1	30 ± 1	47 ± 1	55 ± 2	76 ± 2	100 ± 2
Количество корней, шт	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	6 ± 1	7 ± 1
Длина корней, мм	$44,6 \pm 0,5$	$44,3 \pm 0,3^*$	$51,9 \pm 0,6$	$46,7 \pm 0,3^*$	$52,2 \pm 0,8$	$58,1 \pm 0,6^*$

Таким образом, выделенный из природы штамм почвенной бактерии *Az. chroococcum* обладает способностью стимулировать всхожесть, рост и развитие наземной части и корневой системы *Triticosecale*. Полученные данные позволяют рекомендовать этот штамм для дальнейших испытаний на предмет использования его в составе микробных биопрепаратов для стимуляции роста растений, защиты их от вредителей и улучшения состояния почвы

Список использованных источников

1. Азотобактер/ Большая советская энциклопедия: в 30 т. / гл. ред. А. М. Прохоров. – М.: Советская энциклопедия. – 1969–1978.
2. Гарбуз С.А. Подбор оптимальной питательной среды для гомогенного, периодического культивирования *Azotobacter chroococcum* / С.А. Гарбуз,

В.Е. Корытова // Международный научно–исследовательский журнал № 12 (54) Часть 1. – Екатеринбург, 2016. – С. 12–14.

3. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения / Н.А. Красильников. – М.: Издательство АН СССР. – 1958. – 493 с.

4. Наумова А.Н. Природа действия бактериальных удобрений (азотобактерина, фосфобактерина) на сельскохозяйственные растения / А.Н. Наумова, Е.Н. Мишустин, В.Г. Марьенко. – Изв. АН СССР. – 1962. – С.709–717.

УДК 577.112:27+615.28

СОЗДАНИЕ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ВЕКТОРА СЕРИИ pET ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КАПСИДНОГО БЕЛКА ВИРУСА ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ШТАММАХ *E. COLI*

*Кудин Кирилл Валерьевич, м.н.с. НИЛ биотехнологии,
Сауткина Наталья Владимировна, ассистент,
Адамонис Яна Викторовна, студент,
Прокулевич Владимир Антонович, д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии
Белорусский государственный университет*

Введение. Вирусная диарея крупного рогатого скота вызывается группой вирусов BVDV (Bovine Viral Diarrhoea Virus), относящихся к роду *Pestivirus* семейства *Flaviviridae*. Вирус BVDV связан с желудочно–кишечными, респираторными и репродуктивными заболеваниями крупного рогатого скота, приводящими к значительным экономическим потерям в основном из–за снижения репродуктивных характеристик животных. Вирион BVDV 2–го типа представляет собой нуклеокапсид с заключенной внутри одноцепочечной геномной РНК, окруженный липидной оболочкой со структурными вирусными гликопротеинами, из которых гликопротеин E2 является иммунодоминантным антигеном. Фрагмент открытой рамки считывания генома BVDV, кодирующий белок E2 внешней оболочки вириона, ранее был клонирован в векторе pUC18 и секвенирован [1]. Целью работы являлось переклонирование данного гена в вектор серии pET для экспрессии белка E2 в бактериальных клетках.

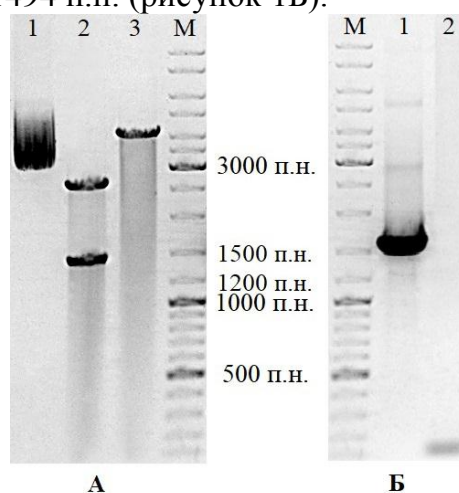
Материалы и методы. Для создания экспрессионной конструкции открытую рамку считывания (ОРС), кодирующую белок E2, переносили из промежуточного вектора pUC18–BVDV [1] в вектор pET–24b(+) (Novagen). Клонирование полученной рекомбинантной плазмиды проводили с использованием стандартных методик [2] в клетках штамма *E. coli* XL–1 Blue. ПЦР и рестрикцию проводили согласно рекомендациям фирмы–производителя используемых ферментов (Thermo Fisher Scientific Inc.), если не указано иное. Характеристики использованных в работе праймеров приведены в таблице.

Таблица – Характеристики использованных праймеров

Праймер	Последовательность 5' → 3'	Размер, п.н.	Фермент	Температура отжига, °С
M13-F	tgtaaacgacggccagt	18	–	50
M13-R	caggaaacagctatgacc	18		
BVDV-ORP-F	gatata <u>catat</u> gggcagcttcctgaatgcaaagag	36	NdeI	62
BVDV-Short-S-R	gtggtg <u>ctc</u> gagttagaacctgagaagtagtctttg	37	XhoI	

Примечание – сайты узнавания рестриктаз подчеркнуты, дополнительные нуклеотидные последовательности вектора рЕТ-24b(+), примыкающие к сайтам рестрикции, выделены жирным шрифтом.

Результаты и их обсуждение. Предварительный рестрикционный анализ вектора рUC18-BVDV осуществляли с использованием рестриктаз HindIII и EcoRI. Ожидаемый размер клонированной вставки составил 1442 п.н. (рисунок 1А). Для проведения ПЦР-анализа применяли *Taq*-полимеразу и универсальные праймеры M13-F и M13-R (таблица 1), комплементарные области полилинкера вектора рUC18. Размер ожидаемого продукта ПЦР составил 1494 п.н. (рисунок 1Б).



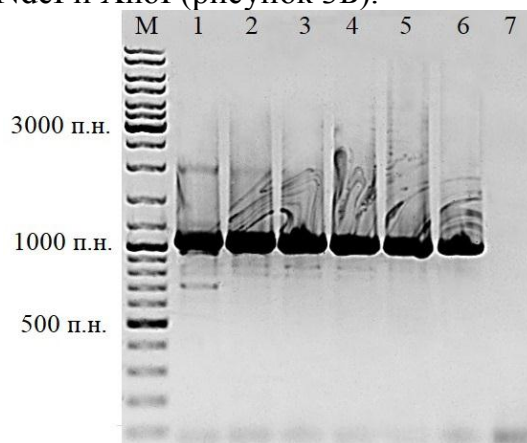
А: 1 – нативный вектор рUC18-BVDV; 2 – вектор рUC18-BVDV, обработанный рестриктазами HindIII и EcoRI; 3 – вектор рUC18-BVDV, обработанный рестриктазой EcoRI; Б: 1 – продукт амплификации с праймерами M13-F и M13-R и матрицей рUC18-BVDV; 2 – отрицательный контроль (без матричной ДНК); М – маркеры молекулярного веса ДНК SM 0333 (Thermo Fisher Scientific Inc.).

Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа (А) и ПЦР-анализа (Б) вектора рUC18-BVDV

Амплификацию фрагмента ОРС генома BVDV проводили методом ПЦР с использованием *Pfu*-полимеразы и праймеров BVDV-ORP-F и BVDV-Short-S-R (таблица 1). При проведении амплификации с теоретически рассчитанными параметрами фрагмент ДНК накапливался неэффективно. При оптимизации температуры отжига праймеров было установлено, что наибольший выход целевого ампликона при минимальном уровне неспецифических продуктов наблюдался при температуре отжига 62 °С,

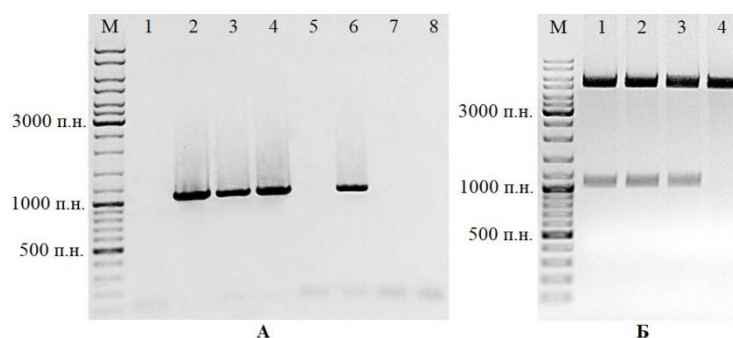
размер продукта амплификации составляет 1053 п.н. (рисунок 2). Дополнительно для повышения специфичности и эффективности реакции использовали «горячий старт», а также увеличенное время элонгации цепи (2 мин 30 сек при 72 °С).

Полученный ампликон очищали, лигировали с вектором рЕТ–24b(+) по сайтам рестрикции NdeI и XhoI и трансформировали им клетки штамма *E. coli* XL–1Blue. Полученные клоны трансформантов проверяли на наличие вставки в рекомбинантном векторе ПЦР–анализом с использованием праймеров BVDV–ORP–F и BVDV–Short–S–R (рисунок 3А). Векторную ДНК, выделенную из положительных клонов, проверяли рестрикционным анализом ферментами NdeI и XhoI (рисунок 3Б).



М – маркер молекулярного веса ДНК SM 0333 (Thermo Fisher Scientific Inc.); 1–6 – продукты амплификации матрицы при температурах 46, 50, 54, 58, 62 и 66 °С соответственно; 7 – отрицательный контроль (без матричной ДНК).

Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов оптимизации амплификации фрагмента ОРС генома BVDV



А: 1 – отрицательный клон; 2, 3, 4 – положительные клоны; 5 – отрицательный контроль (без матричной ДНК); 6 – положительный контроль (вектор рUC18–BVDV); 7 – отрицательный контроль (клетки штамма *E. coli* XL–1 Blue без плазмиды); 8 – вектор рЕТ–24b(+) (отрицательный контроль), Б: 1, 2, 3 – вектор рЕТ–BVDV, выделенный из трех положительных клонов и обработанный рестриктазами NdeI и XhoI; 4 – отрицательный контроль (вектор рЕТ–24b(+), обработанный рестриктазами NdeI и XhoI); М – маркер молекулярного веса SM 0333 (Thermo Fisher Scientific Inc.).

Рисунок 3 – Электрофореграмма продуктов ПЦР–анализа (А) и рестрикционного анализа (Б) клонов *E. coli* XL–1 Blue рЕТ–BVDV

Таким образом, в клетках штамма *E. coli* XL-1Blue в составе вектора pET-24b(+) была клонирована последовательность ОРС, кодирующая капсидный белок E2 вируса BVDV 2-го типа.

Список использованных источников

1. Кудин, К.В. Получение фрагмента генома вируса диареи крупного рогатого скота / К.В. Кудин, П.П. Красочко, В.А. Прокулевич // Вестник БГУ. – 2014. – Серия 2, № 2. – С. 58–62.
2. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – Москва: Мир, 1984. – 480 с.

УДК 578.82:636.4:619+577.112:578.74:543.9

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «БИФЕРОН-С» НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И ИММУНИЗАЦИЮ ПОРОСЯТ К ЦВС-2

*Кудин Кирилл Валерьевич, мл. науч. сотр. НИЛ биотехнологии,
Кудина Ирина Владимировна, мл. науч. сотр. НИЛ биотехнологии,
Прокулевич Владимир Антонович, д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии,
Белорусский государственный университет*

Введение. Синдром послеотъемного мультисистемного истощения и другие ассоциированные с цирковирусом свиней типа 2 (ЦВС-2) заболевания поросят являются существенным фактором экономического неблагополучия свиноводческого производства, который на сегодняшний день в значительной степени удастся контролировать за счет поголовной вакцинации молодняка. Наряду с инфекционными заболеваниями для решения сопутствующих проблем роста, развития и продуктивности животных применяется огромное количество вспомогательных препаратов, совокупное и одновременное действие которых на организм животного невозможно предсказать и требует проведения специальных исследований. Одним из группы препаратов комплексного действия является «Биферон-С», который представляет собой смесь рекомбинантных видоспецифичных цитокинов, обладающих противовирусным и антибактериальным действием широкого спектра [1]. Целью данной работы является изучение влияния препарата «Биферон-С» на рост и развитие поросят, а также на их иммунизацию к ЦВС-2.

Материалы и методы. Испытания препарата «Биферон-С» проводили на базе СПК «Агрокомбинат «Снов» Несвижского района Минской области. Новорожденных поросят разделили на 2 экспериментальные группы – контрольную (259 голов) и опытную (79 голов). Поросятам опытной группы вводили препарат «Биферон-С» согласно инструкции дважды в объеме 1 см³ – в возрасте 1 день и 21 день (одновременно с вакцинацией к ЦВС-2). Плановую вакцинацию к ЦВС-2 проводили поросятам обеих групп в возрасте 21 день импортной вакциной Porcilis® PCV (Intervet UK

Ltd.). В ходе проведения эксперимента регистрировали изменение ростовых показателей поросят, для этого проводили взвешивание 20 случайно отобранных из каждой группы новорожденных особей в начале эксперимента (в возрасте 1 день), а затем поголовное взвешивание в возрасте 28 дней (перевод на доращивание) и 100 дней (перевод на откорм). Поросят, имеющих выраженные клинические симптомы заболеваний или значительное отставание в росте, исключали из экспериментальных групп, изолировали и считали выбывшими, также как и павших животных, в соответствии с критериями отбора, принятыми в хозяйстве. Для определения виремии ЦВС–2 и титра специфических антител к ЦВС–2 ($1/EC_{50}$) в сыворотке отбирали пробы крови в вакуумные пробирки Lind–Vac[®] (InterVacTechnology Ltd.) у 10 случайным образом выбранных поросят из каждой экспериментальной группы в возрасте 21 день непосредственно перед вакцинацией к ЦВС–2 и в возрасте 50 дней. Сыворотку крови получали в соответствии с инструкцией производителя. Иммуноферментное исследование сыворотки на антитела к ЦВС–2 осуществляли как было описано ранее [2]. ПЦР–анализ на виремию ЦВС–2 выполняли путем выявления генома вируса в тотальной ДНК, выделенной из образцов сыворотки, с использованием специфических праймеров и параметров реакции, описанных ранее [3]. Для оценки статистической достоверности различий титра специфических антител к ЦВС–2 у поросят различного возраста и различных экспериментальных групп использовали U–критерий Манна–Уитни.

Результаты исследования. За период проведения эксперимента значительных различий в основных ростовых показателях, клинических симптомах, заболеваемости и смертности поросят в обеих экспериментальных группах не наблюдалось (таблица).

Таблица – Основные производственные показатели поросят в экспериментальных группах

Производственные показатели	Контроль	«Биферон–С»
Количество животных, голов	259	79
Средняя масса при рождении (n = 20), кг	1,34	1,37
Средняя масса при отъеме (28 дней), кг	6,9	7,5
Средняя масса при переводе на откорм (100 дней), кг	49,1	53,4
Среднесуточный привес за период 28–100 дней, г	565	582
Выбытие* за период 28–100 дней, голов	21	8

*Примечание – к выбывшим относили переведенных в лазарет в результате заболевания, выбракованных из–за сильного отставания в росте или павших поросят.

Применение препарата «Биферон–С» в период вакцинации поросят к ЦВС–2 не повлияло существенным образом на уровень специфических антител к данному вирусу (рисунок). Статистические различия между экспериментальными группами достоверно отсутствовали при уровне значимости $p < 0,01$ как перед вакцинацией (день 21) так и через 29 дней после нее (день 50). При этом на 29 день после вакцинации титр специфических анти-

титр к ЦВС–2 достоверно увеличился в обеих группах более чем в 10 раз по сравнению с первоначальным уровнем ($p < 0,01$). Результаты определения вирусии ЦВС–2 методом ПЦР в пробах сывороток поросят обеих групп во всех возрастных периодах оказались отрицательными (таблица).

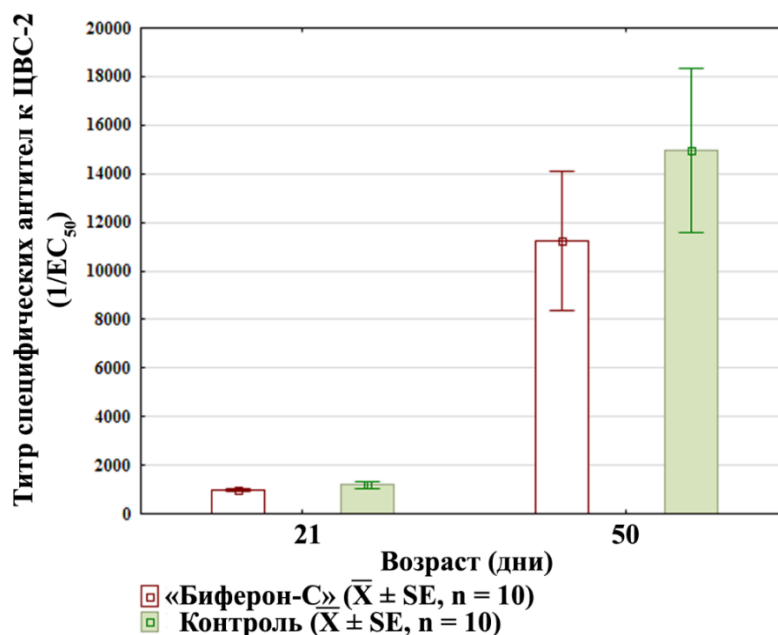


Рисунок – Сравнение титра специфических антител к ЦВС–2 в сыворотке крови поросят в возрасте 21 и 50 дней

Тем не менее, при сопоставимой массе тела в обеих группах на момент начала эксперимента в процессе роста и развития поросят наблюдалось постепенное увеличение разницы в весе, вызванной более высокой скоростью набора массы поросятами опытной группы (таблица). Вследствие этого у поросят, получавших препарат «Биферон–С», наблюдался более высокий среднесуточный привес (таблица).

Таким образом, применение препарата «Биферон–С» с профилактической целью у поросят подсосного периода в условиях эксперимента не оказало достоверного отрицательного воздействия на уровень поствакцинальных специфических антител к ЦВС–2, рост и развитие молодняка. Более того, наблюдалось определенное превосходство производственных показателей поросят опытной экспериментальной группы. В частности, поросята, получавшие препарат «Биферон–С», в среднем имели более высокую массу тела и среднесуточный привес. Однако статистическая достоверность выявленных различий не оценивалась в связи с невозможностью учесть индивидуальный вклад каждой особи в расчет данного производственного показателя в условиях свинокомплекса. Клинические симптомы цирковирусных болезней свиней и признаки активной инфекции ЦВС–2 по результатам ПЦР–анализа на всем протяжении эксперимента отсутствовали в обеих группах поросят.

Список использованных источников

1. Прокулевич, В.А. Ветеринарные препараты на основе интерферона / В.А. Прокулевич, М.И. Потапович // Вестник БГУ. – 2011. – Серия 2, № 3. – С. 51–55.
2. Оценка диагностического потенциала субстанции рекомбинантного белка капсида ЦВС–2 в качестве компонента ИФА / К.В. Кудин [и др.] // Микробные биотехнологии, фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. / Институт микробиологии НАН Беларуси; редкол.: Э.И. Коломиец (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2018. – Том 10. – С. 172–183.
3. Кудин, К.В. Клонирование гена белка капсида белорусского штамма цирковируса свиней 2 типа / К.В. Кудин, В.А. Прокулевич // Вестник БГУ. – 2011. – Серия 2, № 2. – С. 37–41.

УДК 577.121.7; 602.3:582.282.23

ДИНАМИКА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА В КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ПРИ ДЫХАНИИ И БРОЖЕНИИ НА РАЗНЫХ ФАЗАХ РОСТА

*Подольский Дмитрий Эдуардович, аспирант
Полесский государственный университет*

Введение. Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* являются важнейшими объектами биотехнологических производств и растут на разных типах субстратов, из которых более предпочтительными для них являются глюкоза и фруктоза. Данные субстраты утилизируются клетками дрожжей в результате процесса брожения [2]. Однако, при переходе на неферментируемые субстраты, такие как глицерин, клетки *S. cerevisiae* способны переключать свой метаболизм на процесс дыхания. Помимо дыхания активные митохондрии дрожжей принимают участие в регуляции генерации активных форм кислорода, биосинтезе жирных кислот, кальциевой сигнализации клетки и других клеточных процессах. Выполнение данных функций митохондриями в клетке зависит от функционального состояния данных органелл, главным образом, от уровня мембранного потенциала митохондрий. Более того, функциональное состояние митохондрий имеет ключевое значение и в процессе брожения. В частности, как было показано, ингибиторы IV комплекса дыхательной цепи ингибируют и процесс брожения [1].

Цель работы – исследовать динамику мембранного потенциала митохондрий в клеточной популяции *Saccharomyces cerevisiae* при дыхании и брожении в зависимости от фазы роста клеток.

Материалы и методы. Для получения культур клеток дрожжей *S. cerevisiae* использовали жидкие питательные среды: 2% пептон, 1% экстракт дрожжей с содержанием 2% глицерина (субстрат дыхания) или 2% глюкозы (субстрат брожения). Визуализацию митохондрий и измерение мембранного потенциала проводили методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием катионного липофильного зонда родамина 123. На микрофотографиях интенсивность флуоресценции, соответствующую

уровню мембранного потенциала митохондрий клеток дрожжей *S. cerevisiae*, измеряли с использованием математического аппарата программы Fiji 1.51. Относительный уровень флуоресценции митохондриальной системы клеток дрожжей рассчитывали по формуле:

$$F_m = M_c - M_f,$$

где F_m – уровень флуоресценции митохондриальной системы клетки, отн. ед.;

M_c – среднее значение флуоресценции клетки;

M_f – среднее значение флуоресценции фона.

Результаты и выводы. При осуществлении процесса дыхания (субстрат глицерин) в период лаг-фазы роста клеточной культуры *S. cerevisiae* 66% клеток характеризовались уровнем мембранного потенциала, соответствующего интервалу значений флуоресценции от 0 до 5 отн. ед.; 29% клеток – 6–15 отн. ед.; 5% клеток – 16–30 отн. ед. (Рис. 1). В то же время в период логарифмической фазы наблюдали смещение количества клеток клеточной популяции в область более высоких значений уровня мембранного потенциала (50% клеток – 0–5 отн. ед.; 40% клеток – 6–15 отн. ед.; 10% клеток – 16–30 отн. ед.). На стационарной фазе уровень мембранного потенциала у 87% клеток соответствовал интенсивности флуоресценции 6–15 отн. ед., тогда как 11% клеток характеризовались интенсивностью флуоресценции 0–5 отн. ед., а 2% клеток – 16–30 отн. ед.

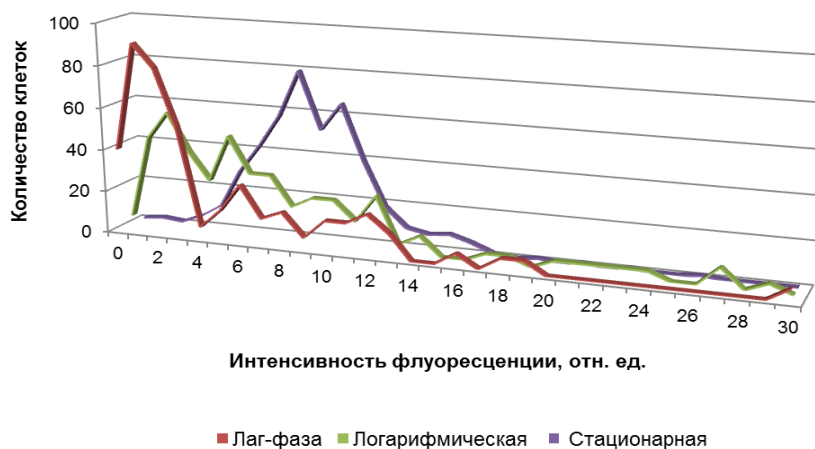


Рисунок 1 – Динамика мембранного потенциала митохондрий клеток при дыхании в клеточной популяции *S. cerevisiae* на разных фазах роста

При осуществлении процесса брожения (субстрат глюкоза) в течение всех фаз роста более чем 98% клеток характеризовались уровнем мембранного потенциала митохондрий, соответствующим интенсивности флуоресценции от 0 до 5 отн. ед. (Рис. 2). При этом в период лаг-фазы большая часть клеток культуры *S. cerevisiae* обладала уровнем мембранного потенциала, соответствующим 1 отн. ед. флуоресценции. Тогда как в период логарифмической и стационарной фазы роста большая часть клеток характеризовалась отсутствием мембранного потенциала митохондрий.

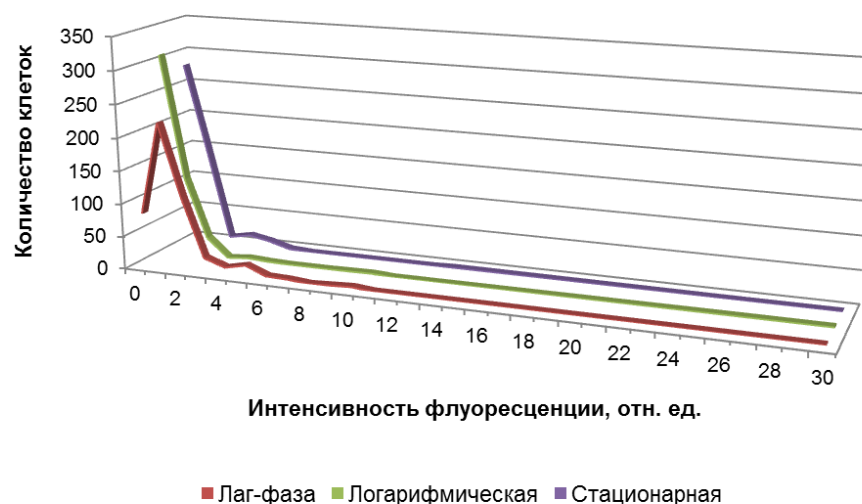


Рисунок 2 – Динамика мембранного потенциала митохондрий клеток при брожении в клеточной популяции *S. cerevisiae* на разных фазах роста

Таким образом, при культивировании клеток *S. cerevisiae* на субстрате дыхания глицерин на всех фазах роста наблюдали наличие мембранного потенциала митохондрий. При этом доля клеток в культуре, обладающая максимальным значением уровня мембранного потенциала, возрастала при переходе от одной фазы роста к другой, что, вероятно, обусловлено интенсификацией процесса дыхания. В то же время при культивировании на субстрате брожения глюкоза подавляющее большинство клеток *S. cerevisiae* характеризовались низким значением мембранного потенциала на лаг-фазе роста и его отсутствием у большинства клеток на логарифмической и стационарной фазах. Сохранение уровня мембранного потенциала на лаг-фазе роста культуры дрожжей при использовании в качестве субстрата глюкозы, вероятно, имеет адаптационное значение, позволяющее переключаться с одного типа энергетического метаболизма на другой при смене субстрата [3].

Список использованных источников

1. Clarkson, S.P., Large, P.J., Boulton, C.A., Bamforth, C.W. Synthesis of superoxide dismutase, catalase and other enzymes and oxygen and superoxide toxicity during changes in oxygen concentration in cultures of brewing yeast. *Yeast*, 7, 2001. P. 91–103.
2. D'amor T., Russel I., Stewart G. G. Sugar utilization by yeast during fermentation. *J. Ind. Microbiology*, 4, 1989. P. 316.
3. Lodolo, E. J., O'Connor-Cox, E. S. C., Axcell, B. C. Evidence of antimycininsensitive respiration in a commercial brewing yeast. *J. Inst. Brew*, 105, 1999. P. 35–43.

ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ В СОСТАВЕ РЫБНОГО БУЛЬОНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ПИГМЕНТА ВИОЛАЦЕИНА ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ *JANTHINOBACTERIUM LIVIDUM*

*Сауткина Наталья Владимировна, ассистент,
Костюшевская Мария Андреевна, студент
Прокулевич Владимир Антонович, д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии
Белорусский государственный университет*

Введение. Внутриклеточный пигмент фиолетового цвета виолацеин, впервые описанный еще в 1882 г., вырабатывается ограниченным числом видов грамотрицательных бактерий. Результаты же многих исследований показали, что виолацеин обладает антибактериальной, противовирусной, антипротозойной и противоопухолевой активностями [1]. В 2015 году из почвы по ул. Курчатова, д. 10, г. Минск выделены психротрофные штаммы бактерий, отнесенные к виду *J. lividum* и обозначенные как *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2, отличающиеся скоростью накопления виолацеина. Известно, что состав питательной среды влияет на способность бактерий синтезировать те или иные продукты вторичного метаболизма, например, пигменты и антибиотики. Продукция пигмента виолацеина бактериями *J. lividum* находится в зависимости от источника углерода и фазы роста культуры [1]. Целью данной работы является изучение влияния дополнительных источников углерода и энергии в рыбном бульоне на характер роста штаммов и накопление ими пигмента виолацеина.

Материалы и методы. Для построения кривых роста ночные культуры штаммов *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2 разводили в 20 раз в 100 мл рыбного бульона или рыбного бульона с добавками (по 1 % (масса добавки/объем питательной среды) сахарозы, декстрозы, глицерина,) и культивировали при температуре 18 °С и 180 об/мин в течение 5 суток, измеряя значения оптических плотностей культур (λ 600 нм) ежедневно. Выделение пигмента виолацеина проводили по методу R.S. Blosser и К.М. Gray и определяли его относительное количество [3].

Результаты исследования. Ранее нами было установлено, что добавление к твердым питательным средам рыбному агару и LB-агару дополнительного источника углерода и энергии (глицерина, декстрозы или сахарозы) в количестве 1 % положительно влияет на накопление штаммами пигмента виолацеина [2]. Отмечено также, что при культивировании бактерий в рыбном бульоне и LB-бульоне фиолетовый пигмент эффективнее синтезируется в рыбном бульоне.

На рисунках 1 и 2 представлены кривые роста штаммов *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2 при выращивании на рыбном бульоне (РБ) с добавлением дополнительных источников углерода и энергии (глицерина, декстрозы или сахарозы).

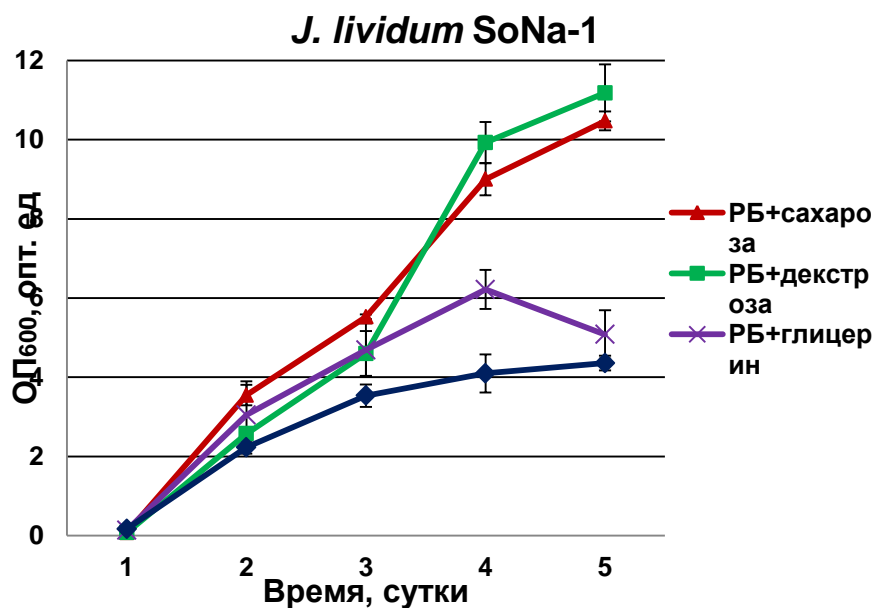


Рисунок 1 – Изменение оптической плотности культуры штамма *J. lividum* SoNa-1 во времени при культивировании в рыбном бульоне с дополнительными источниками углерода и энергии

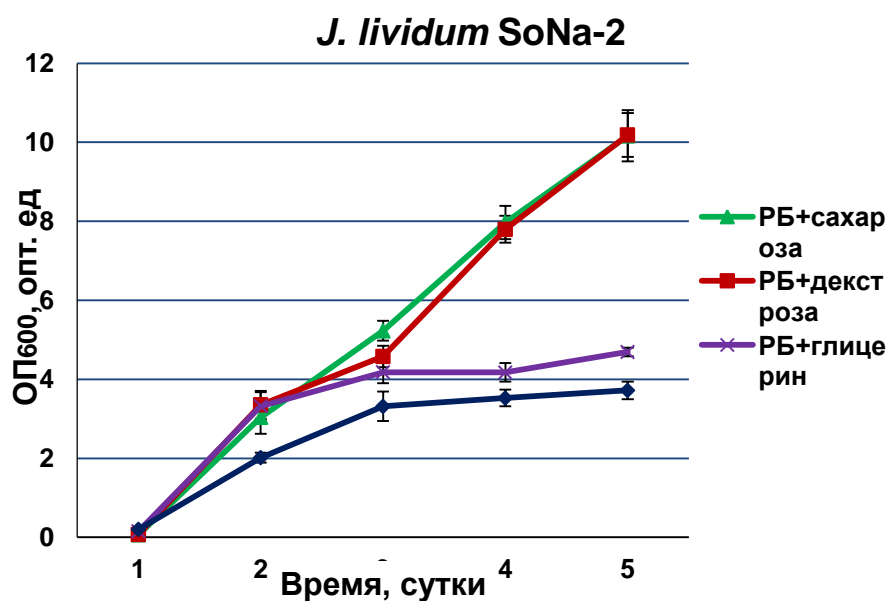


Рисунок 2 – Изменение оптической плотности культуры штамма *J. lividum* SoNa-2 во времени при культивировании в рыбном бульоне с дополнительными источниками углерода и энергии

Выявленные параметры роста штаммов позволяют заключить, что на средах с дополнительными источниками углерода и энергии оптическая плотность обеих культур выше, чем на среде без них, что закономерно. При этом культуры обоих штаммов достигают наибольших значений оптической плотности в присутствии в рыбном бульоне декстрозы и сахарозы, но не глицерина.

Для оценки количества синтезируемого пигмента из клеток исследуемых штаммов, выросших в рыбном бульоне с добавками и без добавок (отрицательный контроль) на 5–е сутки культивирования пигмент виолацеин экстрагировали бутанолом и определяли оптическую плотность раствора при длине волны 585 нм (таблица).

Таблица – Относительное количество виолацеина, рассчитанное как отношение оптической плотности бутанолового экстракта ($ОП_{585}$) к оптической плотности культуры штамма ($ОП_{600}$)

Питательная среда / Штамм	РБ	РБ+глицерин	РБ+сахароза	РБ+декстроза
<i>J. lividum</i> SoNa–1	0,22±0,11	0,35±0,05	0,14±0,004	0,17±0,04
<i>J. lividum</i> SoNa–2	0,2±0,09	0,52±0,14	0,12±0,03	0,1±0,4

Примечание: «±» – указано стандартное отклонение.

Пигмент виолацеин в клетках при культивировании обоих штаммов в рыбном бульоне с глицерином накапливается в большем количестве, как по сравнению с контролем, так и с другими исследованными средами, даже не смотря на значительно меньшее количество клеток. Частично, высокое накопление пигмента в клетках на среде с глицерином объясняется более ранним, по сравнению с культурами, росшими на других дополнительных источниках углерода, входом в стационарную фазу. Однако сравнение с контрольной культурой однозначно свидетельствует в пользу того, что именно присутствие в среде глицерина стимулирует накопление пигмента в клетках исследованных штаммов.

Таким образом, установлено, что наличие в рыбном бульоне дополнительного источника углерода и энергии (сахарозы и глицерина, или сахарозы и декстрозы по 1 % каждого) стимулирует рост бактерий, однако прямая зависимость между оптической плотностью культур штаммов *J. lividum* SoNa–1 и *J. lividum* SoNa–2 и уровнем внутриклеточного накопления виолацеина не выявлена. При этом подтверждены литературные данные о положительном влиянии глицерина на синтез виолацеина [1].

Список использованных источников

1. Violacein and biofilm production in *Janthinobacterium lividum* / F. Pantanella [et al.] // Journal of Applied Microbiology. – 2007. – Vol. 102, No 4. – P. 992–1000.
2. Определение условий культивирования, оптимальных для накопления фиолетового пигмента штаммами бактерий *Janthinobacterium lividum*, выделенными из природных источников / Н.В. Совгир [и др.] // Биология – наука XXI века: сборник тезисов 22–ой Международной Пущинской школы–конференции молодых ученых, Пущино, 23–27 апреля 2018 г. / Пущинский науч. центр РАН, Пущинский гос. ун–т; редкол.: А.И. Мирошников [и др.]. – Пущино, 2018. – С. 312–313.

3. Blosser R.S. Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers / R.S. Blosser, K.M. Gray // Journal of Microbiological Methods – 2000. –Vol. 40, No 1. – P. 40–55.

УДК 577.112.083+615.28

ОПТИМИЗАЦИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬЮЖН–БЕЛКА SUMO–ESC–B(1–20)

*Сауткина Наталья Владимировна¹, ассистент,
Бусленко Анна Владимировна², инженер лаборатории,
Прокулевич Владимир Антонович¹, д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии*

¹Белорусский государственный университет

²РУП "Институт мясо–молочной промышленности"

Введение. Катионные пептиды земноводных обладают высокой антибактериальной активностью в отношении широкого спектра бактерий и поэтому являются перспективными компонентами новых лекарственных средств для борьбы с антибиотикорезистентными штаммами патогенных бактерий [1].

Катионный пептид эскулентин–b(1–20) (Esc–b(1–20)), сохраняет свойства антимикробного пептида эскулентина–1b лягушки (*Rana esculenta* L., 1758), являясь его N–концевым производным [2]. Пептид Esc–b(1–20) ранее получен в клетках штамма *Escherichia coli* BL21–CodonPlus(DE3)–RIPL в составе рекомбинантного фьюжн–белка SUMO–Esc–b(1–20), в котором фьюжн–партнером пептида выступает анионный белок – малый убиквитин–подобный модификатор дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (SUMO) [3]. Присоединение белка SUMO, снабженного гистидиновой меткой, к пептиду Esc–b(1–20) способствует повышению уровня экспрессии всего фьюжн–белка, его растворимости, а также проведению металл–хелатной хроматографии. Целью данной работы является оптимизация процесса хроматографической очистки рекомбинантного фьюжн–белка SUMO–Esc–b(1–20).

Материалы и методы. Клетки штамма–продуцента белка SUMO–Esc–b(1–20) разрушали гомогенизатором высокого давления Panda Plus 2000 (GEA Niro Soavi) и с помощью ультразвукового гомогенизатора Bandelin 3100 (Bandelin Electronic GmbH) согласно инструкциям производителей. В таблице представлены буферы, использованные для разрушения клеток.

Таблица – Буферные растворы для разрушения клеток

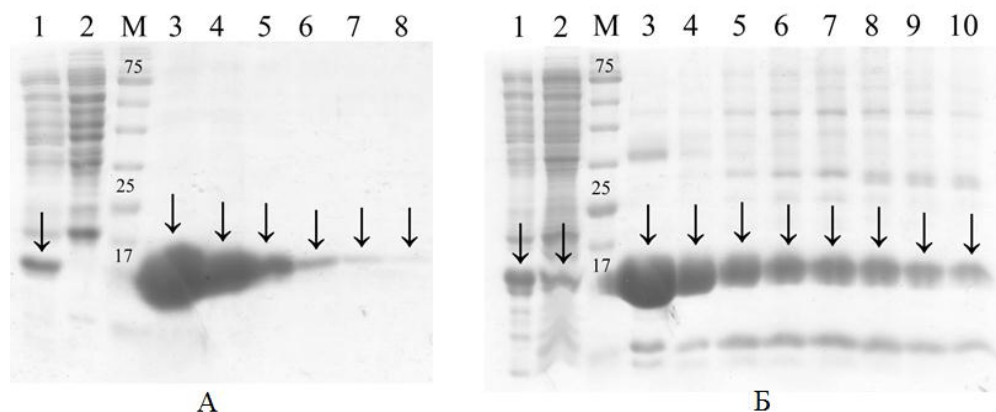
Буфер	Состав буфера	Значение pH буфера
1	50 ммоль/л трис–HCl; 2,5 ммоль/л MgCl ₂	pH 8,5
2	50 ммоль/л трис–HCl; 2,5 ммоль/л MgCl ₂ ; 0,5 моль NaCl	pH 8,5
3	50 ммоль/л NaH ₂ PO ₄ ; 2,5 ммоль/л MgCl ₂	pH 5,6
4	50 ммоль/л NaH ₂ PO ₄ ; 2,5 ммоль/л MgCl ₂ ; 0,5 моль/л NaCl	pH 5,6

Хроматографическую очистку фьюжн–белка проводили на сорбенте HisPur™ Ni–NTA Superflow Agarose (Thermo Scientific) согласно рекомендациям производителя сорбента. Для определения заряда и изоэлектрической точки фьюжн–белка использовали приложение EditSeq пакета программ Lasergene (DNASTAR). Цифровые изображения окрашенных полиакриламидных гелей (ПААГ) анализировали при помощи программы ImageJ (National Institutes of Health).

Результаты исследования. Поскольку фьюжн–белок SUMO–Esc–b(1–20) при 37 °C в клетках *E. coli* накапливается в равной степени как в растворимой, так и нерастворимой форме [3], после наработки белка бактериальные клетки разрушали френч–прессом в стандартном буфере для разрушения клеток (50 ммоль/л трис–HCl; 10 ммоль/л MgCl₂; 5 ммоль/л CaCl₂; 0,5 моль/л NaCl; pH 8,0) и проводили металл–хелатную хроматографию супернатанта клеточного гомогената.

Во время проведения хроматографической очистки выяснилось, что клеточный белок выпадает в осадок на колонке, а также то, что в профильтрованном супернатанте клеточного гомогената также образуется осадок клеточных белков, по–видимому, вследствие непригодности стандартного буфера для разрушения клеток из–за его состава, в частности большой концентрации магния хлорида и наличия кальция хлорида. Поэтому на следующем этапе работы подбирали подходящий буфер для разрушения клеток, в котором белок не будет выпадать в осадок и очистится в полном объеме. Для этого 1 г клеток бактерий разрушали с помощью ультразвука в 10 мл буферов, отличающихся по составу и pH (буферы 1, 2, 3, 4 и уравнивающий буфер для металл–хелатной хроматографии, который использовали при первой очистке). Профильтрованные супернатанты гомогенатов оставляли на сутки при температуре +4 °C, затем визуально анализировали растворы. В результате установили, что наименьшее количество осадка образуется в гомогенатах на основе буферов с pH, отличным на 1,5 значения в большую или меньшую сторону от изоэлектрической точки фьюжн–белка SUMO–Esc–b(1–20) равной 7,1, а именно буферов 2 (pH 8,5) и 4 (pH 5,6). Эти буферы включают в свой состав магния хлорид и натрия хлорид, но отличаются соединением, обеспечивающим буферность: в буфере 2 это трис–HCl, а в буфере 4 – натрия дигидрофосфат.

Поэтому далее клетки разрушали в буферах 2 и 4 френч–прессом, а осветлённые центрифугированием гомогенаты подвергали афинной металл–хелатной хроматографии (рисунок).



А – очистка белка после разрушения клеток в буфере 2; Б – очистка белка после разрушения клеток в буфере 4; 1 – профильтрованный супернатант клеточного гомогената, содержащий белок SUMO–Esc–b(1–20); 2 – фракция белков, не связавшихся с сорбентом;

3–10 – фракции элюции белка SUMO–Esc–b(1–20); М – маркер молекулярного веса Protein Marker VI (10–245) prestained (PanReac AppliChem). Стрелками указан очищенный фьюжн–белок, цифры на маркере молекулярного веса обозначают массу в кДа.

Рисунок – Электрофореграмма результатов хроматографической очистки белка SUMO–Esc–b(1–20) после разрушения клеток–продуцентов в буферах 2 и 4

При нанесении образцов в буфере 4 наблюдалось лучшее связывание целевого продукта с сорбентом: содержание SUMO–Esc–b(1–20) в проскоке всего 0,5 %, по сравнению с 10 % для буфера 2 (рисунок 1А, 1Б, дорожки 2); и более острый пик элюции: более 95 % белка элюировалось менее чем тремя объёмами колонки (рисунок 1Б, дорожки 3–8).

Таким образом, для разрушения клеток–продуцентов с последующей хроматографической очисткой фьюжн–белка SUMO–Esc–b(1–20) подходят буферы 2 (50 ммоль/л трис–HCl; 2,5 ммоль/л MgCl₂; 0,5 моль NaCl; pH 8,5) и 4 (50 ммоль/л NaH₂PO₄; 2,5 ммоль/л MgCl₂; 0,5 моль/л NaCl; pH 5,6), поскольку в них белки супернатанта клеточного гомогената не выпадают в осадок, однако после разрушения клеток в буфере 4 хроматографическая очистка белка проходит эффективнее.

Список использованных источников

1. Antimicrobial peptides: linking partition, activity and high membrane–bound concentrations / M.N. Melo [et al.] // Nature reviews Microbiology. – 2009. – Vol. 7, No 3. – P. 245–250.
2. Esculentin–1b(1–18) – a membrane–active antimicrobial peptide that synergizes with antibiotics and modifies the expression level of a limited number of proteins in *Escherichia coli* / L. Marcellinii [et al.] // The FEBS Journal. – 2009. – Vol. 276, No 19. – P. 5647–5664.

3. Получение рекомбинантного фьюжн-белка SUMO-Esc-b(1-20), включающего N-концевой фрагмент антимикробного пептида эскулентина-1b / А.В. Бусленко [и др.] // Биология – наука XXI века: сборник тезисов 22-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых, Пущино, 23–27 апреля 2018 г. / Пущинский науч. центр РАН, Пущинский гос. ун-т; редкол.: А.И. Мирошников [и др.]. – Пущино, 2018. – С. 67–68.

БИОТЕХНОЛОГИИ В ГЕНЕТИКЕ И МЕДИЦИНЕ

УДК 636.222

МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА АБЕРДИН–АНГУССКОЙ ПОРОДЫ

Глинская Наталья Анатольевна, к.с–х.н., доцент

Сильченко Елена Стефановна, магистрант

Гречная Елена Дмитриевна, студент

Полесский государственный университет

Увеличение производства продуктов животноводства представляет собой наиболее важную и сложную проблему агропромышленного комплекса. Одним из острых вопросов в аграрном секторе экономики страны является увеличение производства мяса и обеспечение этим продуктом питания населения. В его решении основным направлением следует считать производство говядины.

Говядина рассматривается специалистами в области питания как важнейший источник полноценного животного белка для производства мясных продуктов. Важным резервом производства говядины следует считать интенсификацию скотоводства и повышение потенциала продуктивности разводимых пород в условиях полноценного кормления и содержания [1,3].

Технология выращивания скота, специфичность и направленное применение генов оказывают существенное влияние на развитие и соотношение различных тканей (мышечной, жировой, костной) в организме и, следовательно, на выход и качество мяса.

Выбор породы в мясном скотоводстве – один из главнейших технологических элементов производства высококачественной говядины.

Одной из лучших на сегодняшний день является абердин–ангусская порода. Порода относится к одной из трех классических английских мясных пород в мире и имеет ярко выраженный мясной тип.

Мясной скот абердин–ангусской породы дает высокий убойный выход. Он обладает повышенной способностью к накоплению в теле резервных питательных веществ, особенно жира, причем 75–80% жира откладывается в туше в виде полива, между мышцами и внутри мышц, создавая «мраморность» мяса.

Степень «мраморности» – показатель качества мяса крупного рогатого скота, относящейся к видимому жиру между мышечными волокнами в области мышечного глазка. Большое количество межмышечного и внутримышечного жира делает мясо питательнее, калорийнее и повышает вкусовые качества. У мясного скота абердин–ангусской породы лучшее соотношение между съедобными и несъедобными частями в туше, повышен вы-

ход отрубов, содержащих наиболее ценные сорта, мясо характеризуется богатым белковым комплексом.

Для создания стада животных имеющих высокую мясную продуктивность необходимо использование современных методов генетики и молекулярной биологии.

Современные молекулярно–генетические методы позволяют определить наличие ценных вариантов генов связанных с признаками продуктивности. Выявление предпочтительных вариантов таких генов (генов–кандидатов) позволит дополнительно к традиционным методам отбора животных, проводить маркер–зависимую селекцию [2,4].

В качестве маркера мясной продуктивности нами был выбран ген миостатин (MSTN), оказывающий влияние на качественные показатели мяса крупного рогатого скота абердин–ангусской породы. Белок, кодируемый этим геном, ингибирует развитие мышечных тканей у крупного рогатого скота.

Дальнейшие наши исследования предусматривают проведение научно–производственных опытов, изучение влияние генотипов гена миостатина (MSTN) на показатели мясной продуктивности животных, в частности, на качество мяса крупного рогатого скота абердин–ангусской породы.

Список использованных источников

1. Амерханов, Х.А. Интенсификация выращивания и откорма молодняка – важнейший резерв увеличения производства говядины [Текст] / Х.А. Амерханов // Молочное и мясное скотоводство. – 1999. – №2. – С. 2–4.
2. Долматова И.Ю. ДНК – технологии в животноводстве / И.Ю. Долматова, И.Т. Гареева, А.Г. Ильясов // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – №2. – С. 42–43.
3. Стрекозов, Г.П. Пути интенсификации производства говядины / Н.И. Стрекозов, Г.П. Легошин // Зоотехния. – 2003. – №9. – С. 2–6.
4. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке. – М. : РАСХН, 2008, – 508 с.

UDC 577.112: 57.083.3

PLATELETS ARE ABLE TO CONVERSION OF ENDOGENOUS PLASMINOGEN TO FRAGMENTS AND TO SORT THEM

*Kapustianenko L.G., Iusova O.I.,
Zhernossekov D.D., Grinenko T.V.*

Palladin Institute of Biochemistry of the NASU, Kiev, Ukraine

Platelets play an important role in the process of tumor angiogenesis. The onset of tumor angiogenesis involves a net change in balance between angiogenesis stimulators and inhibitors in favor of the former. Platelets are a rich source of proangiogenic factors. They also store and release angiogenesis inhibitors. Platelets express surface growth factor receptors, which may regulate

the process of angiogenesis. Activated platelets serve as procoagulant surfaces amplifying the coagulation reactions [1].

The elucidation of regulation of the platelet functioning by plasminogen/plasmin system is one of the priority areas of our research. Plasminogen/plasmin molecule proteolysis in the organism leads to the formation of kringle-containing fragments (K 1–3, K 1–4, K 5 etc.) – angiostatins, that exhibit an anti-angiogenic effect. It has been shown that angiostatins are involved in signaling mechanisms that underlie many normal and pathophysiological processes in the organism, such as cell migration, angiogenesis, metastasis, tissue remodeling, wound healing, axon germination, and others. Thus, the interaction of angiostatins with targets on the plasma membrane of endothelial cell (ATP synthase, integrin $\alpha V\beta 3$, c-met receptor of HGF etc.) leads to suppression of proliferative activity of cells and their ability to move and migrate [2]. For some time it was believed that angiostatine is produced in the organism by some types of tumors, and indeed, an increase of their generation is observed in tumor growth. However, it has recently been established that angiostatin is found in the organism and under normal conditions, thus, being involved in physiological processes. To date, only a few types of cells that are capable of generating angiostatin in the norm are identified, including monocytes and macrophages.

To determine the role of platelets in angiogenesis, we are investigating their ability to generate plasminogen fragments – angiostatins, internalize and secrete of formed angiostatins by native and activated platelets.

Materials and methods. Plasminogen was obtained from Cohn fraction III_{2,3} of a human blood plasma ("Kiev municipal blood center", Ukraine) on the Lys–Sepharose in the presence of protease inhibitor kontrikal ("AWD", Germany) [3]. Mini–Pg was obtained by the limited hydrolysis of Pg with pancreatic elastase (3.4.21.36) ("Sigma", USA) [3]. Degradation of mini–Pg was performed with pepsin (3.4.23.1), the proteolytic hydrolase from pig gastric mucosa, ("Sigma", USA) [3]. All of the used chemical reagents were qualified not less than "chemical pure".

Methods used were: proteolytic fragmentation methods, affinity chromatography, ultrafiltration, gel filtration, ion–exchange chromatography, ELISA, Western blot analysis, electrophoresis in polyacrylamide gel, immunization, etc.

Statistical processing of experimental data was performed using Prism 5 software (GraphPad Software Inc., USA). Only the experimental results with the error not exceeding 5 % ($P < 0.05$) are included in the work. Blot results presented in the figures are typical for repeated experiments (at least three repetitions).

Results and discussion. To have an instrument to our assay we developed a method for producing a functionally active fragment of human plasminogen kringle 5 using AH–Sepharose. Proposed method includes the following stages: hydrolysis of plasminogen with elastase, separating the mini–plasminogen from kringle fragments 1–3 and 4 on the Lys–Sepharose, mini–plasminogen hydrolysis with pepsin, affinity chromatography on AH–Sepharose, analytical

electrophoresis in polyacrylamide gel [3]. It was obtained electrophoretically pure fragment of human plasminogen kringle 5, while the ability of kringle 5 to bind specifically with the AH–Sepharose demonstrates its functional activity with respect to the ligands of high and low molecular weight. Weight yield was 4.1%, which corresponds to 27.3% of the theoretically possible.

Then our aim was to obtain the polyclonal antibodies against to fragments of human plasminogen kringle 5 and kringle 1–3, received in the obtaining process of kringle 5. The following approaches were used: immunization of rabbits against the kringle 5 and kringle 1–3, receiving of high titer immune serum, synthesis of affinity sorbent based on the kringle 5 and kringle 1–3 for selection of monospecific antibodies, chromatography on synthesized K5–Sepharose and K1–3–Sepharose, ELISA, analytical electrophoresis in polyacrylamide gel, immunoblotting assay [4, 5].

For the obtained affinity sorbents, the ligand binding to BrCN–Sepharose was no less than 90 %. The received column had capacity per ligand no less than 75 nmol per 1g of BrCN–Sepharose, and capacity for binding antibodies of 1.0 ÷ 1.5 nmol per 1g of BrCN–Sepharose. The content of the obtained immunoglobulins in preparations evaluated by electrophoresis was no less than 95 %, the output of polyclonal antibodies was no less than 1 mg per 1 ml of immune serum.

Further immunochemical properties of obtained antibodies were studied by ELISA and immunoblotting assay. It has been found that polyclonal antibodies against to kringle 5 and kringle 1–3 are monospecific and have a high affinity to their epitopes (the dissociation constants of the value order 10^{-10} M). So, such antibodies were found to be applicable in our research.

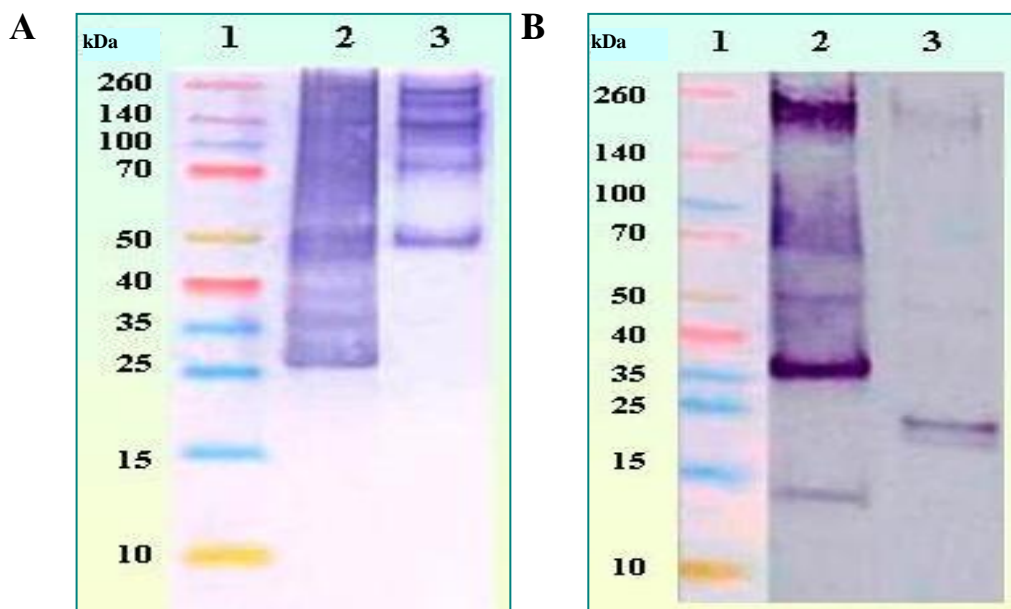


Figure 1 – Proteins detected by the means of polABs specific to K 1–3 (A) or K 5 (B) on the membranes (2) and in the lysates (3) of the platelets; 1 – molecular weight markers. Platelets were preincubated with K 1–3 (A) or K 5 (B).

We obtained preliminary data on the interaction of isolated K 1–3 and K 5 plasminogen fragments (angiostatins) with the platelet surface. Detection of angiostatins was carried out by western blotting assay using polyclonal antibodies (polABs) monospecific to K 1–3 and K 5, which have been obtained by us for this purpose. Results concerning fragments of plasminogen found on the membranes and in the lysates of the platelets by the means of polABs specific to K 1–3 (A) or K 5 (B). are presented in Figure 1. After previous incubation of platelets with K 1–3 and K 5, the fragments were detected in isolated plasma membranes and absent in cell lysates. The antibodies to K 1–3 revealed plasminogen and 51 kDa angiostatin–like fragment on membranes and in lysates, whereas antibodies to K 5 revealed miniplasminogen on membranes, and a microplasminogen in the inner medium of the cells, indicating the ability of platelets to conversion of endogenous plasminogen and to sorting plasminogen fragments.

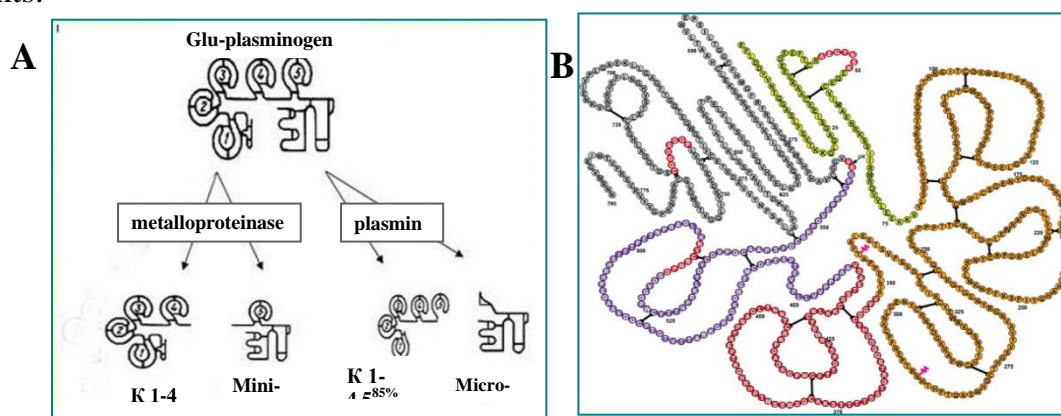


Figure 2 – Scheme of possible proteolytic cleavage of plasminogen molecules (A). Scheme of plasminogen molecules (B).

Conclusions. There are binding sites for plasminogen kringles 1–3 and 5 on the surface of platelets. K 1–3 and K 5 are bound to the surface membranes but do not pass inside the cell. Plasminogen is detected in the inner medium of the platelets and it may undergo proteolytic fragmentation. This data was obtained by the means of polABs specific to K 1–3 or K 5.

Literature

1. Miles L.A., Plow E.F. Binding and activation of plasminogen on the platelet surface // *J.Biol.Chem.* – 1985. – 260, N 7. – P. 4303–4311.
2. Tarui T., Miles L.A., Takada Y. Specific interaction of angiostatin with integrin $\alpha V\beta 3$ in endothelial cells // *J.Biol.Chem.* – 2001. – 276, N 43. – P. 39562–8.
3. Kapustianenko L.G., Iatsenko T.A., Yusova E.I., Grinenko T.V. Isolation and purification of a kringle 5 from human plasminogen using AH–Sepharose // *Biotechnologia Acta.* – 2014. – 7, N 4. – P. 35–42.
4. Tykhomyrov A.A., Yusova E.I., Diordieva S.I., Corsa V.V., Grinenko T.V. Isolation and characterization of antibodies against human plasminogen fragment K 1–3 // *Biotechnologia acta.* – 2013. – 6, N 1 – P. 86–96 (In Ukrainian).
5. Kapustianenko L.G. Polyclonal antibodies against human plasminogen kringle 5 // *Biotechnologia Acta.* – 2017. – 10, N 3. – P. 41–49.

**АНАЛИЗ ФИЗИКО–ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ 2’–
ГИДРОКСИФЛАВАНОНА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО
НА ОСНОВЕ МОДИФИКАЦИИ ШИФФА**

Королевич Виолетта Михайловна¹, аспирант

Блажиньска Паулина², аспирант

Сыкула Анна², к.х.н.

Лодыга–Хрустинска Ельжбета², д. техн. н., профессор

¹Полесский государственный университет

²Лодзинский технический университет

Введение. К Шиффовым основаниям относятся соединения, характеризующиеся наличием в своей структуре функциональной группы имина ($-N=CH-$). Основания Шиффа имеют большое значение в медицине и фармацевтике. Данные соединения являются биологически активными веществами с противовоспалительной, анальгетической, противомикробной, противотуберкулезной, противоопухолевой, а также антиоксидантной активностями. По некоторым литературным данным, атом азота основания Шиффа может оказывать влияние на клеточные процессы.

В качестве субстрата для модификации по типу основания Шиффа использовали 2’–гидроксифлаванон, который обладает многообразной биологической активностью. В частности, подавляет развитие рака молочной железы в результате ингибирования пролиферации и васкуляризации опухоли, индуцирует апоптоз клеток рака толстой кишки, способствует нормальной дифференцировке клеток в карциноме почек. Помимо антиоксидантной активности одним из возможных механизмов, объясняющих противоопухолевые и антибактериальные свойства 2’–гидроксифлаванона, является ранее продемонстрированная способность данного соединения к взаимодействию с ДНК, посредством чего может осуществляться регуляция экспрессии генов опухолевых и бактериальных клеток [1].

В связи с возможностью дальнейшего использования Шиффовых модификаций флавоноидов в качестве биологически активных соединений и исследования их биологической активности ключевое значение имеет стабильность их химической структуры. Целью настоящей работы явилось исследование стабильности молекулярной структуры Шиффова основания 2’–гидроксифлаванона.

Материалы и методы: Для синтеза основания Шиффа 2’–гидроксифлаванона в качестве субстратов использовали тиокарбогидразид и 2’–гидроксифлаванон (Sigma Aldrich, США) согласно методу, предложенному Lodyga–Chruscinska E. и др. [2]. Для изучения стабильности во времени 2’–гидроксифлаванон и его производное на основе модификации Шиффа растворяли в диметилсульфооксиде (ДМСО) до концентрации $2,5 \times 10^{-5}$ М. Спектр поглощения растворов исследуемых веществ определяли спектрофотометрически с интервалом 1 час на протяжении 4 часов.

Результаты и выводы: Химическое уравнение реакции синтеза производного 2'-гидроксифлаванона на основе модификации Шиффа (2'HFTCH) представлено на рисунке 1. В состав молекулы вновь синтезированного соединения входят 2 молекулы 2'-гидроксифлаванона, соединенные между собой тиокарбогидразильной группой.

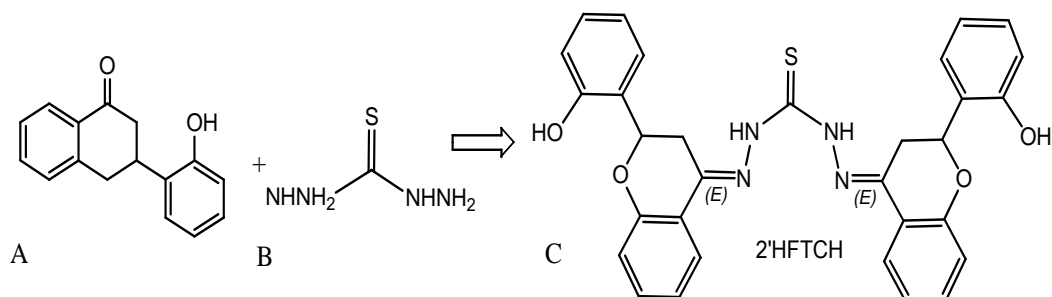


Рисунок 1 – Реакция синтеза производного 2'-гидроксифлаванона на основе модификации Шиффа: А – 2'-гидроксифлаванон; В – тиокарбогидразид; С – 2'HFTCH.

Основываясь на том, что фенольный каркас молекул флавоноидов содержат 15 атомов углерода, образующих два ароматических кольца (А и В), которые соединены через три углеродных атома, исследуемое основание Шиффа находится в системе В (рис 2) [3].

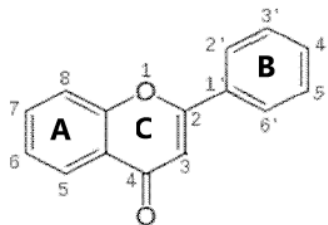


Рисунок 2 – Химическая структура флаванона

Исходя из этого в спектре 2'-гидроксифлаванона максимальный пик приходится на длину волны $\lambda_{\text{max}} = 323$ нм. В случае с производным на основе модификации Шиффа максимальный пик приходится на длину волны $\lambda_{\text{max}} = 357$ нм. (Рис. 3).

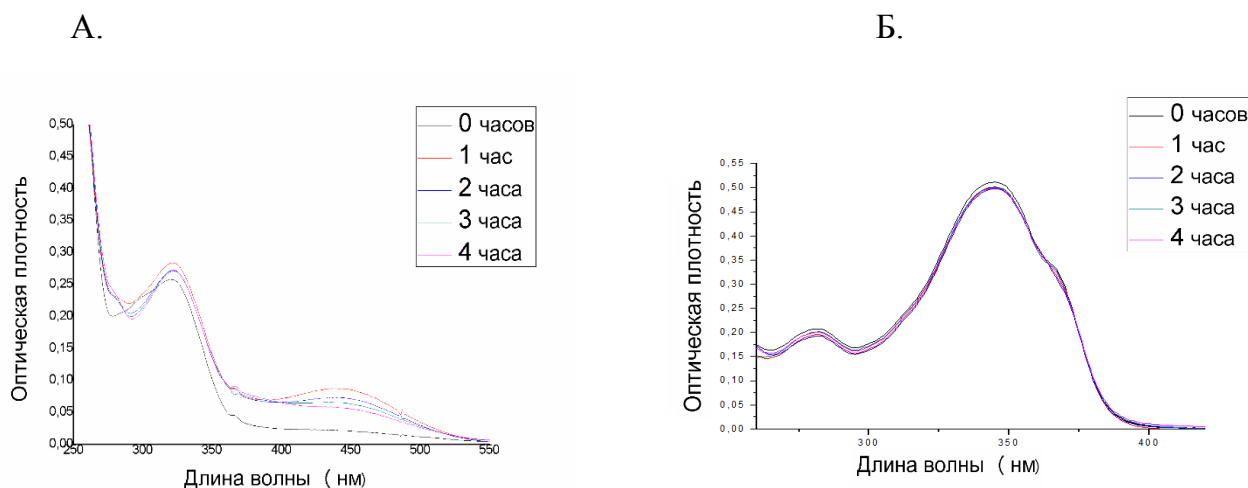


Рисунок 3 – Стабильность 2'-гидроксифлаванона (А) и производного 2'-гидроксифлаванона на основе модификации Шиффа (Б)

При исследовании динамики спектра поглощения 2'-гидроксифлаванона и его производного на основе модификации Шиффа (2'-НФТСН) наблюдали незначительные изменения оптической плотности на характерных длинах волн 2'-гидроксифлаванона (от 0,2566 до 0,27096) и его производного (от 0,50828 до 0,49608) на протяжении 4 часов (рис. 2 А, Б). Полученные данные демонстрируют высокую стабильность растворов Шиффовых оснований 2'-гидроксифлаванона при использовании в качестве растворителя ДМСО, несмотря на значительное усложнение молекулярной структуры. Высокая стабильность химической структуры Шиффова основания 2'-гидроксифлаванона обуславливает возможность длительного хранения данного соединения без существенной потери его биологической активности.

Список использованных источников

1. Khan, M. K. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols /, Z. E Huma, O. Dangles // Journal of Food Composition and Analysis. – Amsterdam, 2014. – V. 33. – P. 85–104.
2. Dhar, D. N. Schiff bases and their applications/ D. N. Dhar, C. L. Taploo//Journal of Scientific and Industrial Research, 1982. – Vol. 41, 501–506 p.
3. Lodyga-Chruscinska, E. Chelating ability and biological activity of hesperetin Schiff base/E. Lodyga-Chruscinska, M. Symonowicz, A. Sykula, E. Garribba//J. of Inorganic Biochemistry, 2018. –Vol. 143, 34–37 p.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ ХИНОН–СОДЕРЖАЩИХ КОМПЛЕКСОВ УНТ/ДНК

*Крылова Н.Г., Коваленко Е.А., Жолнеревич И.И.¹,
Ильич Т.В.², Корень С.В.³*

¹*Гродненский государственный университет им. Я. Купалы*

²*Белорусский государственный университет*

³*РНПЦ эпидемиологии и микробиологии*

Адресная доставка препаратов является перспективным методом повышения эффективности терапии опухолей. Обладающие уникальными химическими и физическими свойствами, углеродные нанотрубки (УНТ) в настоящее время рассматриваются как перспективная платформа для создания средств высокоэффективной адресной доставки противоопухолевых препаратов [1–2]. С целью разработки биосовместимой УНТ–основанной системы доставки хинонов в работе выполнена оценка влияния нагруженных хинонами УНТ/ДНК комплексов в составе митохондриально–направленных липосом на респираторную активность, продукцию активных форм кислорода и трансмембранный потенциал митохондрий.

Липосомы формировались посредством ультразвуковой обработки пленки, состоящей из смеси стеариновой кислоты, декорированного катионом трифенилфосфония (TPP⁺) 1,2–диолеоила–*sn*–глицеро–3–фосфоэтаноламина и УНТ/ДНК комплексов.

Установлено, что наличие TPP⁺–группы обеспечивает накопление УНТ/ДНК комплексов в клетках (см. рис. 1а и рис. 1б). При культивировании клеток глиомы крысы линии С6 в течение 6 ч с комплексами МУНТ/ДНК в концентрации 100 мкг/мл наблюдается выраженная цитотоксичность: почти половина клеток открепляется от подложки, регистрируется большое число апоптотических телец, прикрепленные к подложке клетки приобретают округлую форму, резко уменьшается количество филоподий. УНТ образуют крупные скопления внутри клеток. Локализация УНТ – преимущественно в областях скопления митохондрий вблизи клеточного ядра. С использованием флуоресцентного зонда JC–1 изучено влияние УНТ/ДНК в различных концентрациях на митохондриальный потенциал клеток глиомы, результаты измерений представлены на рис. 1в. Видно, что снижение митохондриального потенциала регистрируется при концентрациях комплексов 65 мкг/мл и выше. Для регистрации продукции активных форм кислорода (АФК) изолированными митохондриями печени крыс использовался флуоресцентный зонд дихлородигидрофлуоресцеин (DCF), интегральная интенсивность флуоресценции DCF пропорциональна выходу АФК. Как видно из рис. 1г, комплексы УНТ/ДНК индуцируют повышение образования АФК уже в концентрации 4 мкг/мл, что может приводить к нарушению функционирования митохондрий даже при низких концентрациях УНТ. Так, установлено, что воздействие 13 мкг/мл комплексов

УНТ/ДНК на изолированные митохондрии приводит к коэффициента акцепторного контроля (АК) и росту коэффициента дыхательного контроля (ДК), однако значение коэффициента фосфорилирования (АДФ/О) остается на уровне контроля; скорость набухания митохондрий снижается (см. рис. 2).

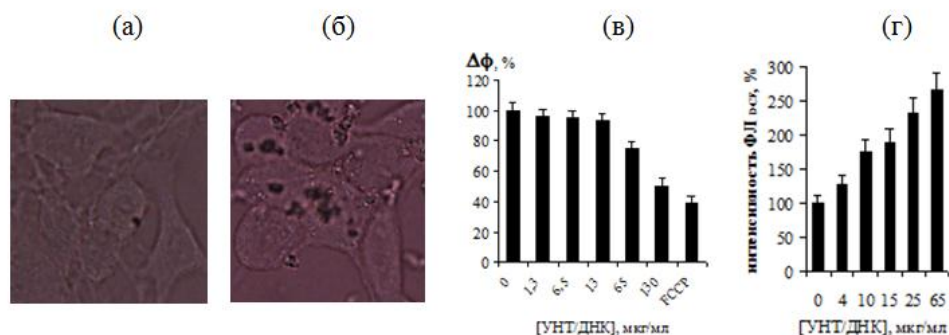


Рисунок 1 – (а–б) Изображения неокрашенных клеток глиомы в культуре после 6–и часового воздействия 100 мкг/мл комплексов МУНТ/ДНК, включенных в липосомы из стеариновой кислоты (а) и из смеси стеариновой кислоты и фосфолипида (б). (в) Митохондриальный потенциал клеток глиомы при действии комплексов УНТ/ДНК в различных концентрациях в течение 15 мин. (г) Интегральная интенсивность флуоресценции DCF за 40 мин в суспензии изолированных митохондрий печени крыс при действии комплексов УНТ/ДНК в различных концентрациях. В (в) и (г) результаты нормировались на значения в контрольных образцах без комплексов, принимаемых за 100 %.

Для оценки влияния нагруженных хинонами комплексов УНТ/ДНК в составе митохондриально–направленных липосомальных форм на функциональную активность митохондрий нами изучены респираторная активность, митохондриальный потенциал, продукция активных форм кислорода и скорость набухания изолированных митохондрий печени крыс, энергезированных сукцинатом. Анализ результатов показал, что в составе комплексов УНТ/ДНК менадион и доксорубицин значительно повышают скорость набухания митохондрий, продукцию АФК, снижают коэффициенты ДК и АДФ/О. Для менадиона также регистрируется снижение митохондриального потенциала. Эти данные свидетельствуют о нарушении функционирования электрон–транспортной цепи, дестабилизации кальциевого гомеостаза митохондрий. Скорость набухания митохондрий при действии свободного тимохинона была выше, чем для тимохинона в составе комплексов. Присутствие тимохинона в УНТ/ДНК комплексах не оказывало влияния на респираторную активность изолированных митохондрий (при сравнении с УНТ/ДНК комплексами без хинона). Следует отметить, что полученные эффекты могут быть обусловлены как эффективной доставкой и накоплением хинонов в митохондриях, так и непосредственным взаимодействием комплексов УНТ/ДНК–хинон с электрон–транспортной цепью и/или мембранными структурами митохондрий.

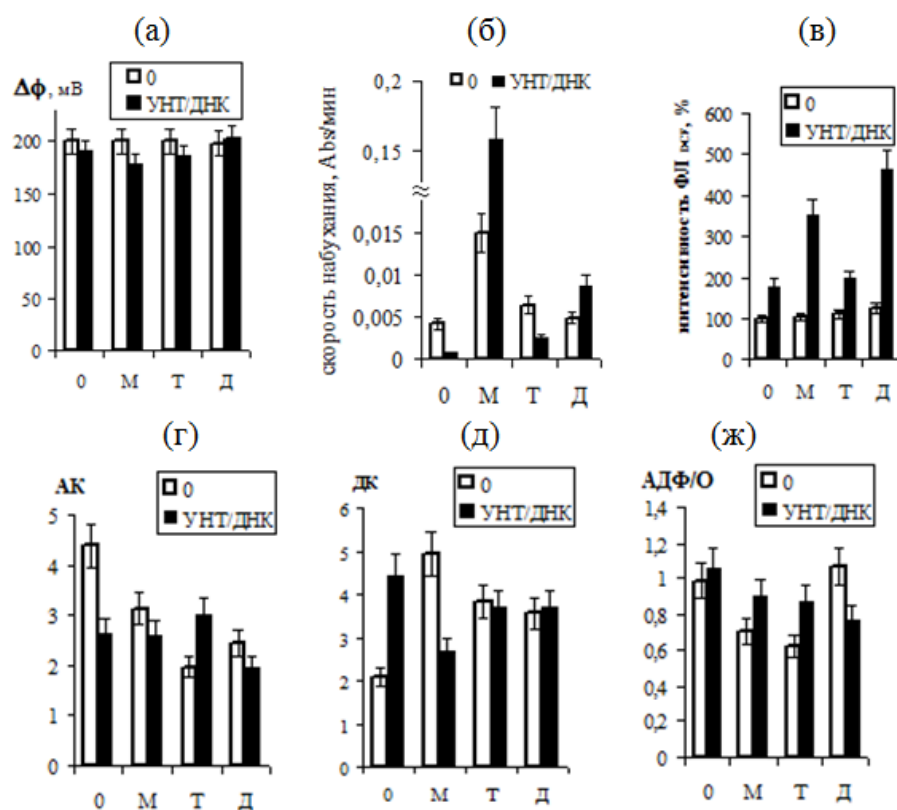


Рисунок 2 – Митохондриальный потенциал (а), скорость набухания (б), продукция АФК (в), коэффициенты респираторной активности (г–ж) изолированных митохондрий печени крыс при действии 13 мкг/мл комплексов УНТ/ДНК, нагруженных менадионем (М, 10 мкмоль/л), тимохиноном (Т, 10 мкмоль/л) и доксорубицином (Д, 1 мкмоль/л). 0 – контрольные образцы без комплексов.

Таким образом, комплексы УНТ/ДНК в составе липосомальных форм, декорированных катионом трифенилфосфониума, эффективно накапливаются в клетках и могут служить платформой адресной доставки хинонов в митохондрии. В то же время, УНТ/ДНК индуцируют образование АФК в митохондриях, и в высоких концентрациях приводят к дисфункции митохондрий, что обуславливает их цитотоксичность.

Список использованных источников

1. A new era of cancer treatment: carbon nanotubes as drug delivery tools / S.Y. Madani [et al.] // *Int. J. Nanomedicine*. – 2011. – Vol. 6. – P. 2963–2979.
2. How do carbon nanotubes serve as carriers for gemcitabine transport in a drug delivery system? / U. Arsaung [et al.] // *J. Mol. Graph. Model*. – 2011. –Vol. 29. –P. 591–596.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕРТОНИНОВОЙ НЕЙРОМЕДИАЦИИ У ПОДРОСТКОВ С ДЕВИАНТНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ

*Левковец Любовь Ивановна, младший научный сотрудник,
Лебедь Татьяна Леонидовна, заведующий НИЛ
Научно–исследовательская лаборатория лонгитудинальных исследований
Полесский государственный университет*

В современном обществе молодёжная девиация, проявляющаяся в различных формах (табакокурение, прием психоактивных веществ (ПАВ), пагубное поведение), приобрела черты массового явления, отличающегося устойчивыми тенденциями роста, широкого распространения на подростковую и даже детскую части молодёжи, возрастания деструктивных социальных последствий.

По уровню и масштабу проявления отдельных своих форм подростковая и молодёжная девиация приобрела характер эпидемии. В Республике Беларусь на протяжении последних лет регистрируется значительное число несовершеннолетних, имеющих опыт употребления психоактивных веществ. По статистике, на начало 2017 года под наблюдением врачей психиатрического и наркологического профиля в Беларуси состояло 15 тысяч несовершеннолетних [1].

Несовершеннолетние обладают особыми психофизическими и социальными признаками. Ребёнок плохо защищён от внутренних и внешних неблагоприятных воздействий, что может приводить к быстрому нарастанию конфликта с окружающими, нарушениям требований норм и правил.

Формы социальной девиации негативной направленности взаимосвязаны и взаимообусловлены. Прямым следствием пристрастия подростков к спиртному и наркотикам является подростковая преступность. Согласно статистике МВД, в 2017 году дети и подростки совершили (или при их участии) более 2 тысяч преступлений. Нередко в момент преступлений подростки были в состоянии алкогольного опьянения или под воздействием ПАВ. Подростковая девиация распространяется гораздо быстрее, чем принимаются меры по борьбе с этим явлением. Поэтому немаловажное значение в современном обществе приобретает профилактика девиантного поведения, которая подразумевает комплекс мер, предупреждающих появления отклоняющегося от социальных норм поведения. Одним из эффективных методов первичной профилактики является молекулярно–генетическая диагностика предрасположенности к возникновению аддиктивного поведения.

Одним из направлений исследований в данной области является изучение полиморфизмов рецепторов важнейших нейромедиаторов и ферментов их биотрансформации, поскольку установлено, что в основе формирования любой формы аддиктивного поведения, включая наркотическую зависимость, лежат изменения функционирования нейромедиаторных систем мозга, задействованных в механизмах положительного подкрепления.

Серотониновая система участвует в процессах регуляции поведения, приемов пищи, сна и других циркадианных ритмах, она влияет на психический процесс восприятия и отражается на настроении, изменяет личностные черты, вызывая тревожность, агрессивность и импульсивность. Дисфункция серотониновой системы приводит к агрессивному и антисоциальному поведению. Экспрессия гена рецептора серотонина 5HT2A связана с регуляцией в головном мозге поведения, настроения и утомляемости. Ген переносчика серотонина (5-НТТ) кодирует белок, осуществляющий обратный захват нейромедиатора из синаптической щели. Короткий аллель в промоторной области гена 5-НТТ ассоциируется с повышенным риском развития антисоциального поведения. Триптофангидроксилаза (ТРН) – ключевой фермент биосинтеза серотонина. ТРН2 преимущественно экспрессируется в нейронах головного мозга [2].

Объектом исследования послужил ДНК-содержащий материал 37 подростков, состоящих на учете в инспекции по делам несовершеннолетних, совершивших противоправное деяние. Группу сравнения составили 47 добровольцев, не совершавших противоправных действий и не употреблявших ПАВ.

Генетические исследования выполнены в НИЛ лонгитудинальных исследований УО «Полесский государственный университет» (г. Пинск) методами классической полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализа полиморфных длин рестрикционных фрагментов (ПДПФ-анализ) (таблица).

Материалом для молекулярно-генетического исследования послужила ДНК, выделенная из клеток буккального эпителия ротовой полости. Забор материала проводился с помощью одноразовых стерильных зондов путем соскоба клеток с внутренней стороны щеки, что не нарушало целостности слизистой [3, с. 55]. Все испытуемые были проинформированы о целях и условиях проведения.

Таблица – Основные реагенты для молекулярно-генетического типирования

Полиморфизм	Олигонуклеотиды	Эндо-нуклеазы рестрикции	Температура отжига, °С
T102C 5HT2A	F: CAAGGTGAATGGTGAGCAGAAA R: TGGCAAGTGACATCAGGAAATAGT	Msp I	58
L/S 5HTT	F: CAATGTCTGGCGCTTCCCCTACATAT R: GACATAATCTGTCTTCTGGCCTCTCAA	–	58
T703G TRH2	F: 5'-TTTCCATGATTTCCAGTAGAGAG-3' R: 5'-AAGCTTTTCTGACTTGACAAAT-3'	Apo I	58

В ходе исследования полиморфизма генов серотониновой нейромедиации (5HT2A, 5HTT, ТРН2) у подростков с девиантным поведением

установлено статистически значимое превалирование генотипа ТТ (32,43% против 17,02% в контрольной группе, $\chi^2=12,16$ $p<0,05$) и аллеля Т (50,00% против 23,40% в контрольной группе, $\chi^2=12,85$ $p<0,001$) гена TRH2. Риск формирования болезней зависимости или аддиктивной формы поведения при носительстве аллеля Т увеличивается в 3,27 раза. При исследовании полиморфизма генов 5HT2A и 5HTT статистически значимых различий между исследуемыми группами не выявлено, что может быть обусловлено небольшим объёмом выборки.

Проблема подростковой девиации имеет особую актуальность в связи и с тем, что алкогольная и табачная продукция, а также ПАВ имеют более пагубное воздействие на организм подростков по сравнению с другими возрастными категориями населения. Подростковая аддиктивность, с полным основанием, может быть отнесена к разряду значительных социальных угроз будущему общества и государства.

Генетическая предрасположенность является одним из важных факторов развития девиантного поведения и болезней зависимости, в особенности в сочетании со средовыми воздействиями. Наряду с клинико–психологической оценкой личности важно выявлять «неблагоприятные» генетические маркеры (аллель Т гена TRH2), предетерминирующие развитие и проявление антисоциального поведения в детской среде. Таким образом, комплексный профилактический скрининг позволит сформировать группы риска, требующие повышенного внимания ряда специалистов, действие которых направлено на коррекцию поведения подростков.

Список использованных источников

1. Козловский, А. В. Социально–эпидемиологическая характеристика несовершеннолетних потребителей психоактивных веществ / А.В. Козловский, А.Г. Виноцкая, Ю.Е. Разводовский // Мед. панорама. – 2008. – №13. – С. 49–51.
2. Давыдова Ю.Д. Современные представления о генетике агрессивного поведения / Давыдова Ю.Д., Литвинов С.С., Еникеева Р.Ф., Малых С.Б., Хуснутдинова Э.К. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – №6. – С. 716–725.
3. Лебедь, Т. Л. Молекулярно–генетическое типирование полиморфизмов: сборник метод. рекомендаций / Т. Л. Лебедь, П. М. Лазарев, И. Н. Гейчук. — Пинск: ПолесГУ, 2011. — 72 с.

УДК 575.167

ГЕНЕТИКА АТОПИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Левковец Любовь Ивановна, младший научный сотрудник
Шаико Татьяна Владимировна, младший научный сотрудник
Лебедь Татьяна Леонидовна, заведующий НИЛ
Научно–исследовательская лаборатория лонгитудинальных исследований
Полесский государственный университет

Последние десятилетия характеризуются увеличением заболеваемости сердечно–сосудистыми, онкологическими и atopическими болезнями.

По данным Всемирной организации здравоохранения, сегодня более 40% населения планеты страдают различными атопическими заболеваниями (бронхиальной астмой, атопическим дерматитом, аллергическим ринитом). В Республике Беларусь на официальном учете состоит почти 61 тыс. взрослых людей с бронхиальной астмой, 2284 – с аллергическим ринитом. Страдающих поллинозом насчитывается около 1500 пациентов, однако реальное число может быть в 2–3 раза больше. При этом отмечается постоянный рост заболеваемости, и этот показатель сильно варьирует в разных регионах Республики Беларусь и среди отдельных групп населения.

Первооткрывателем атопии считается J.V. Helmont, впервые описавший в 1607 г. сочетание астмы и зуда кожи. Под термином атопия (греч. атору – «чужая», «странная», «необычная»), по мнению А.Ф. Соса и R.A. Cooke (1923) подразумевались генетические передающиеся некоторые формы повышенной чувствительности (астма, сенная лихорадка). Несколько позднее А.Ф. Соса (1931) отнес к атопическим заболеваниям непереносимость некоторых видов пищи и медикаментов, а в 1933г. F. Wise и V.D. Sulzberger дополнили эту группу рядом дерматозов, тогда и появился термин «атопический дерматит» [1].

Сегодня под атопией понимают наследственную тенденцию к гиперпродукции иммуноглобулинов класса E (IgE), которая лежит в основе целого ряда аллергических заболеваний. На начальном этапе развития атопия может проявляться только на уровне иммунных изменений (выявлением гиперпродукции общего IgE и специфических IgE-антител) и связи атопии с определенным генетическим маркером – геном-кандидатом. В настоящее время выделяют несколько групп генов-кандидатов, которые могут быть важны в развитии атопии и связанных с ней заболеваний:

- 1) гены факторов антигенного распознавания и гуморального иммунного ответа (IL4, IL5, IL13, HLA-DR, TCRA и т. д.);
- 2) гены метаболизма медиаторов воспаления и сопутствующих факторов (LTC4S, PAFAN, NOS3 и т. д.);
- 3) гены рецепторов цитокинов и медиаторов воспаления (IL4RA, HTR2A, ABRB2, FCER1B и т. д.);
- 4) гены факторов транскрипции (STAT6, JAK1, JAK3, NFYB и т. д.);
- 5) гены системы биотрансформации веществ (GSTM1, GSTT1, CYP2E1, NAT2, SLC11A1 и т. д.) [2].

Устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды в значительной мере зависит от состояния ферментов системы детоксикации ксенобиотиков или системы метаболизма. Процесс детоксикации представляет собой довольно сложную систему взаимодействия различных ферментов с экзогенными веществами, в том числе с токсическими соединениями.

Часто токсические метаболиты, образующиеся в первой фазе детоксикации, вследствие отсутствия нормально функционирующих ферментов 2-й фазы, не утилизируются, а, воздействуя непосредственно на клетки эпителия дыхательных путей, вызывают воспалительный процесс в брон-

хах, стимулируя их гиперчувствительность и гиперреактивность. Центральное место в семействе глутатион-S-трансфераз занимают гены GSTT1, GSTM1 и GSTP1, функционально ослабленные аллели которых ассоциированы с развитием таких заболеваний легких, как хронический бронхит, рак, эмфизема. Данный факт обусловлен нарушением таких важных функций, как изомеризация стероидов и простагландинов, участие в биосинтезе и метаболизме лейкотриена C4, транспорт стероидных гормонов.

Гены системы биотрансформации являются достаточно сложным объектом исследования в силу ряда специфических особенностей: перекрывающаяся субстратная специфичность кодируемых этими генами ферментов, индуцибельность и участие в метаболизме эндогенных соединений. Но именно эти особенности генов энзимов биотрансформации и позволяют предполагать, что они могут быть генетическими маркерами на всех этапах развития заболевания от его инициации к исходу, что позволит выявить предрасположенность, помочь в ранней диагностике заболевания и выбрать наиболее оптимальную терапию [3]. Так установлено, что причина синдрома Жильбера – снижение активности фермента уридинфосфатглюкуронилтрансферазы (UDF), что приводит к повышению концентрации билирубина в крови. Своевременная генетическая диагностика позволяет дифференцировать данную патологию, скорректировать свой образ жизни до полного исчезновения дискомфорта, вызываемого гипербилирубинемией.

Изучение связи полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к atopическим заболеваниям является актуальным для понимания сути этих заболеваний как результата взаимодействия генома и среды. Анализ связи полиморфизмов генов с конкретными заболеваниями, составления генной сети для каждого многофакторного заболевания и идентификации в ней генов–кандидатов («центральных» генов) и генов–модификаторов приведёт к молекулярной медицине и к индивидуализированному лечению каждого пациента. Комплексные клинико–лабораторные исследования с использованием индивидуального генетического тестирования позволят предупредить возможные последствия на организм разнообразных внешних и внутренних неблагоприятных факторов.

В рамках НИР «Роль полиморфизма генов системы биотрансформации веществ и антиоксидантной защиты в развитии atopических состояний», финансируемой БРФФИ, нами будет проведен поиск ассоциации генов системы ферментов биотрансформации веществ с развитием atopических состояний у детского населения Пинского региона.

Список использованных источников

1. Касохов, Т.Б. Atopический дерматит у детей / Т.Б. Касохов, З.А. Цораява, В.В. Касохова, А.И. Мазур // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – № 1 – С. 8–10.
2. Фрейдин, М.Б. Генетика atopии: современное состояние / М.Б. Фрейдин, Е.Ю. Брагина, Л.М. Огородова, В.П. Пузырев // Вестник ВОГиС. – 2006. – Том 10. – № 3. – С. 492 – 503.

3. Баранов, В.С. Геном человека и гены «предрасположенности». (Введение в предиктивную медицину) / В.С. Баранов, Е.В. Баранова, Т.Э. Иващенко, М.В. Асеев // СПб.: Интермедика. – 2000. – 272 с.

УДК 576.524

N–СТЭАРАІЛЭТАНОЛАМІН ПРЫГНЕЧВАЕ АГРЭГАЦЫЮ ТРАМБАЦЫТАЎ ЧАЛАВЕКА

*Рыжыкава Марыя Вячаславаўна, аспірант,
Чарнышэнка Ўладзімір Аляксандравіч, с.н.с., к.б.н.,
Гудзь Ягор Анатольевіч, н.с., к.б.н.,
Лабынцаў Андрэй Юрыевіч, н.с., к.б.н.,
Інстытут біяхіміі імя А. У. Палладзіна НАН Украіны*

N–ацылэтаноламіны (NAE) — гэта мінорныя ліпіды, якія ў норме знаходзяцца ў арганізьме чалавека ў надзвычай малых колькасцях, тады як пры паталогічных станах іхняя канцэнтрацыя можа павялічвацца на некалькі разоў. У адзьзеле біяхіміі ліпідаў Інстытута біяхіміі імя А. У. Палладзіна НАН Украіны раней было паказана, што насычаныя NAE, ў прыватнасці N–стэараілэтаноламін (NSE), выказваюць нейрапратэктарнае й кардыпратэктарнае дзеянне, выяўленыя антызапаленчыя ўласцівасці [1, с. 447]. Аднак, прыроду дадзеных эфектаў NSE раскрыта ня цалкам. У прыватнасці, ў адрозненне ад насычаных NAE, NSE выяўіся няздольным актываваць рацэптары эндаканабіноідаў. У нашай працы мы выкарысталі трамбацыты, як прасцейшую мадэль клетачнага адказу, з мэтай дасягнуць эфекты NSE на клетачны адказ пры стымуляцыі й адгезіі клеткаў.

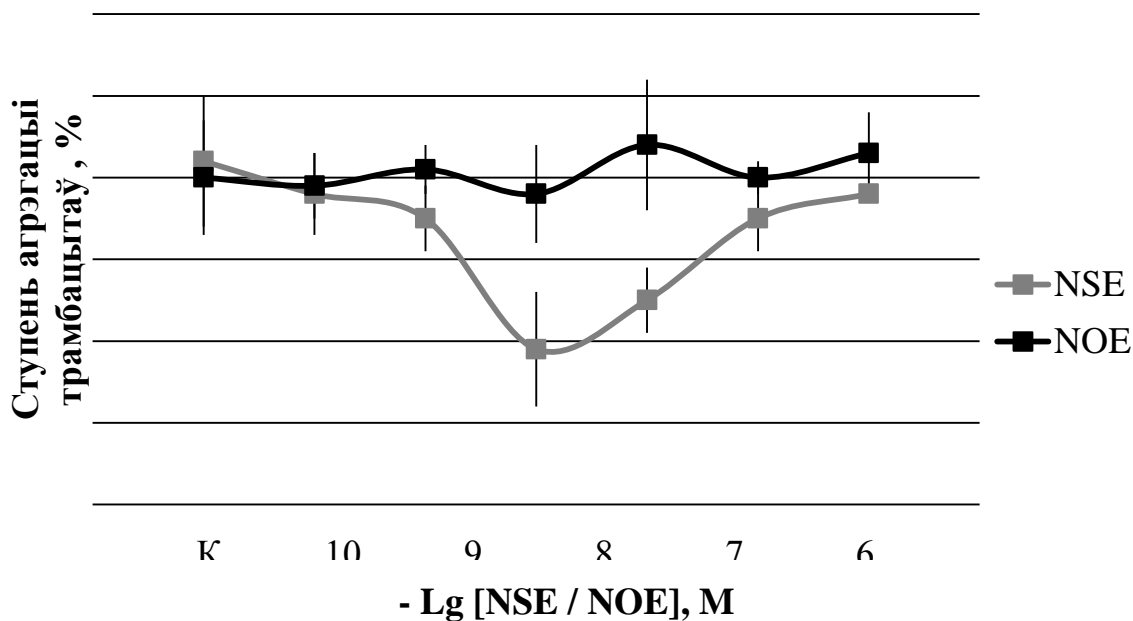
Даследваньні агрэгаты трамбацытаў у прысутнасці NSE (10^{-7} ды 10^{-8} М) паказалі ягоную здольнасць інгібаваць агрэгачыю трамбацытаў, індукваную ADP і рыстацэтынам на $25\pm 4\%$ і $35\pm 6\%$ адпаведна. Поўнага інгібавання агрэгаты трамбацытаў не ўдалося дасягнуць пры павелічэнні канцэнтрацыі NSE, болей за тое — інгібітарны эфект знікаў, як пры памяншэнні канцэнтрацыі NSE, так і пры яе павелічэнні.

Аналігічную заканамернасць назіралі таксама пры даследваньні звязвання фібрынагена з трамбацытамі. У лункі 96–луначнага планшэта з папярэдне сарбаванымі й актываванымі ў прысутнасці ADP трамбацытамі ўнасілі фібрынаген. Пасля інкубацыі правадзілі замену буфера, устараваючы непавязаны з трамбацытамі фібрынаген. Узровень фібрынагена на паверхні сарбаваных трамбацытаў у прысутнасці NSE й у кантроле ацэньвалі пры дапамозе манакланальных антыцелаў. Пры канцовай канцэнтрацыі NSE ад 10^{-7} да 10^{-8} М назіралі верагоднае паніжэнне ўзроўня павязанага з трамбацытамі фібрынагена — да 30%. Канцэнтрацыі NSE звыш 10^{-6} і 10^{-9} М не аказвалі інгібавальнага ўздзеяння на дадзены працэс.

Для пацверджання дадзенага назірання было скарыстана скакуючую эляктронную мікраскапію. На гэты раз вывучалі сорбцыю трамба-

цытаў на папярэдне пакрытай фібрынагенам паверхні. Паказана, што трамбацыты ў асяродзьдзі з NSE ад 10^{-7} да 10^{-8} М пераважна захоўвалі шарападобную форму, тым часам як сумежныя канцэнтрацыі NSE й кантрольная проба характарызаваліся паяўленьнем на паверхні распластаных трамбацытаў са шматлікімі псеўдаподыямі, характэрнымі для актываваных клеткаў.

Кабы спраўдзіць, што выяўлены эфект зьявляецца спецыфічным, мы сынтэзавалі блізкае паводле структуры да NSE ліпафільнае злучэньне — N-алеаілетаноламін (NOE). Ё адрозьненне ад NSE, NOE ня меў здольнасьці прыгнечваць агрэгачыю трамбацытаў, індукаваную ADP (Рыс.).



Рысунак – Залежнасьць ступені ADP-індукаванай агрэгачыі трамбацытаў чалавека ад колькасьці ўнесенага N-стэраілетаноламіна (NSE) ды N-алеаілетаноламіна (NOE). $P \leq 0,05$, $n = 5$.

Нягледзячы на выяўленьня мембранапратэктарныя й супрацьзапа-ленчыя ўласьцівасьці, N-стэраілетаноламін (NSE) не актывуе ні TRPV1, ні СВ-рацэптары, але паводле сваіх уласьцівасьцей можа належаць да спалук із канабіміметычнымі ўласьцівасьцямі [1, с. 447]. Ягоную біялягічную актыўнасьць павязваюць із актывацыяй рацэптара PPAR γ (Рацэптар, акты-воўны пераксісомным праліфэратарам γ) [2, с. 66]. Дадзены рацэптар было выяўлена й на трамбацытах [3, с. 2].

Такім чынам, упершыню выяўлены намі спецыфічны інгібавальны эфект NSE на агрэгачыю трамбацытаў можа быць павязаны з уздзеяннем NSE на актывацыю рацэптара PPAR γ . Яго далейшае вывучэньне дазволіць раскрыць прыроду мембранапратэктарнага дзеяньня NSE.

Публікацыя зьмяшчае вынікі дасьледваньняў, праведзеных паводле гранта Прэзыдэнта Ўкраіны паводле конкурснага праекта Ф75/129–2018 Дзяржаўнага фонду фундамэнтальных дасьледваньняў.

Аўтары ўдзячныя загадчыку адзьдзела структуры й функцыі бялка Э. В. Лугаўскаму й загадчыцы адзьдзела біяхіміі ліпідаў Н. М. Гулай за ўсябочную падтрымку дадзенага кірунка дасьледваньняў ды мудрае кіраўніцтва.

Сьпіс выкарыстаных крыніцаў

1. Гулая, Н. М. Влияние N–стеароилэтаноламина на содержание свободных аминокислот в крови и печени крыс при экспериментальном ожоге / Н. М. Гулая, А. А. Чумак, А. Г. Бердышев, О. Ф. Мегедь, Т. Н. Горидько, Н. Л. Киндрук, Г. В. Косякова, А. Д. Жуков // Укр. биохим. журн. – 2009. – т. 81, № 2. – С. 29–31.

2. Бердышев, А. Г. N–стеароилэтаноламин модулирует ЛПС–индуцированную продукцию активных форм кислорода и транслокацию NF–κB В макрофагах / Г. В. Косякова, Н. М. Гулая // Укр. Биохим. Журн. — 2017. — т. 89, № 5 — С. 62–69.

3. Spinelli, S.L. The PPAR–Platelet Connection: Modulators of Inflammation and Potential Cardiovascular Effects / S.L. Spinelli J.J. O'Brien, S. Bancos, G.M. Lehmann, D.L. Springer, N. Blumberg, C.W. Francis, M.B. Taubman, R.P. Phipps // PPAR Res. – 2008. – Vol. 2008. – P. 1–16.

НАУЧНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ

NOVEL THIOCARBOHYDRAZONE DERIVATIVE OF FLAVANONE

Blazińska Paulina¹, MSc BSc, PhD Student

Korolevich Violetta², MSc BSc, PhD Student

Sykula Anna¹, PhD MSc, Assistant Professor

Łodyga-Chruścińska Elżbieta¹, Prof. PhD MSc BSc, Professor

¹*Lodz University of Technology*

²*Polessky State University*

Polyphenols are a category of chemicals that naturally occur in plants. They are known as phytochemicals. These chemicals can be categorized into the following groups: flavonoids, phenolic acids, stilbenes and lignans. The largest group of polyphenols are flavonoids which are widely spread in nature. The main class of polyphenolic secondary metabolites are flavanones. They are very interesting compounds extensively present in food products of plant origin for example citrus fruits. Derivatives of flavanone with substituents in rings: A or B have various and valuable properties, such as anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, or antitumor. The basic moiety of these compounds is flavanone (Fig. 1) [1,2]

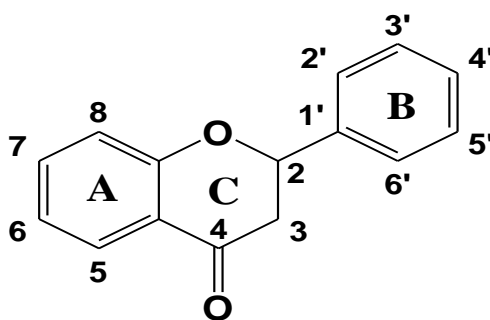


Figure 1 – Chemical structure of flavanone

Their bioavailability and bioactivity depends on chemical structure. They have huge and significant potential in the treatment of many illnesses like cancer or cardiovascular diseases [3].

Thiocarbohydrazides are also really important class of chemical compounds that have applications in organic chemistry, biology and medicine due to their valuable reactions and variety of activities. The aromatic derivatives of thiocarbohydrazide exhibit high antiviral and antimicrobial activity. [4]

Thiocarbohydrazone Schiff bases are chemical compounds of great importance in medicine and pharmacy. Due to their crucial role in these areas they could be used as potential drugs. It is very promising field of science. [4]

The aim of work was synthesized new derivative of flavanone and thiocarbohydrazone (Fig.2) and analyzed by different spectral methods like UV-visible, IR and NMR spectra.

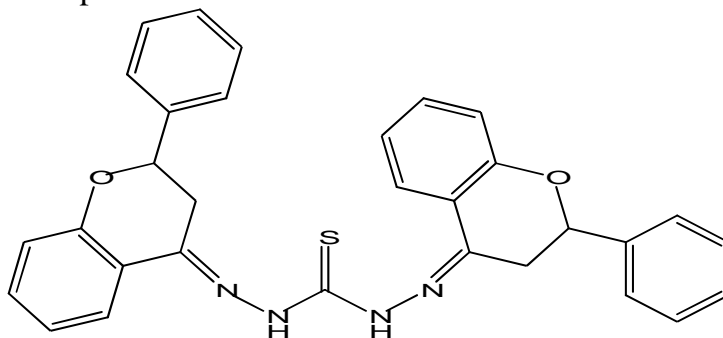


Figure 2 – Chemical structure of thiocarbohydrazone derivative of flavanone FTCH (N'-((E)-2-phenylchroman-4-ylidene)-2-((Z)-2-phenylchroman-4-ylidene)hydrazine-1-carbothiohydrazone)

The results showed that the application of spectroscopic methods NMR, IR and UV confirm structure of new compound FTCH.

FTCH will be used for further studies to investigate biological activity.

The list of references

1. Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity / O. Benavente-García, J. Castillo // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – Washington, 2008. – V. 56 (15). – P. 6185–6205.
2. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols / M. K. Khan, Z. E Huma, O. Dangles // Journal of Food Composition and Analysis. – Amsterdam, 2014. – V. 33. – P. 85–104.
3. Flavanone and 2'-OH flavanone inhibit metastasis of lung cancer cells via down-regulation of proteinases activities and MAPK pathway / Y.C. Hsiao, W.H. Kuo, P.N. Chen, H.R. Chang, T.H. Lin, W.E. Yang, Y.S. Hsieh, S.C. Chu // Chemico-Biological Interactions. – Amsterdam, 2007. V. 167. – P. 193.
4. Metal complexes of thiosemicarbazones for imaging and therapy / J.R. Dilworth, R. Hueting // Inorganica Chimica Acta. – Amsterdam, 2012. – V. 389. – P. 3–15.

**СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
В ЛИСТЬЯХ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ РОДА *PAEONIA* L.,
ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

*Войцеховская Елена Анатольевна, научный сотрудник
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

В полевой коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси в настоящее время насчитывается 320 видов и внутривидовых таксонов рода *Paeonia*. В нее включены ценные исторические генотипы (стародавние сорта) и эндемичные виды коллекции. Род Пион (*Paeonia* L.) имеет широкий ареал распространения в Северном полушарии и является единственным в семействе *Paeoniaceae*, включающий по различным данным от 25 до 40 видов древесных и травянистых растений. Виды *Paeonia* обладают большим декоративным и лекарственным значением, что определяет высокий интерес к культуре, ее селекции и использованию в традиционной народной медицине [1].

В лекарственных целях используется пион уклоняющийся *Paeoni anomala* L. Основной биохимический состав представлен суммой иридоидов не менее 3,5% в пересчете на пеонифлорин в корневище и корнях и не менее 2,5% в траве, также накапливаются в корневищах и корнях дубильные вещества – 9%, органические кислоты до 2,1%, эфирное масло – 1,2%, крахмал до 78%, кумарины, сапонины [2]. Проведены исследования по содержанию флавоноидов в биомассе растения пиона уклоняющегося. Определено, что максимальное накопление флавоноидов в фазу цветения и созревания семян 1,59%–1,69% в надземной части растения и 0,56% в фазу конца плодоношения в подземных частях растения [3]. Флавоноиды являются составной частью класса биологически активных веществ – фенольные соединения, которые относятся к группе активных антиоксидантов, участвуют в окислительно–восстановительных реакциях, выступая донорами или акцепторами электронов и протонов. Особенности химической структуры фенольных соединений (наличие ароматических колец и свободных гидроксильных групп) предопределяют такое свойство этих соединений, как инактивация активных форм кислорода (антиокислительный эффект), которое является основой биологического эффекта фенольных соединений.

Цель исследования – определить содержание суммы фенольных соединений в надземной массе пионов 7 сортов *Paeonia lactiflora*, произрастающих в условиях центральной агроклиматической зоны Беларуси.

Актуальность данного исследования продиктована изучением биохимического состава видов и внутривидовых таксонов рода *Paeonia* коллекционного фонда Центрального ботанического сада НАН Беларуси с целью определения перспективных источников получения биологически активных соединений для промышленного использования.

Материалы и методы: для биохимической оценки пионов по содержанию фенольных соединений проводили заготовку листьев 7 сортов в период массовой бутонизации и цветения (май–июнь 2018г), а также в фазу конца плодоношения (сентябрь 2018г.), произрастающих на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Сушили, измельчали согласно требованиям фармакопейной статьи ФС 420531–98. Общее содержание фенольных соединений определяли с использованием метода Фолина–Чокальтеу [4]. Для получения экстракта листьев пионов в количестве около 3–3,5г. измельчали в ступке. Для экстракции соответствующую навеску листьев помещали в пробирку и добавляли рассчитанный объем экстракционной смеси этанол – вода. Экстракцию проводили в течение 30 минут под воздействием ультразвукового излучения, после чего оставляли на 16 часов при температуре 4°C. Полученные экстракты центрифугировали и сохраняли при низкой температуре до проведения измерений. Для определения общего содержания фенольных соединений в экстрактах 0,25 мл образца, 1 мл реактива Фолина – Чокальтеу и 10 мл раствора Na₂CO₃ вносили в мерную колбу на 50 мл, куда добавляли дистиллированную воду и взбалтывали. Через 30 мин измеряли поглощение на спектрофотометре Agilent 8453 в кювете с рабочей длиной 10 мм. Контролем служила вода с добавлением всех указанных реактивов. Для калибровки использовали галловую кислоту в диапазоне концентраций 0,15–1,0 г/л.

Результаты и выводы: содержание фенольных соединений в листьях изучаемых пионов по фенологическим фазам в 2018г. представлены в таблице.

Таблица – Динамика суммы фенольных соединений в листьях *P. lactiflora* (мг/г сухого веса)

Название сорта	Год	Страна происхождения	Массовая бутонизация (май 2018 г.)	Массовое цветение (июнь 2018 г.)	Конец плодоношения (сентябрь 2018 г.)
Памяти Гагарина (Pamiati Gagarina)	1957	USSR	91,5±3,14	95,9±2,21	89,9±2,06
Мираж (Mirazh; Miraj, Mirage)	1959	USSR	92,7±2,16	97,06±3,15	88,2±3,24
Жемчужная россыпь (Zhenchuzhnaya rossyp)	1989	USSR	77,9±2,96	77,8±3,09	76,6±1,82
Мирный (Mirnyi, Mirnij, Mirnii)	1952	USSR	89,7±1,08	91,3±3,49	86,8±3,02
Зорька (Zor'ka; Zorka)	1965	USSR	86,9±3,14	89,4±1,41	85,3±2,52
Победа (Pobeda)	1957	USSR	91,87±3,06	94,45±3,18	86,92±1,09
Suruga –etalon	1955	France	72,95±1,94	74,97±3,11	72,08±2,03

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в фазу массового цветения надземной части исследуемого растения происходит максимальное накопление суммы фенольных соединений. Среди изучаемых таксонов наибольшим содержанием характеризуются сорта «Памяти Гагарина», «Мираж», «Победа» – не менее 95 мг/г. Изучение и анализ динамики накопления биологически активных веществ по фазам развития позволяет дать оценку ряду сортов пионов как дополнительных источников лекарственного растительного сырья для фармацевтической промышленности и рационального использования фиторесурсов Республики Беларусь.

Автор статьи выражает большую признательность куратору реферируемой коллекции пионов Центрального ботанического сада НАН Беларуси научному сотруднику Валентине Васильевне Гайшун за предоставление и помощь при отборе растительного материала для биохимических анализов.

Список использованных источников

1. Hu, S. Paeonol, the main active principles of *Paeonia moutan*, ameliorates alcoholic steatohepatitis in mice / S. Hu et al // *Journal of ethnopharmacology*, 2010. – 128(1). – P.100–106.
2. Губаненко, Г.А. Влияние природно–климатических факторов на содержание флавоноидов в биомассе пиона уклоняющегося *Paeonia anomala* L. / Г.А. Губаненко, Е.В. и др. // *Химия раст. Сырья*, 2014. – №1. – С.165–170.
3. Государственная фармакопея РБ / Пион уклоняющийся (количественное определение) // типография «Победа», Молодечно. – Том 2. – 2007. – С. 400–402.
4. Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.) / M. Wang [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – Vol. 51. – P. 601–603.

УДК 502.37

АКТУАЛЬНОСТЬ СОХРАНЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ ПРИРОДНЫХ КОМПЛЕКСОВ

***Волкова Виктория Владимировна, ассистент
Полесский государственный университет***

Динамическое экологическое равновесие может быть сохранено путем рационального распределения и баланса различных территорий, от полностью урбанизированных до охраняемых природных ландшафтов, что достигается в функциональном зонировании. Поэтому с каждым годом становится все более важной задачей создания национальных и природных парков, охраняемых ландшафтов, различных водоохраных зон, образующих своеобразный природный каркас системы расселения, а также зон влияния большого города. Наиболее крупными охраняемыми территориями в этих случаях выступают места массового отдыха населения.

Любая природная территория, на которой будет осуществлен проект благоустройства, какой бы она ни была – пойменная, болотная, лесная – требует тщательного изучения, анализа собранных данных, синтез этих

данных в оптимальные методы и принципы планировки, комплексного подхода, и, наконец, выявление экологической направленности не только при изучении территории, но и после строительства объектов ландшафтной архитектуры.

Растущие масштабы рекреационной деятельности, особенно в зонах влияния больших городов, объективно порождает экономические, социальные и экологические проблемы. В сфере экономики они весьма серьезные, это главным образом конкуренция со стороны сельского, лесного, водного хозяйства, градостроительства и других отраслей народного хозяйства. Однако в условиях плановой экономики и больших территориальных ресурсов всё это в принципе разрешимо, важно лишь последовательно реализовать комплексный подход к рациональному использованию территории.

Давно замечено, что вслед за развитием городов возникают проблемы отдыха на природе. Но отдых на природе в соответствии с потребностями современного человека в определенном комфорте и ведёт к организации зон отдыха. Наиболее сложные проблемы возникают при этом в экологическом плане. Рекреационный бум – это прежде всего возникновение большого числа экологических проблем, главным образом связаны с массивным физическими нагрузками на природный ландшафт. Потоки отдыхающих только на первый взгляд представляются невинными. Например после 3–4 лет интенсивной эксплуатации лесных территорий (полян) для их восстановления потребуется не менее пяти–шести лет при плотности населения более 100 человек на 1 га, естественное лесовосстановление полностью нарушается, виновниками 99% лесных пожаров является человек и, количество грибов, ягод, цветов, из лекарственных трав вокруг крупных городов сокращается значительно более высокими темпами за счёт подорванное способности популяции постановлением, чем растёт число отдыхающих И вероятно концу XX века многие виды растений и грибов радиуса 50–100 км вокруг крупнейших городов безвозвратно исчезнут. Особую угрозу для всего живого представляет рост числа индивидуальных автомашин, моторных лодок, А в северных районах мотосаней, нерегламентированный их лесные массивы берегам рек и водоемов курсирование по малым рекам и т.д. [1].

Возрастает не только потребность в лесопарковых территориях, как рекреационных, но еще и потребность в их восстановлении и сохранении. Что также способствует выделению отдельного направления в изучении природных естественных комплексов.

Водно–болотные угодья по своему положению в ландшафте и особенностям использования человеком – особенно уязвимые экосистемы нашей планеты, которые в настоящее время находятся под наибольшей угрозой разрушения. Это происходит главным образом в связи с ведущимся осушением, преобразованием, загрязнением и переэксплуатацией их ресурсов. Водно–болотные угодья подвергаются интенсивному хозяйственному использованию (забор воды для орошения, бытовых и технических нужд, добыча торфа, биологических ресурсов и т.д.) [2].

В пустыне Такла–Макан в Синьцзян–Уйгурском автономном районе – Северо–Западный Китай – расположен национальный парк водно–болотных угодий Урумчи. Он занимает площадь около 5800 га и состоит из различных видов водно–болотных угодий, в том числе рек и болот. Водно–болотных ресурсов, образованных болот, озер и водохранилищ на берегах реки играют важную роль в воздействии местного климата. Тем не менее, объем речной воды был уменьшен и водно–болотные угодья сократились в результате расширения деятельности человека и нерегулируемого использования воды с 1980 года. Синьцзян имеет площадь заболоченных земель около четырех миллионов гектаров, занимая пятое место среди регионов на уровне провинций в Китае. Сохранение и восстановление водно–болотных угодий стали приоритетом для органов местного самоуправления [3].

Еще один пример: окраины города Люпаншуй (Китай) выглядели как обычный промышленный пригород. Отсутствие растительности, загрязненные отходами производств территории, помойки и свалки. Но в 2014 году местные власти закрыли промышленную зону, а архитектурное бюро Turenscape осуществило сложный проект экологической реабилитации местности. Так возник «Minghu wetland park» — парк водно–болотных угодий. Архитекторы постарались воссоздать естественную природу данной местности, а так же проложили пешеходные и велодорожки. Парк был создан на территории, состоящей из ухудшенных водно–болотных пятен, оставленных рыбных прудов и полос бесхозно кукурузных полей. Его состояние до развития проекта соответствовало мусорной свалке и загрязняло воды. Таким образом, изношенная система водоснабжения и пригородный пустырь был успешно преобразованы с высокой производительностью и низкими эксплуатационными расходами муниципальную территорию. [4].

Используя теорию поляризованных ландшафтов можно добиться гармонии человека и природы. Поляризованный ландшафт (поляризованная биосфера) – концепция культурного ландшафта с территориальной структурой, предполагающей гармоничное сосуществование природных зон и деятельности человека, разработанная в 1970 г. Родоманом Борисом Борисовичем. Это своего рода проект использования теоретической географии для гармоничного сосуществования Человека и Биосферы. Большой город и дикая природа рассматриваются как равноценные полюсы окружающей среды. Между ними располагаются различные функциональные зоны.

Для того чтобы не разрушать естественную природу под натиском роста городов, необходимо оптимизировать территориальную структуру противоположных и равноценных видов окружающей среды, одинаково необходимых людям – больших городов и естественных природных комплексов.

В случае с проектированием объектов ландшафтной архитектуры равноценные виды окружающей среды – это дикая природа и рекреационные территории внутри объектов рекреации. Возможность и необходимость их сосуществования и взаимодействия может быть отражено в концепции

проекта любого типа ландшафтных объектов, используя методику поэтапного формирования поляризованных пространств.

Данная методика направлена на постепенное частичное преобразование окружающей среды в целях сохранения, в некоторых случаях – восстановления взаимосвязей между природными ландшафтами и урбанизированными территориями, а в дальнейшем – их гармоничное взаимодействие без вытеснения друг друга.

Разработка принципов и методов по сохранению и восстановлению природных ландшафтов также входит в комплекс необходимых мер. В настоящее время человечество стоит на пороге экологического кризиса. Необходимые меры по разработке новых проектов озеленения разнообразных территорий, которые в этом нуждаются, помогут предотвратить выход за границы этого кризиса.

Список использованных источников

1. Город и ландшафт: (проблемы, конструктивные задачи и решения) / Владимиров В.В., Никулина Е. М., Яргина З.Н. — М.: Мысль, 1986. — 238 с.
2. О водно–болотных угодьях // сайт Российской программы Wetlands International [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://russia.wetlands.org/Home/tabid/607/language/ru-RU/Default.aspx>.
3. National wetland park established in China's largest desert // Wetlands International global site [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.wetwonder.org/en/news_show.asp?id=2140.
4. Minghu Wetland Park / Turenscape // Archdaily [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.archdaily.com/590066/minghu-wetland-park-turenscape>.

УДК 635.9+634.31. 34

ПИГМЕНТНЫЙ ФОНД ЛИСТЬЕВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CITRUS* L. В ОРАНЖЕРЕЙНОЙ КУЛЬТУРЕ

*Гетко Нелли Владимировна, д.б.н., доцент,
Атесленко Екатерина Валерьевна, аспирант,
Шамиур Галина Чеславовна,
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»,
Бачище Татьяна Сергеевна,
ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН
Беларуси»*

Хлорофилл и каротиноиды являются одними из важнейших компонентов фотосинтетического аппарата листьев, характеризующими его пластичность, способность приспосабливаться к изменяющимся внешним условиям, наиболее важным из которых является интенсивность света. Анализ источников показывает, что среднее суммарное содержание хлорофилла у растений различных географических широт варьирует незначительно, и в % от сырого веса составляет для северных широт – 0,24, суб-

тропиков – 0,25, тропиков – 0,27. Первым актом фотосинтеза является поглощение света молекулами хлорофилла и каротиноидами, входящими в состав пигмент–белкового комплекса – светособирающей антенны. Агрегированные молекулы хлорофилла, в качестве основных светособирающих пигментов, поглощают видимый свет в красной области с длиной волны $\lambda \leq 680\text{--}730$ нм, а каротиноиды, как вспомогательные пигменты, поглощают свет в синей и сине–фиолетовой области с длиной волны $\lambda \approx 450\text{--}480$ нм. Комплекс пигментов, таким образом, эффективно улавливает солнечный свет и направляет его энергию к реакционным центрам фотосистем. Количественное содержание и соотношение пигментов в листьях зависит от факторов среды и генетической природы видов.

Известно, что большинство видов рода *Citrus* L. относится к C_4 –типу фиксации CO_2 [1, с.56], и это свидетельствует об их повышенной требовательности к условиям освещенности. Однако пути физиологической адаптации к недостатку света у тропических и субтропических растений в условиях оранжерей умеренного климата могут быть различными [2].

Целью данного исследования было определить содержание и соотношение фотосинтетических пигментов у четырех представителей рода *Citrus* L.: *Citrus* \times *aurantium* L., *Citrus reticulata* Blanco, *Citrus microcarpa* Bunge и *Citrus paradisi* Macfad., перспективных в качестве горшечной оранжерейной культуры.

Растения привитые, выращиваются в оранжерее ЦБС НАН Беларуси в условиях освещенности в пределах 3000 – 3200 Лк, в малообъемной горшечной культуре в субстратной смеси из торфа, песка, перлита в соотношении 2 : 1 : 1.

***Citrus* \times *aurantium* L. – Бигарадия, или Кислый апельсин.** Бигарадия имеет гибридное происхождение (*C.reticulata* \times *C.grandis*) и относится к группе кислых апельсинов [1, с.33]; широко используется в качестве подвоя, но обладает высокой чувствительностью к вирусу тристезы [1, с.40]. Родина – Юго–Восточная Азия. В настоящее время культивируется во всех субтропических регионах мира, в дикорастущем виде не обнаружена [3, с.99].

В условиях ЦБС: растение до 1 м высотой, с диаметром кроны 71–81 см, ветви без колючек. Длина листовой пластинки 9,0–12,8 см, ширина – 4,9–7,7 см. Черешок длиной 2,5–3,5 см, с хорошо заметной крылаткой. Листья в большинстве ассиметричны, яйцевидной или ланцетовидной формы; верхушка листовой пластинки острая, основание – округлое; край листовой пластинки цельный.

***Citrus reticulata* Blanco – Мандарин.** Мандарин является одним из немногих негибридных видов цитрусовых. Его, наряду с цитроном, помело и папедой, относят к прародителям большинства сладких сортов цитрусовых [4].

Родиной мандарина считается Китай. Широко культивируется во всех субтропических регионах Юго–Восточной Азии, юга Японии. Большинство разновидностей и форм возделывается как плодовые культуры [3, с.108].

В условиях ЦБС: растения высотой до 1 м, диаметр кроны 60–70 см, ветви без колючек, но могут быть и с колючками. Длина листовой пластинки 7,2–10,2 см, ширина – 2,8–4,4 см. Черешок 0,7–1,1 см, крылатки едва заметны. Листья симметричные, ланцетовидной формы; верхушка листа острая, основание – клиновидное, края – цельные.

***Citrus microcarpa* Bunge – Каламондин.** С древних времен известны гибриды мандарина сетчатого (*C. reticulata* var. *reticulata*), полученные путем спонтанной гибридизации. Каламондин – предполагаемый гибрид *C. reticulata* var. *austera* × *Fortunella margarita* [3, с.195].

В условиях ЦБС: растения 35–48 см высотой, с диаметром кроны 25–30 см, ветви без колючек. Листовая пластинка длиной 5,4–8,2 см и шириной 3–4,4 см. Длина черешка 0,9–1,5 см, крылатки почти не заметны. Лист обратнойяцевидной формы, верхушка листа по форме заостренная, основание – клиновидное, края – цельные. Отличается ремонтантностью, плодоносит. На деревце одновременно присутствуют и молодые зеленые плоды, и зрелые желтовато–оранжевые. Плоды мелкие, 2,3–2,8 × 2,7–3,4 см, гладкие, блестящие, с тонкой кожурой.

***Citrus paradisi* Macfad. – Грейпфрут.** Грейпфрут – природный гибрид помело (*C. grandis*) и апельсина (*C. sinensis*) [1, с.33]. Впервые грейпфрут описан на о. Барбадос в 1750 г., затем на Ямайке в 1814 г. В диком состоянии неизвестен. Интродуцирован во Флориду (США) в XIX в. [3, с.89].

В культуре ЦБС: растение высотой до 1 м с диаметром кроны 58–60 см, ветви с небольшими колючками. Длина листовой пластинки 8,3–11,9 см, ширина – 4,2–6,6 см. Крылатки хорошо заметны, длина черешка 1,7–2,3 см. Листовая пластинка яйцевидной формы, верхушка листа заостренная, основание – округлое, края листа цельные.

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях определяли в ацетоновых вытяжках спектрофотометрическим методом с использованием СФ Shimadzu UV–2401 РС. Концентрацию хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов рассчитывали по Хольму – Ветгштейну для 100%-ного ацетона [5, с.91] на сырую и сухую массу листьев (таблица).

Таблица – *Содержание и соотношение фотосинтетических пигментов у представителей рода *Citrus* L. в оранжерейной культуре

Вид растения		Хл <i>a</i> , мг/г	Хл <i>b</i> , мг/г	Хл (<i>a+b</i>), мг/г	Каротиноиды, мг/г	$\frac{\text{Хл } a}{\text{Хл } b}$	$\frac{\Sigma a+b}{\Sigma \text{ кар.}}$
<i>Citrus paradisi</i>	1	0,86 ± 0,08	0,35 ± 0,03	1,20 ± 0,10	0,31 ± 0,03	2,46 ± 0,01	3,84 ± 0,04
	2	2,46 ± 0,21	0,99 ± 0,08	3,46 ± 0,30	0,90 ± 0,07		
<i>Citrus reticulata</i>	1	1,17 ± 0,11	0,46 ± 0,04	1,63 ± 0,15	0,39 ± 0,04	2,53 ± 0,002	4,25 ± 0,04
	2	4,23 ± 0,39	1,67 ± 0,15	5,89 ± 0,54	1,33 ± 0,14		
<i>Citrus aurantium</i>	1	0,91 ± 0,14	0,35 ± 0,05	1,23 ± 0,19	0,30 ± 0,05	2,59 ± 0,01	4,20 ± 0,09
	2	3,14 ± 0,47	1,21 ± 0,18	4,35 ± 0,65	1,04 ± 0,16		
<i>Citrus microcarpa</i>	1	0,85 ± 0,11	0,31 ± 0,04	1,16 ± 0,15	0,30 ± 0,04	2,74 ± 0,02	3,91 ± 0,04
	2	2,85 ± 0,49	1,04 ± 0,17	3,89 ± 0,66	1,00 ± 0,17		

*В числителе (1) приведены концентрации пигментов на сырую массу листьев, в знаменателе (2) – на сухую.

В таблице приведены результаты анализа содержания и величины соотношения фотосинтетических пигментов листьев четырех видов рода *Citrus* L., культивируемых в оранжерее ЦБС НАН Беларуси. Как свидетельствуют полученные нами данные, наибольший ресурс зеленых пигментов, особенно хлорофилла *b* – «теневого», и вспомогательных пигментов – каротиноидов, поглощающих свет в синей и сине-фиолетовой областях спектра, расходуют в условиях оранжерей умеренного климата два вида: *Citrus reticulata* и *Citrus aurantium*. Их следует отнести к наиболее светозависимым видам в условиях оранжерейной культуры.

Список использованных источников

1. Spiegel–Roy, P. The Biology of Citrus / P. Spiegel–Roy, E. E. Goldschmidt. – Cambridge : Cambridge University Press, 1996. – 230 p. – (Series of books «The Biology of Horticultural Crops» ; The Biology of Citrus)
2. Ладыженко, Т. А. Экофизиологический скрининг пигментного фонда листьев тропических и субтропических растений, культивируемых в оранжерее // Т. А. Ладыженко, Н. В. Гетко, Л. Ф. Кабашникова // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2013. – №3. – С. 17 – 22.
3. Культурная флора : т. 24 Цитрусовые культуры (лимон, апельсин, мандарин, грейпфрут, помпельмус, дикорастущие сородичи) / под ред. В. Л. Витковского [и др.]. – СПб. : ВНИИР, 1998. – 415 с.
4. Uzun, A. Genetic Diversity in Citrus / A. Uzun, T. Yesiloglu // Genetic Diversity in Plants / ed. M. Çalişkan. – 2012. – P. 213 – 231.
5. Практикум по физиологии растений / Н. Н. Третьяков [и др.] ; под ред. Н. Н. Третьякова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М. : Агропромиздат, 1990. – 271 с.

УДК 543.854.7

УГЛЕВОДНЫЙ КОМПЛЕКС ЛИСТЬЕВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L.

*Деева Алла Михайловна, к.б.н., научный сотрудник,
Чижик Ольга Владимировна, к.б.н.,
зав. лабораторией клеточной биотехнологии,
Решетников Владимир Николаевич, д.б.н., профессор, академик,
зав. отделом биохимии и биотехнологии растений,
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

Углеводы являются одним из основных компонентов питания и структуры клеток растений. Они составляют до 85–90 % сухой массы растительного организма. Углеводы содержатся в растениях в разных формах: моносахариды, дисахариды, полисахариды. Моносахариды играют роль промежуточных продуктов в процессах дыхания, фотосинтеза, синтеза нуклеиновых кислот, коферментов, АТФ, полисахаридов. Дисахариды (сахароза, мальтоза, целлобиоза, лактоза) служат источником глюкозы для человека, используются в качестве запасных питательных веществ. Целлобиоза, в свою очередь, входит в состав целлюлозы, которая наряду с крахмалом является одним из основных полисахаридов растений. Углеводы широко ис-

пользуются в медицине, микробиологии, пищевой, текстильной, деревообрабатывающей и др. промышленности, поэтому поиск новых источников данного класса соединений является актуальной задачей современных исследований.

Голубика высокорослая – интродуцированная культура промышленного масштаба. В Республике Беларусь под плантации *Vaccinium corymbosum* L. занято свыше 200 га и уже проводятся работы по увеличению площадей посадки до 1,5 тыс. га. В настоящее время пристальное внимание исследователей направлено на изучение биологической активности плодов голубики, однако листья также являются интересным объектом исследования и их всестороннее исследование позволит более рационально использовать данный источник биологически активных соединений. Поэтому целью нашей работы являлось изучение содержания углеводов в листьях голубики высокорослой.

Нами были проанализированы листья 10 сортов *V. corymbosum*, собранные в мае 2018 года на участках Ганцевичской научно-экспериментальной базы лаборатории интродукции и технологии ягодных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Для экстракции измельчали на гомогенизаторе ИКА Т25 навеску массой около 30 грамм, которая в последствии разделялась на три равные пробы для экстракции и дальнейшего анализа. В качестве экстрагента использовалась дистиллированная вода, экстракцию проводили при нагревании до 80 °С на водяной бане в течение одного часа. Анализ водного экстракта на содержание различных сахаров проводили по методике, описанной в [2].

Результаты исследований представлены на рисунке 1, который показывает процентное содержание редуцирующих сахаров, сахарозы и общее содержание углеводов, экстрагируемых водой.

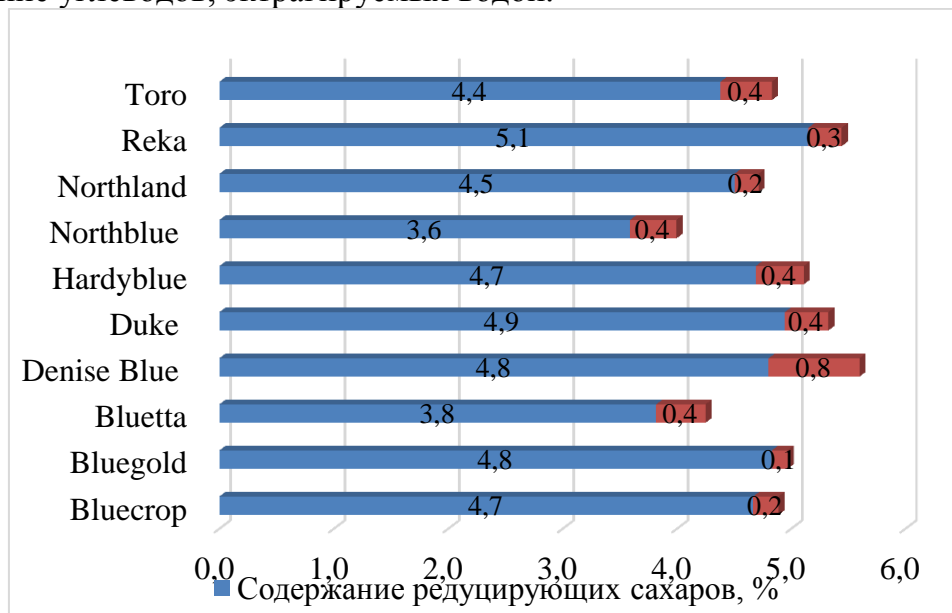


Рисунок – содержание углеводов в листьях *V. corymbosum* различных сортов, % на сухой вес (относительная ошибка определения не превышала 5%)

По результатам исследований можем видеть, что максимальное количество сахарозы накапливается в листьях сорта Denise Blue. Следует отметить также, что преобладающими углеводами в исследуемом объекте являются моносахариды. Содержание сахара в листьях голубики колебалось в пределах от 4 % для сорта Northblue до 5,6% для сорта Denise Blue. Из литературных данных, содержание сахара находится в близкой амплитуде значений для следующих хозяйственно–ценных культур: томаты (3,3 – 6,3 %), тыква (4 – 12 %), смородина красная (4,1 – 8,9 %), в различных видах сена (4 – 8 %) [2, 3].

Из всего выше сказанного мы видим, что листья голубики также могут выступать фитоисточником углеводов на ряду с другими растениями, что позволит более рационально использовать флору республики.

Авторы статьи выражают большую признательность заведующему лабораторией интродукции и технологии ягодных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси, к.б.н. Николаю Болеславовичу Павловскому за предоставление и помощь при отборе растительного материала для биохимических анализов.

Список использованных источников

1. Фармакогнозия: учебник / под ред. В. Н. Ковалева. – Харьков: Прапор, 2000. – 704 с.
2. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков [и др.]; под общ. ред. А.И. Ермакова. – Агропромиздат. Ленингр. Отд–ние, 1987. – Гл. 5. – С. 122–142.
3. Кормление сельскохозяйственных животных: Учебник для вузов. – 3–е изд., перераб. и доп. – Калуга: Издательство «Ноосфера», 2012. – С. 21.

УДК 796.51

АНАЛИЗ ДЕНДРОФЛОРЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТРОПЫ «НАДЛИВСКАЯ ГРЯДА» ЛАНДШАФТНОГО ЗАКАЗНИКА РЕСПУБЛИКАНСКОГО ЗНАЧЕНИЯ «ВЫГОНОЩАНСКОЕ»

Кузёмкин Дмитрий Владимирович, к.т.н., доцент

Касюк Василий Васильевич, студент

Полесский государственный университет

Республиканский ландшафтный заказник «Выгонощанский» находится в восточной части Брестской области на территории трех административных районов: Ивацевичского, Ляховичского и Ганцевичского. Общая площадь заказника «Выгонощанское» составляет – 55047,4 гектаров. Территория заказника слабо изменена хозяйственной и рекреационной деятельностью человека и имеет большое значение как для сохранения отдельных видов растительного и животного мира, так и всего природного комплекса Припятского Полесья в целом [1, с.18]. Уникальность заказника за-

ключается также в том, что на его территории в настоящее время не имеется ни одного населённого пункта, что подчеркивает природную уникальность региона.

На территории заказника «Выгонощанское» доминируют лесные экосистемы, которые занимают 67,05% территории заказника. Среди лесных экосистем преобладают коренные болотные пушистоберезовые леса, но также встречаются смешанные широколиственные и мелколиственные древостои. Отдельные участки в пределах заказника являются редкими по породному и флористическому составу, возрастной структуре и пространственному строению, наличию редких и охраняемых видов растений, занесенных в Красную Книгу Республики Беларусь, что придает им особую значимость в сохранении и поддержании биоразнообразия данного региона.

Управление заказником осуществляет Государственное природоохранное учреждение «Заказник республиканского значения «Выгонощанское» (ГПУ). В обязанности ГПУ входит не только управление заказником, но и контроль соблюдения природоохранного законодательства на его территории. При этом необходимо отметить, что ГПУ также занимается продвижением экологического туризма на территории заказника – здесь создана экологическая тропа «Надливская гряда». Наибольшая протяженность маршрута «Надливская гряда» составляет 4 км [2, с.95]. При этом сопровождение посетителей проводится квалифицированным экскурсоводом. Вместе с тем необходимо указать на неудовлетворительное состояние дорожно-тропиночной сети маршрута «Надливская гряда», что позволяет рекомендовать дополнительное благоустройство экологической тропы в соответствии с действующим на данном объекте законодательством.

Целью исследования было определение количественного и качественного состава дендрофлоры экологической тропы «Надливская гряда» и разработка рекомендаций по ее сохранению.

Объектами исследований послужили произрастающие вдоль экологической тропы древесные насаждения. Расстояние проникновения от края тропы вглубь республиканского ландшафтного заказника «Выгонощанский» составляло 50 м [3, с.56].

В процессе полевых работ использовались методики инвентаризационных исследований древесных насаждений лиственных и хвойных пород. Санитарное состояние деревьев определяли по внешним признакам согласно шкале классов состояния хвойных и лиственных пород деревьев в соответствии с Постановлением лесного хозяйства Республики Беларусь от 19.12.2016 №79 «Санитарные правила в Республике Беларусь».

Результаты анализа санитарного состояния произрастающей вдоль экологической тропы «Надливская гряда» дендрофлоры показаны в таблице 1.

Таблица 1 – Санитарное состояние произрастающей вдоль экологической тропы «Надливская гряда» древесных насаждений

Вид древесного насаждения	Количество деревьев в соответствии с классом их санитарного состояния, шт. / (%)					Всего, шт. / (%)
	здоровые	ослабленные	сильно ослабленные	усыхающие	сухой	
Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>)	149 / (47%)	164 / (52%)	0 / (0%)	3 / (1%)	0 / (0%)	316 / (100%)
Берёза повислая (<i>Betula pendula</i>)	340 / (67%)	171 / (33%)	0 / (0%)	0 / (0%)	0 / (0%)	511 / (100%)
Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i>)	40 / (57%)	30 / (43%)	0 / (0%)	0 / (0%)	0 / (0%)	70 / (100%)
Тополь дрожащий (<i>Populus tremula</i>)	3 / (25%)	9 / (75%)	0 / (0%)	0 / (0%)	0 / (0%)	12 / (100%)
Всего, шт. / (%)	532 / (58,5%)	374 / (41,2%)	0 / (0%)	3 / (0,3%)	0 / (0%)	909 / (100%)

Как видно из таблицы 1, из 909 обследованных древесных растений 532 (58,5%) относятся по классу состояния к здоровым, 374 (58,5%) – к ослабленным и только 3 (0,3%) относятся к усыхающим, что указывает на их удовлетворительное санитарного состояние.

Следующим этапом анализа произрастающей вдоль экологической тропы дендрофлоры послужило лесопатологическое обследование ослабленных древесных пород, приведенных (таблица 2).

Таблица 2 – Патологический анализ ослабленных древесных пород экологической тропы «Надливская гряда»

Наименование поражения	Количество шт. / (%)
Омела (<i>Viscum</i>)	19 / (16%)
Трутовик (<i>Lenzites betulina</i>)	38 / (33%)
Чага (<i>Inonotus obliquus</i>)	25 / (22%)
Бактериальная водянка (фитопатогенная бактерия <i>Erwinia multivora</i>)	23 / (20%)
Кап (капокорень)	11 / (9%)
Всего	116 / (100%)

Из таблицы 2 видно, что в наибольшей степени, произрастающие вдоль экологической тропы деревья, поражены трутовиком (33%) – наименьшее влияние оказывает такой патологический дефект, как капокорень (9%). Вместе с тем, необходимо отметить, что общая степень поражения древесных культур различными видами патологии составляет 12,8%.

Таким образом, анализ санитарного состояния произрастающей вдоль экологической тропы «Надливская гряда» дендрофлоры указывает на необходимость проведения санитарно-оздоровительных мероприятий для ослабленных деревьев с целью повышения эколого-туристической привлекательности экологической тропы, в частности, и ландшафтного заказника, в целом.

Список использованных источников

1. Скарбы прыроды Беларусі – Treasures of Belorussian Nature: Тэрыторыі, якія маюць міжнар. значэнне для захавання біял. разнастайнасці / аут. тэксту і фота А.В. Казулін [і інш.] – 2-ое выд., перапрац., дап. – Мн.: Беларусь, 2005. – 215 с.

2. Касюк В.В., Кузёмкин Д.В. Экологические тропы и маршруты республиканского ландшафтного заказника «Выгонощанское» как объекты экологического туризма / Материалы XII международной молодежной научно-практической конференции, УО «Полесский государственный университет», г. Пинск, 6 апреля 2018 г. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: К.К.Шебеко [и др.]. – Пинск: ПолесГУ, 2018. – 349 с.

3. Ландшафтное планирование и организация объектов экологического туризма: тексты лекций для студентов специальности 1-89 02 02 «Туризм и природопользование» / сост. О. М. Берёзко. – Минск : БГТУ, 2016. – 149 с.

УДК 582.09 (476.7)

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ДЕНДРОФЛОРЫ ШКОЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ Г. ПИНСКА

*Левшук Оксана Николаевна, ст. преподаватель
Полесский государственный университет*

Экоустойчивая, чистая, полноценная пришкольная территория наряду с другими факторами является важной предпосылкой сохранения и укрепления здоровья и развития учащихся. Экологическое состояние окружающей среды школы зависит от наличия и качества зон озеленения. Поэтому важно и актуально владеть объективными данными оценки состояния дендрофлоры школьных территорий, т. к. озеленение этих мест – стало одной из важнейших экологических проблем современности.

Зеленые насаждение могут являться эффективным способом формирования здорового микроклимата. Растительный покров в границах учреждений образования создает естественный круглогодичный биологический фильтр. Эффект от озеленения пришкольной территории благоприятно отразится на эстетическом, рекреационно-оздоровительном, ландшафтном решении жилых комплексов микрорайонов и всего города в целом.

Цель исследования заключалась в проведении инвентаризации зеленых насаждений, определении состояния древесных и кустарниковых растений, выявлении видов которые являются интродуцентами для нашего региона.

Пинск — крупный культурный и промышленный центр Полесья. Город расположен в устье реки Пи́ны впадающей в Припять. Рельеф территории ровный, слабо понижающийся к пойме Пины. Климат — умеренно континентальный. [1].

Систему озеленения города представляет разнообразные по своему функциональному назначению объекты ландшафтной архитектуры: лесопарковая зона «Лу́ги», ряд парков, многочисленные скверы, бульвары, набережная, улицы, сады и зеленые зоны при микрорайонах, больницах и других объектах. Особое место в этой структуре занимают учреждения образования.

В Пинске функционируют 18 общеобразовательных школ, из них три гимназии. Состояние прилегающих территорий этих объектов можно определить из данных проведенной инвентаризации зелёных насаждений. В результате проведенных исследований выявлен также и видовой состав древесно–кустарниковых растений школьных территорий города.

Дендрометрическая оценка зелёных объектов проводилась по следующим показателям: видовое название дерева или кустарника, высота, диаметр ствола, состояние. Для установления видового состава древесной и кустарниковой растительности и его оценки было исследовано 1468 деревьев и 917 кустарников. Жизненное состояние растений характеризовалось пятью классами представленными на рисунке 1.

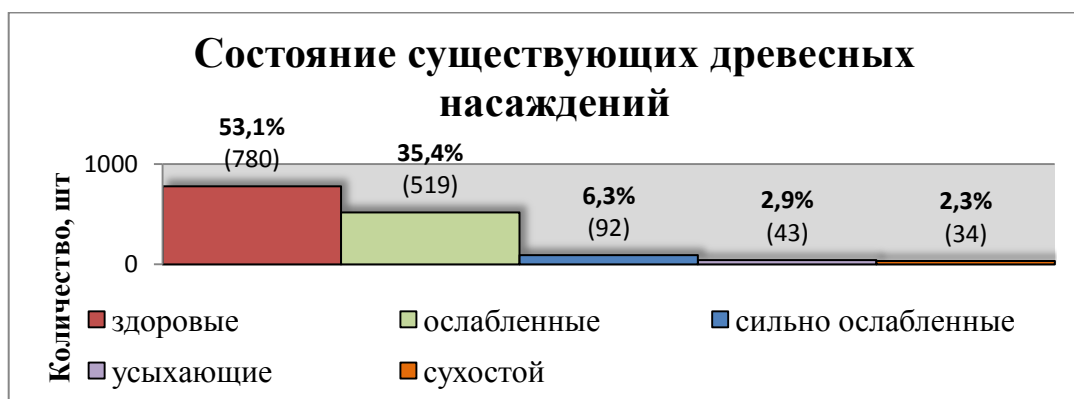


Рисунок 1—Оценка древесных насаждений

На территории школ и гимназий преобладают здоровые растения – 780 шт. (53,1%), не имеющие внешних признаков повреждения кроны, ствола, мертвых и отмирающих ветвей. Ослабленные составили – 519 шт. (35,4%), сильно–ослабленные – 92 шт. (6,3 %), усыхающие – 43шт. (2,9%), сухостой – 34 шт(2,3%).

Жизненное состояние кустарников определено на рисунке 2 тремя классами: хорошее – 702 шт. (76,6%), удовлетворительное – 204 шт. (22,2 %) и неудовлетворительное — 11 шт (1,2 %).

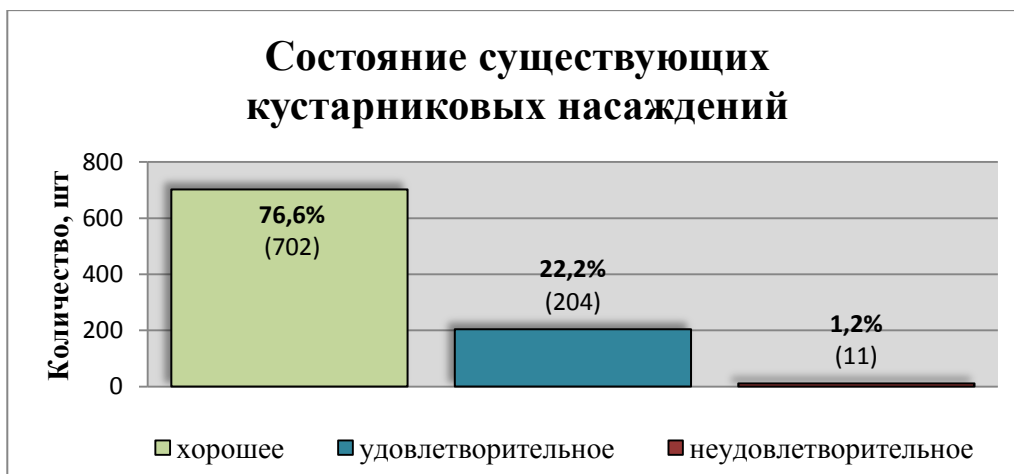


Рисунок 2–Оценка кустарниковых насаждений

Анализ распределения деревьев по возрастным группам выявил, что преобладает средневозрастная (48,8 %) и вергинильная группа (35,8 %) (рисунок 3). Сорок деревьев относятся к ювенильной группе.

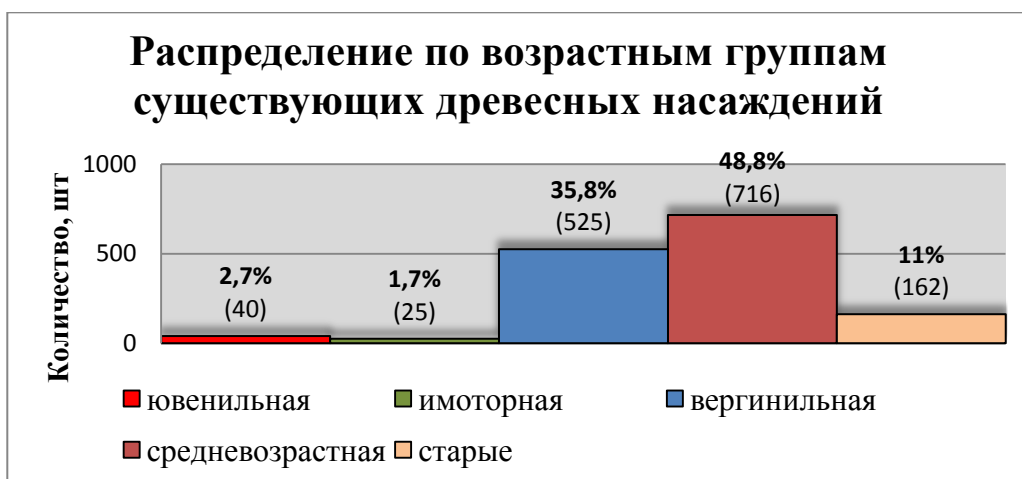


Рисунок 3–Возрастные группы древесных насаждений

На территории школ и гимназий произрастают 37 видов деревьев и 23 вида кустарников. Самыми многочисленными из деревьев являются: *Берёза повислая*, *Вяз обыкновенный*, *Клён остролистный*, *Конский каштан обыкновенный*, *Липа мелколистная*, *Рябина обыкновенная*, *Тополь пирамидальный* и *Ель обыкновенная*. Среди кустарников наиболее популярны: *Туя западная "Смарагд"* и *Глобоза*, *Самшит вечнозелёный*, *Пузыреплодник калинолистный*, *Можжевельник казацкий*, *Дёрен белый*.

Большинство кустарников — интродуценты. Из них самыми распространёнными являются: *Барбарис Тунберга*, *Дёрен белый*, *Магония падуболистная*, *Можжевельник горизонтальный*, *Можжевельник казацкий*, *Пузыреплодник калинолистный*, *Самшит вечнозелёный*, *Спирея японская*, *Туя западная Глобоза* и *Смарагд*.

Среди деревьев – интродуцентов большой удельный вес занимают *Ива повислая*, *Грецкий орех*, *Робиния лжеакация*, *Сумах уксусный*, *Тополь пирамидальный* и *Тополь дельтовидный*. На рисунке 4 показано распределение количества интродуцентов по школам и гимназиям города.

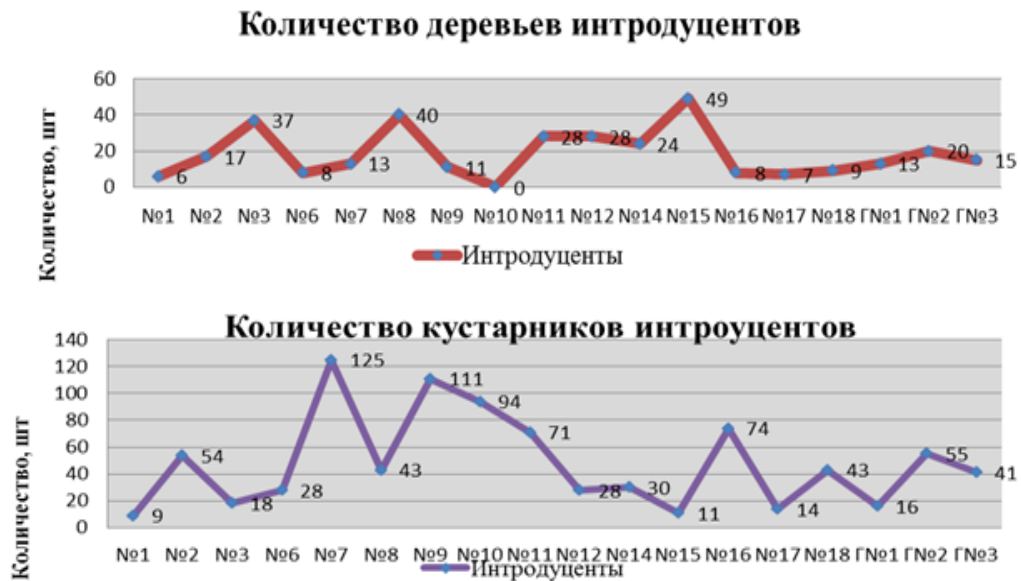


Рисунок 4– Распределение количества интродуцентов по школам и гимназиям

Результаты проведения инвентаризации зеленых насаждений школьных территорий показал, что жизненное состояние большинства деревьев (1299 из 1468) относится к здоровым и ослабленным, 33 дерева – к сухостою. Практически все кустарники находится в хорошем состоянии и только 6 шт. – в неудовлетворительном.

С целью улучшения санитарного состояния дендрофлоры школ и гимназий г. Пинска предлагается увеличить ассортимент древесных и кустарниковых пород устойчивых к агрессивной городской среде, проводить мероприятия по улучшению санитарного состояния дендрофлоры и довести озеленение территорий до необходимой нормы по количеству растений.

Список использованных источников

1. Прокопович Т. М. Атлас географии Беларуси. – Минск: РУП «Белкартография», 2004. – 16 с.

УДК 712.4(1–751.3)(477.81)

КОНСПЕКТ ВИДОВ РАРИТЕТНОЙ ДЕНДРОФЛОРЫ ИСКУССТВЕННЫХ ЗАПОВЕДНЫХ ПАРКОВ РОВЕНСКОЙ ОБЛАСТИ (УКРАИНА)

Покотилова Камила Георгиевна

*Национальный университет биоресурсов и природопользования
Украины*

В ботанических исследованиях дендрофлоры искусственных заповедных парков одной из главных задач является выделение ее раритетной фракции. В Украине к этой категории парков отнесены ботанические сады, дендропарки, парки–памятники садово–паркового искусства и зоопарки. Раритетность определялась по предмету принадлежности каждого вида растений к Красному списку Международного союза охраны природы и природных ресурсов (МСОП), Европейскому Красному списку (ЕКС), перечню видов растений Бернской конвенции (БК) и Красной книге Украины (ККУ) [4, 1, 2, 3].

На территориях объектов исследования обнаружено 156 дендрораритетов, из которых 35,9 % *Pyrophyta* и 64,1% *Magnoliophyta*. Почти все они отмечаются в списках МСОП (151 вид). Среди них преобладают виды категории «Least Concern» (LC) – 116 видов, по десять видов – категории «Endangered» (EN) и «Near Threatened» (NT), восемь видов категории «Data Deficient» (DD) и пять видов – «Vulnerable» (VU). К Европейскому Красному списку относится 11 видов категорий «редкие» (R) и «уязвимые» (V). В списках Бернской конвенции обнаружен только один вид – *Syringa josikaea* J. Jacq. ex Rchb. f. В Красную книгу Украины внесены девять видов.

По нашему мнению, наиболее ценными считаются виды растений, указанные в нескольких списках одновременно (таблица).

Таблица – Дендрораритеты искусственных заповедных парков Ровенской области

Латинские названия вида растений	Красный список	Категория
<i>Abies alba</i> Mill.	МСОП	LC
<i>Abies balsamea</i> (L.) Mill.	МСОП	LC
<i>Abies concolor</i> Lindl Gord	МСОП	LC
<i>Abies fraseri</i> (Pursh) Poir.	МСОП	EN
<i>Abies holophylla</i> Maxim.	МСОП	NT
<i>Abies nordmaniana</i> Ledeb. (Steven) Spach	МСОП	LC
<i>Abies pinsapo</i> Boiss.	МСОП, ЕКС	EN, V
<i>Abies sachaliensis</i> Mast.	МСОП	LC
<i>Abies sibirica</i> Ledeb.	МСОП	LC
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> Parl.	МСОП	NT

Продолжение таблицы

Латинские названия вида растений	Красный список	Категория
<i>Chamaecyparis pisifera</i> (Sieb. et Zucc.) Endl.	МСОП	LC
<i>Cryptomeria japonica</i> (L. f.) D. Don	МСОП	NT
<i>Ginkgo biloba</i> L.	МСОП	EN
<i>Juniperus horizontalis</i> Moench.	МСОП	LC
<i>Juniperus rigida</i> Sieb et Zucc.	МСОП	LC
<i>Juniperus squamata</i> Buch.-Ham. ex D.Don	МСОП	LC
<i>Juniperus virginiana</i> L.	МСОП	LC
<i>Juniperus communis</i> L.	МСОП	LC
<i>Juniperus sabina</i> L.	МСОП	LC
<i>Larix desidua</i> Mill.	МСОП	LC
<i>Larix gmelinii</i> RuprKuzen	МСОП	LC
<i>Larix kaempferi</i> (Lamb.) Carriere	МСОП	LC
<i>Larix laricina</i> (Du Roi) C. Koch	МСОП	LC
<i>Larix polonica</i> Racib.	ККУ	
<i>Larix sibirica</i> Ledeb.	МСОП	LC
<i>Metasequoia glyptostroboides</i> Hu et Cheng.	МСОП	EN
Продолжение таблицы <i>icea engelmannii</i> Parry ex Engelm.	МСОП	LC
<i>Picea asperata</i> Mast.	МСОП	VU
<i>Picea glauca</i> Moench Voss	МСОП	LC
<i>Picea jezoensis</i> (Siebold & Zucc.) Carriere	МСОП	LC
<i>Picea mariana</i> (Mill.) Britton Sterus & Poggenb.	МСОП	LC
<i>Picea maximowiczii</i> Regel ex Mast.	МСОП	EN
<i>Picea obovata</i> Ldp.	МСОП	LC
<i>Picea omorica</i> (Pancic) Purk.	МСОП, ЕКС	EN, R
<i>Picea pungens</i> Engelm.	МСОП	LC
<i>Picea rubens</i> Sarg.	МСОП	LC
<i>Picea schrenkiana</i> Fish. & C. A. Mey.	МСОП	LC
<i>Pinus banksiana</i> Lamb.	МСОП	LC
<i>Pinus cembra</i> L.	МСОП	LC
<i>Pinus koraiensis</i> Siebold & Zucc.	МСОП	LC
<i>Pinus monticola</i> Douglas ex D. Don	МСОП	NT
<i>Pinus nigra</i> J. F. Arnold	МСОП	LC
<i>Pinus peuce</i> Griseb.	МСОП	NT
<i>Pinus resinosa</i> Aiton	МСОП	LC
<i>Pinus sibirica</i> Du Tour	МСОП	LC
<i>Pinus strobus</i> L.	МСОП	LC
<i>Pinus sylvestris</i> L.	МСОП	LC
<i>Pinus wallichiana</i> A B Jacks	МСОП	LC
<i>Platycladus orientalis</i> (L.) Franco	МСОП	NT
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	МСОП	LC

Продолжение таблицы

Латинские названия вида растений	Красный список	Категория
<i>Taxus baccata</i> L.	МСОП, ККУ	LC, V
<i>Taxus cuspidata</i> Siebold & Zucc.	МСОП	LC
<i>Thuja occidentalis</i> L.	МСОП	LC
<i>Thuja plicata</i> Donn ex DDon	МСОП	LC
<i>Thuja standishii</i> (Gordon) Carriere	МСОП	NT
<i>Tsuga canadensis</i> Carriere	МСОП	NT
<i>Acer campestre</i> L.	МСОП	LC
<i>Acer cappadocicum</i> Gled.	МСОП	LC
<i>Acer heldreichii</i> Orph. ex Boiss	МСОП	LC
<i>Acer monspessulanum</i> L.	МСОП	LC
<i>Acer negundo</i> L.	МСОП	LC
<i>Acer platanoides</i> L.	МСОП	LC
<i>Acer saccharinum</i> L.	МСОП	LC
<i>Acer velutinum</i> Boiss.	МСОП	LC
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	МСОП	LC
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	МСОП	VU
<i>Alnus glutinosa</i> P. Gaerth	МСОП	LC
<i>Alnus incana</i> (L.) Mocnch	МСОП	LC
<i>Alnus japonica</i> (Thunb.) Steud	МСОП	LC
<i>Alnus rubra</i> Bong.	МСОП	LC
<i>Amorpha californica</i> Nutt. Ex Torr. & Gray	МСОП	LC
<i>Aralia chinensis</i> Nakai	МСОП	VU
<i>Armeniaca vulgaris</i> Mill	МСОП	EN
<i>Berberis canadensis</i> Mill.	МСОП	VU
<i>Betula alleghaniensis</i> Britton.	МСОП	LC
<i>Betula dahurica</i> Pall.	МСОП	LC
<i>Betula ermanii</i> Cham.	МСОП	LC
<i>Betula lenta</i> L.	МСОП	LC
<i>Betula maximowicziana</i> Regel.	МСОП	LC
<i>Betula nigra</i> L.	МСОП	LC
<i>Betula occidentalis</i> Hook.	МСОП	LC
<i>Betula papyrifera</i> Marshall	МСОП	LC
<i>Betula pendula</i> Roth	МСОП	LC
<i>Betula populifolia</i> Marsh.	МСОП	LC
<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	МСОП	LC
<i>Betula raddeana</i> Trautv.	МСОП	LC
<i>Betula schmidtii</i> Regel	МСОП	LC
<i>Carpinus betulus</i> L.	МСОП	LC
<i>Celtis australis</i> L.	МСОП	LC
<i>Cerasus mahaleb</i> (L.) Mill	МСОП	LC
<i>Cercis chinensis</i> Bunge	МСОП	LC

Продолжение таблицы

Латинские названия вида растений	Красный список	Категория
<i>Cornus mas</i> L.	МСОП	LC
<i>Cornus sericea</i> L.	МСОП	LC
<i>Corylus avellana</i> L.	МСОП	LC
<i>Corylus colurna</i> L.	МСОП	LC
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq	МСОП	LC
<i>Euonymus nana</i> M. Bieb.	ККУ	V
<i>Euonymus verrucosa</i> Scop	МСОП	LC
<i>Fagus orientalis</i> Lipsky	МСОП	LC
<i>Forsythia europaea</i> Degen et Bald.	МСОП, ЕКС	LC, R
<i>Forsythia ovata</i> Nakai	МСОП	EN
<i>Fraxinus americana</i> L.	МСОП	CR
<i>Fraxinus latifolia</i> Benth.	МСОП	NT
<i>Fraxinus ornus</i> L.	МСОП, ККУ	LC, R
<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marshall	МСОП	CR
<i>Juglans regia</i> L.	МСОП	LC
<i>Liriodendron tulipifera</i> L.	МСОП	LC
<i>Maackia amurensis</i> Rupr.	МСОП	LC
<i>Malus fusca</i> (Raf.) C. K. Schneid.	МСОП	LC
<i>Malus niedzwetzkyana</i> Diek ex Koehne	МСОП	EN
<i>Malus zumi</i> (Matsum.) Rehder	МСОП	DD
<i>Malus sylvestris</i> (L.) Mill.	МСОП, ЕКС	DD
<i>Mespilus germanica</i> L.	МСОП	LC
<i>Platanus orientalis</i> L.	МСОП	DD
<i>Populus nigra</i> L.	МСОП	DD
<i>Populus tremula</i> L.	МСОП	LC
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	МСОП, ЕКС	LC
<i>Prunus cocomilia</i> Ten	МСОП, ЕКС	LC, R
<i>Prunus jacquemontii</i> Hook.f.	МСОП	DD
<i>Prunus padus</i> L.	МСОП, ЕКС	LC
<i>Prunus spinosa</i> L.	МСОП	LC
<i>Pterocarya pterocarpa</i> Kunth. ex I. Iljinsk.	МСОП	LC
<i>Pyrus communis</i> L.	МСОП	LC
<i>Quercus castaneifolia</i> C. A. Mey.	МСОП	LC
<i>Quercus dentata</i> Thunb.	МСОП	LC
<i>Quercus imbricaria</i> Michx	МСОП	LC
<i>Quercus libani</i> G. Oliver	МСОП	LC
<i>Quercus palustris</i> Muench	МСОП	LC
<i>Quercus petraea</i> Liebl.	МСОП	LC
<i>Quercus robur</i> L.	МСОП	LC
<i>Quercus rubra</i> L.	МСОП	LC
<i>Rhamnus cathartica</i> L.	МСОП	LC

Окончание таблицы

Латинские названия вида растений	Красный список	Категория
<i>Rhamnus tinctorius</i> Waldst. & Kit.	ККУ	R
<i>Rhododendron luteum</i> Sweet.	ЕКС	
<i>Robinia neomexicana</i> A. Grey	МСОП	LC
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	МСОП	LC
<i>Salix cinerea</i> L.	МСОП	LC
<i>Salix myrtilloides</i> L.	ККУ	V
<i>Salix purpurea</i> L.	МСОП	LC
<i>Salix alba</i> L.	МСОП	LC
<i>Sambucus racemosa</i> L.	МСОП	VU
<i>Sorbus aria</i> (Hedl.)Krylov	МСОП	LC
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	МСОП	LC
<i>Sorbus intermedia</i> (Ehrh.)Pers.	МСОП	LC
<i>Sorbus mougeotii</i> Soy.-Will. & Gord.	МСОП	LC
<i>Sorbus torminalis</i> (L.) Crantz	МСОП, ККУ	LC, N
<i>Staphylea pinnata</i> L.	МСОП	LC
<i>Syringa josikaea</i> J.Jacq. ex Rchb.f.	МСОП, ККУ, ЕКС, БК	DD, V
<i>Syringa reticulata</i> (Blume) H. Hara	МСОП	LC
<i>Syringa vulgaris</i> L.	МСОП	LC
<i>Tilia americana</i> L.	МСОП	LC
<i>Tilia cordata</i> Mill.	МСОП	LC
<i>Ulmus glabra</i> Huds.	МСОП	DD
<i>Ulmus laevis</i> Pall.	МСОП	DD
<i>Vitis vinifera</i> L.	МСОП, ЕКС	LC
<i>Zelkova carpinifolia</i> (Pall.) K. Koch	МСОП	NT

Таким образом, из 156 видов растений один вид принадлежит к четырем спискам (МСОП, ЕКС, БК, ККУ), 11 видов – двум спискам (8: МСОП, ЕКС; 3: МСОП, ККУ), 144 вида (92,31 %) – одному списку (МСОП).

Список использованных источников

1. Европейский Красный список животных и растений, находящихся под угрозой исчезновения во всемирном масштабе. Нью-Йорк, 1992 – 167 с.
2. Конвенція про охорону дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі (Берн, 1979). – К.: Мінекобезпеки України, 1998 – 76 с.
3. Червона книга України. Рослинний світ / ред. Я. П. Дідух. – К: Глобал-колсалтинг, 2009 – 900 с.
4. The IUCN Red List of Threatened Species, 2018. [Electronic resource]. – Mode of access <http://www.iucnredlist.org>.

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА ПРОПУСКНУЮ СПОСОБНОСТЬ ВОДОТОКА НА ПРИМЕРЕ КАНАЛА ОРЕХОВСКИЙ (УЧАСТОК ЗВАНЕЦ)

*Ракицкий Александр Иванович, старший преподаватель
Полесский государственный университет*

Водный баланс поверхностных вод Республики Беларусь на 36% зависит от поступления со смежных территорий (Россия и Украина). Основными источниками поступления транзитных вод (60%) являются две реки Западная Двина и Припять, остальную часть делят реки Сож и Днепр. Учет поступления поверхностных вод ведется по створам больших и малых рек. Общая протяженность рек на территории Республики Беларусь составляет 90,6 тыс. км. Влияние трансграничных каналов на поступление воды слабо

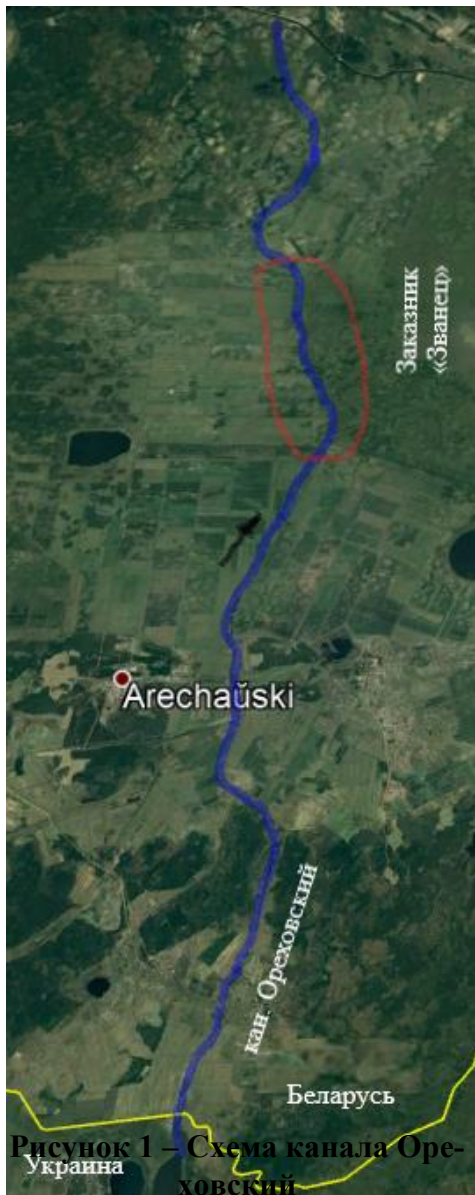


Рисунок 1 – Схема канала Ореховский

изучено. Общая протяженность открытых каналов составляет более 170 тыс. км. это в 2 раза больше чем автомобильных дорог общего значения и 1,9 раза длиннее рек. В современном состоянии каналы подвержены влиянию растительности, зарастают берега, пойма и русло. Оценка влияния растительности на уровненный режим канала выполнена в работе [1, с.10]. Объектом исследования является канал Ореховский на участке заказника «Званец». Канал Ореховский является трансграничным магистральным каналом, протяженностью 31,076 км. с площадью водосбора 1074 км². Построен в 1905–1910 гг. для обеспечения Днепровско–Бугского канала водой из озера Ореховское (Украина). С правой стороны канала Ореховский (с 8,0 км. по 13,3 км.) расположен заказник «Званец» (на рисунке 1 обведен красной линией). В период с 1960 – 1980 гг. вдоль канала были построены польдерные мелиоративные системы. В современном состоянии большая часть поймы заросла. Откосы канала крутые, заросли густым кустарником.

Работы по реконструкции канала проводились дважды в 1973 г. и 2013 г. [2, с.4].

Оценка влияния растительности на пропускную способность канала выполнена

путем сравнения 2–х вариантов гидравлического расчета. Вариант 1. Определение пропускной способности канала в условиях, когда берега заросли. Вариант 2. Определение пропускной способности канала в условиях, когда берега свободны от растительности. Гидравлический расчет канала выполнены на участке с 8 км. по 13 км., на этом участке с правой стороны к каналу примыкает заказник «Званец». Гидравлический расчет канала выполнен в электронной программе «HEC–RAS». Исходные данные (состояние русла, поймы и сечение канала) для расчета приняты из [2, с. 6]. Расчетным периодом принят летне–осенний паводок (ЛОП) 10% обеспеченности [3, с.8]. Коэффициент шероховатости принят в зависимости от состояния русла на расчетном участке и расчетного периода [3, с. 103]. Коэффициенты шероховатости представлены в таблице 1.

Таблица 1– Коэффициент шероховатости канала

Расчетный период	Пойма (левая)	Берег (левый)	Русло	Берег (правый)	Пойма (правая)
ЛОП 10%	ДКР, тростник	ДКР, тростник	Чисто	ДКР, тростник	ДКР, тростник
	0,05	0,05	0,033	0,05	0,05

Результаты расчета пропускной способности представлены в таблице 2 и на рисунке 2.

Таблица 2 – Расчетные расходы, м³/с.

Водоток	Км. от устья	Вариант 1	Вариант 2	Отклонение	
				в метрах	в %
Канал Ореховский	9	7.47	13.86	6.39	86
	10	6.78	7.57	0.79	12
	11	11.65	12.98	1.33	11
	12	8.7	9.91	1.21	14
	13	6.54	7.45	0.91	14

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что пропускная способность канала Ореховский во втором варианте выше в среднем на 2,2 м³/с (27%), что позволяет в среднем пропустить на 190,1 тыс. м³ воды в сутки больше.

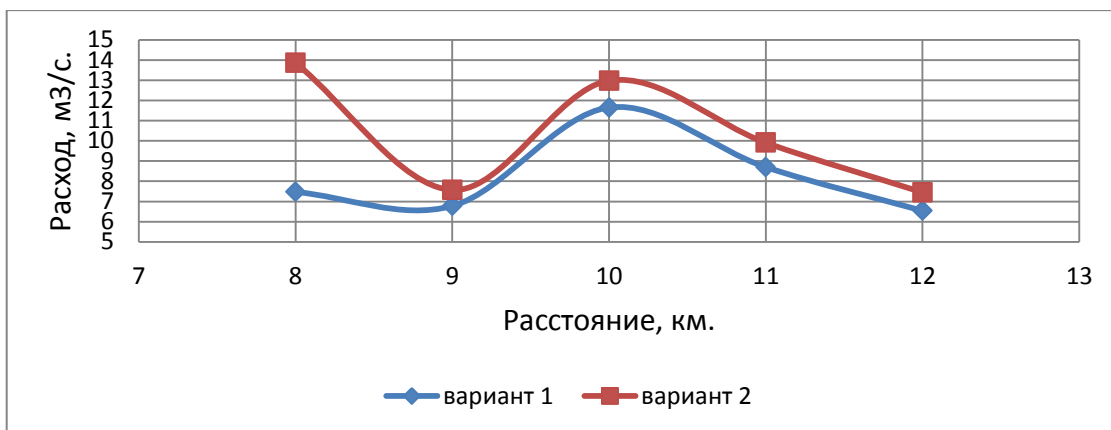


Рисунок 2 – Расход воды по вариантам

На примере канала Ореховский (участок Званец) показано влияние растительности на пропускную способность водотока. Не своевременное проведение регламентных работ по удалению растительности с берегов канала Ореховский приводит к его зарастанию. Наличие растительности по откосам канала снижает пропускную способность водотока, что приводит к следующим негативным моментам: снижение поступления воды с территории Украины; ежегодное не до получение воды в систему водообеспечения Днепровско–Бугского канала; приводит к повышению уровня воды канала Ореховский на участке заказника «Званец» которые влияют на гидрологический режим болот заказника.

С целью увеличения поступления воды со смежных территорий необходимо поддерживать и доводить до состояния, в котором водоток не тормозит поступления воды на территорию. Для снижения стока воды с территории Беларуси в другие страны можно использовать растительность водотока как элемент торможения.

Список использованных источников

1. Шкутов, Э.Н. Методика расчета управляющих воздействий и алгоритма управления водным режимом осушительных систем при использовании водной растительности для торможения местного стока / Э.Н. Шкутов, В.П. Иванов, А.И. Ракицкий // Мелиорация. – 2017. №2(80). – С. 10–22.
2. Строительный проект «Реконструкция водоприемника–канала Ореховский Кобринского района Брестской области» //Архив ОАО «Полесьегипроводхоз». – Д. 35821. Л. 4–13.
3. Мелиоративные системы и сооружения. Нормы проектирования. = Меліарацыйныя сістэмы і збудаванне. Нормы праектавання: ТКП 45–3.04–8–2005 (02250). – Введ. 01.11.2005. – Минск: Стройтехнорм, 2006. – 105 с.

УДК 712.2.025 (476.7)

АНАЛИЗ ДЕНДРОФЛОРЫ СТАРИННОГО ПАРКА «НОВО–БЕРЕЖНОВСКИЙ»

*Чигрин Наталия Александровна, к.б.н., доцент
Блох Валентина Геннадьевна
Полесский государственный университет*

Вопросы изучения и охраны объектов природно–заповедного фонда Республики Беларусь есть актуальными, поскольку такие территории представляют историко–культурную, эстетическую и дендрологическую ценность и являются национальным достоянием страны.

Ботанический памятник природы местного значения «Ново–Бережновский» (далее БППМЗ «Ново–Бережновский») расположен в Столинском районе Брестской области. Границами парка на севере является поселок Ново–Бережное и сад сельскохозяйственного производственного кооператива «Бережное», на востоке, юге и западе – сельскохозяйственный производственный кооператив «Бережновский» [1, с.1 – 2].

Территория усадьбы с сохранившимся в центре двухэтажным домом имеет форму вытянутого прямоугольника и занимает площадь 6 га. Но главной особенностью пейзажного натуралистического парка является его достаточно богатый состав дендрофлоры.

Анализ литературных источников, имеющихся в нашем распоряжении, показал, что большинство исследований были направлены на изучение родословной Олешей – владельцев усадьбы с XVI века [2, с. 13 – 15; 3 с. 507 – 509; 4 с. 309 – 311]. Поэтому целью наших исследований было определение качественного состояния древесных насаждений и выявление старовозрастных экземпляров, а также редких видов растений. Объект изучения – дендрофлора БППМЗ «Ново–Бережновский».

Санитарное состояние растений определяли по внешним признакам согласно шкале категорий состояния хвойных и лиственных деревьев (Постановление лесного хозяйства Республики Беларусь от 19.12.2016 №79 «Санитарные правила в лесах Республики Беларусь»), таксономическая принадлежность проведена по характерным морфологическим видовым признакам, номенклатура таксонов представлена согласно С.К. Черепанову [5].

В результате полевых обследований, проведенных в октябре 2018 г. учтено 1613 объектов дендрофлоры, из которых 1554 древесных растений, 36 кустарников и 23 лианы. Таким образом, соотношение указанных выше трех групп древесных растений представлено как 54:1:1.

Выявленные нами 36 видов растений относятся к 27 родам, которые входят в 14 семейств. По данным таблицы 1 следует, что наиболее богаты видовым составом семейства сосновые (*Pinaceae*) и розовые (*Rosaceae*) – по 6 родов. Семейства берёзовые (*Betulaceae*), ивовые (*Salicaceae*) и буковые (*Fagaceae*) представлены двумя родами, остальные 9 включают по одному роду. Состав древесных растений исследуемого садово–паркового ланд-

шафта представлен в основном отделом Покрытосеменные (12 семейств, 20 родов, 26 видов), причем наиболее численным является семейство берёзовые (*Betulaceae*) за счет *Carpinus betulus* L., доля которого в насаждениях составляет 42,6%. Доминантами из древесных пород также являются: *Quercus robur* L. (13,5%), *Betula pendula* L. (7,4%), *Acer platanoides* L. (7,4%), *Tilia cordata* Mill. (5,5%), *Fraxinus excelsior* L. (3,7%), *Acer pseudoplatanus* L. (3,4%), *Populus tremula* L. (3,0%), *Robinia pseudoacacia* L. (2,8%), остальные породы менее 2,0%

Доля хвойных растений класса голосеменные в структуре насаждений старинного парка незначительна 4,9 %, хотя довольно богата видовым составом 10 видов 7 родов 2-х семейств.

Таблица 1 – Таксономический состав дендрофлоры БППМЗ «Ново-Бережновский»

№ п/п	Название семейства	Систематические единицы		Количество растений
		Количество родов	Количество видов	
Отдел Голосеменные – <i>Pinophyta</i>				
1	Сосновые <i>Pinaceae</i>	6	9	78
2	Тисовые <i>Taxaceae</i>	1	1	1
Отдел Голосеменные – <i>Pinophyta</i>				
3	Березовые <i>Betulaceae</i>	2	2	806
4	Буковые <i>Fagaceae</i>	2	3	223
5	Маслиновые <i>Oleaceae</i>	1	1	60
6	Сапидиновые <i>Sapindaceae</i>	2	3	180
7	Ивовые <i>Salicaceae</i>	1	2	57
8	Мальвовые <i>Malvaceae</i>	1	3	92
9	Вязовые <i>Ulmaceae</i>	1	2	5
10	Розовые <i>Rosaceae</i>	6	6	41
11	Крушиновые <i>Rhamnaceae</i>	1	1	*
12	Бобовые <i>Fabaceae</i>	1	1	46
13	Бересклетовые <i>Celastraceae</i>	1	1	1
14	Виноградовые <i>Vitaceae</i>	1	1	23
Итого:		27	36	1613

*представители семейства *Rhamnaceae* представленные в насаждениях парка *Frángula álnus* L. учету не подвергались, поскольку составляли плотные куртины большого размера.

Доля хвойных растений класса голосеменные в структуре насаждений старинного парка незначительна 4,9 %, хотя довольно богата видовым составом 10 видов 7 родов 2-х семейств.

Одним из показателей декоративности древесных насаждений является их санитарное состояние. Из данных таблицы 2 следует, что доля усыхающих и сухостойных деревьев в насаждении парка составляет 3,74 %.

Это, как правило, представители семейства *Pinaceae*. В хорошем состоянии находятся 46,78% растений, которые не имеют признаков ослабления.

Санитарное состояние кустарников определялось по трёх бальной шкале. Таким образом, в хорошем состоянии (без признаков ослабления) находится половина обследованных растений данной группы, удовлетворительное (ослабленные и сильно ослабленные) – 44,4%, неудовлетворительное (усыхающие и сухостойные) – 5,6%.

Таблица 2 – Санитарное состояние древесных растений БППМЗ «Ново-Бережновский»

№ п/п	Семейство	Количество растений, шт.					
		Категория состояния					
		I	II	III	IV	V	VI
1	Березовые <i>Betulaceae</i>	353	352	79	5	7	10
2	Бобовые <i>Fabaceae</i>	17	24	1	1	2	1
3	Буковые <i>Fagaceae</i>	133	72	12	2	2	2
4	Вязовые <i>Ulmaceae</i>	2	3	–	–	–	–
5	Ивовые <i>Salicaceae</i>	23	28	4	1	1	–
7	Мальвовые <i>Malvaceae</i>	39	36	16	0	0	1
8	Маслиновые <i>Oleaceae</i>	24	28	5	2	–	1
9	Розовые <i>Rosaceae</i>	–	3	3	–	–	–
10	Сапидновые <i>Sapindaceae</i>	111	49	16	3	–	1
11	Сосновые <i>Pinaceae</i>	25	21	16	2	8	6
12	Тиссовые <i>Taxaceae</i>	–	1	–	–	–	–
Итого:		727	617	152	16	20	22

Результаты анализа материалов свидетельствуют о том, что состав древесных растений в насаждениях представлен 36 видами, которые относятся к двум отделам, 2 классам, 9 порядкам, 14 семействам и 27 родам. Дендрофлора отдела Голосеменные (*Pinophyta*) составляет 4,9 %, в том числе 10 видов 2 семейства. Наибольшим количеством родов представлены семейства сосновые (*Pinaceae*) и розовые (*Rosaceae*) – по 6 родов. Наибольшим количеством растений представлены роды: *Carpinus*, *Quercus*, *Betula*, *Acer*, *Tilia*, *Fraxinus*, *Populus*, *Robinia*.

Санитарное состояние большинства обследованных деревьев в целом хорошее (46,78 %). Доля ослабленных составляет (39,70%), сильно ослабленных (9,78%), усыхающих (1,03%), сухостоя текущего года (1,29%), сухостоя прошлых лет (1,42%). Поэтому необходимо провести рубки промежуточного пользования – выборочно-санитарные и рубки ухода.

Список использованных источников

1. О парке «Ново-Бережновский» – ботаническом памятнике природы местного значения [Текст] : Решение Столинского районного исполнительного комитета от 17.06.2008 № 1073. – 2 с.

2. Aftanazy, R. Dzieje rezydencji na dawnych kresach Rzeczypospolitej. Tom 2. Wojewodztwa Brzesko–Litewskie, Nowogrodzkie / R. Aftanazy. – Warszawa. – Zakład Narodowy imienia Ossolinskiх Wydawnictwo, 1992. – 476 с.

3. Федорук, А.Т. Старинные усадьбы Берестейщины / А.Т. Федорук; ред. Т.Г. Мартыненко. – 2-е изд. – Минск: БелЭн, 2006. – 576 с.

4. Несцярчук, Л.М. Замкі, палацы, паркі Берасцейшчыны X – XX стагоддзяў (гісторыя, стан, перспектывы) / Л.М. Несцярчук. – Мн.: БЕЛТА, 2002. – 336 с.

5. Черепанов, С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР) / С.К. Черепанов. – Русское издание. СПб.: Мир и семья, 1995. – 992 с.

УДК 633.878:630*24 (476.7)

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ДРЕВЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «ТУРНЯНСКИЕ ЧЕРНЫЕ БЕРЕЗЫ»

*Чигрин Наталия Александровна, к.б.н., доцент
Блох Валентина Геннадьевна, ассистент
Полесский государственный университет*

В разрешении природоохранной задачи актуальным вопросом является исследования, направленные на изучение состояния редких и исчезающих видов флоры. Основными местами их произрастания есть особо охраняемые природные территории (ООПТ), составляющие государственный заповедный фонд Беларуси.

Среди 6 видов рода *Betula L.*, произрастающих в Республике Беларусь, береза чернокорая (черная) или береза Котула (*Betula obscura* Kotula ex Fiek) является реликтовым видом, представляющим большую научную ценность [1, 2]. В 2005 г. он был включен в третье издание Красной книги Республики Беларусь как вид, нуждающийся в профилактической охране [3, 4]. В новом издании Красной книги Украины *Betula obscura* Kotula ex Fiek имеет природоохранный статус редкого вида [5].

По результатам первой инвентаризации насаждений *Betula obscura* Kotula ex Fiek памятника природы «Турнянские черные березы» (далее ТЧБ) в 2002, проведенной научно–исследовательской экологической группой БрГУ имени А.С. Пушкина и работниками Калининского лесничества было выявлено 102 особи и зафиксирован показатель диаметра их стволов.

Целью исследований было определение количественного состава и качественного состояния насаждений березы чернокорой ботанического памятника природы ТЧБ и разработка рекомендаций по ее сохранению.

Объектом исследования послужили насаждения *Betula obscura* Kotula ex Fiek. В процессе полевых работ, проведенных в октябре 2017 г, использовались методики инвентаризационных исследований на уровне конкретных видов. Качественное состояние растений определяли по внешним признакам согласно шкале категорий состояния хвойных и лиственных деревьев (Постановление лесного хозяйства Республики Беларусь от 19.12.2016 №79 «Санитарные правила в лесах Республики Беларусь»). Полученные

данные обрабатывались методом вариационной статистики с использованием встроенных статистических функций программы MS Excel для Windows.

После преобразования данного участка леса (площадь 11,8 га, квартал 90, выдел 4) в категорию охраняемой территории (от 18.12.2002 г. № 639), работниками Калининского лесничества с 2003 г ежегодно, на протяжении 6-ти лет, осуществлялся осмотр насаждений редкого вида с указанием усохших особей. Из данных таблицы 1 видно, что наибольшее их число (25 шт.) зафиксировано в 2005 году. Допускаем, что причинами этого могли послужить неблагоприятные погодные условия. В частности, по результатам метеорологических наблюдений, август этого года выдался самым сухим за последние десятилетия. Общее количество усохших особей в насаждении за 6 лет составило 41 шт., то есть 40 %.

Таблица 1 – Учет сухостойных стволов *Betula obscura* Kotula ex Fiek ТЧБ (2003–2008 гг.) (По данным Калининского лесничества ГЛХУ «Телеханский лесхоз»)

Год обследования, количество усохших особей <i>B. obscura</i> Kotula ex Fiek						Всего
2003 г.	2004 г.	2005 г.	2006 г.	2007 г.	2008 г.	6
2	3	25	6	1	4	41

Наши исследования 2017 года дали возможность выявить количество живых особей и определить их состояние. Из 102 идентифицированных в 2002 г. деревьев за 9 лет их количество уменьшилась до 21-й особи. При этом лишь 4 из них являются здоровыми, 10 – ослабленными, 6 – сильно ослабленными, 1 – усыхающий, 6 – сухостой текущего года, 17 – сухостой прошлых лет.

В результате проведенной нами повторной инвентаризации был установлен диаметр и прирост стволов деревьев. За 15 лет этот показатель увеличился в среднем на 3,43 см (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение деревьев *Betula obscura* Kotula ex Fiek по ступеням толщины

Порода	Количество деревьев, шт.												Итого	
	60–80 мм	81–100 мм	101–120 мм	121–140 мм	141–160 мм	161–200 мм	201–240 мм	241–280 мм	281–320 мм	321–360 мм	361–400 мм	401–440 мм		441 и выше
<i>B. obscura</i>	0	0	0	1	1	2	6	5	3	3	0	0	0	21
%	0	0	0	4,8	4,8	9,5	28,5	23,8	14,3	14,3	0	0	0	100

Из данных таблицы 3 видно, что диаметр *Betula obscura* Kotula ex Fiek увеличился на 8,2 см, при этом вариабельность показателя, который приходится на 63–летний возраст растений, была очень сильной.

Таблица 3 – Изменение диаметра ствола *Betula obscura* Kotula ex Fiek за 2002 – 2017 гг.

Показатель	2002 г.				2017 г.			
	$\bar{M} \pm m$	Lim.		Cv, %	$\bar{M} \pm m$	Lim.		Cv, %
		min	max			min	max	
Количество объектов, шт.	102				21			
Диаметр ствола деревьев, см	17,4±0,64	8	45	37,58	25,6±1,35	14	36	24,3
Средний прирост диаметра, см	–	–	–	–	3,43±0,25	1	6	33,8

В 2017 г. вариабельность снизилась на 13,28 %, хотя также оставалась высокой. Это дает основание считать, что по изучаемому показателю выжившие экземпляры являются более консолидированными. Несмотря на одинаковые условия произрастания, прирост диаметра был неравномерным, на что указывает коэффициент вариации, находящийся на уровне 33,8 %.

Выводы. Возрастной состав исследованного насаждения березы чернокорой объекта природно–заповедного фонда Республики Беларусь «Турнянские черные березы» относится к группе старых генеративных особей. Количество древесных растений, без учета усохших, довольно незначительное, а санитарное состояние неудовлетворительное.

Популяция реликтового вида *Betula obscura* Kotula ex Fiek за последние 15 лет сократилась на 78 % (с 201 особи в 2002 г. до 21 особи в 2017 г.), причем лишь немногие (4) находятся в хорошем состоянии.

Учитывая вышеизложенное, считаем необходимым: 1) проводить систематические наблюдения в популяциях указанных видов; 2) в насаждениях чернокорой березы вырубить вблизи березу бородавчатую, создающую затенение; 3) произвести подсев семян в этом и прилегающих схожих по экологии экотопах; 4) включить *Betula obscura* Kotula ex Fiek в «Красную книгу Республики Беларусь», как редкий, исчезающий вид.

Список использованных источников

1. Побирушко, В.Ф. Эколого–биологические особенности и внутривидовая изменчивость некоторых видов рода *Betula* L. на границах ареалов (в условиях Беларуси) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / В.Ф. Побирушко ; Ин–т экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича АН Беларуси. – Минск, 1992. – 25 с.
2. Концевая, И.И. Микрклональное размножение редких видов березы, произрастающих в Беларуси / И.И. Концевая, Л.В. Шевцова // Веснік Мазырскага

дзяржаўнага педагагічнага ўніверсітэта імя І. П. Шамякіна. – 2011. – № 1 (30). – С. 8–12.

3. Красная книга Республики Беларусь. Растения: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Национальной Академии Наук Беларуси. – Минск: Беларуская Энцыклапедыя, 2005. – 454 с.

4. Красная книга Республики Беларусь. Растения: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Национальная академия наук Беларуси. – Минск: Беларуская Энцыклапедыя, 2015. – 445 с.

5. Красная книга Украины [Электронный ресурс] / Сосудистые растения. – Режим доступа: <http://redbook-ua.org/ru/category/tracheophyta/>. – Дата доступа: 20.02.2017.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОТЕХНОЛОГИИ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

Безрученко Н.Н., Тыновец С.В. Использование биопрепарата Лепидоцид П в борьбе с розанной листоверткой (<i>Archips rosana</i> L.) на голубике высокорослой.....	3
Бурчик Н.А., Козлова О.Н., Гетко Н.В. Блетилла полосатая (<i>Orchidaceae</i> Juss.) в оранжерейной культуре.....	6
Викс Т.Н., Деревинский А.В. Особенности использования иономембранных субстратов при адаптации растений вишни в условиях <i>ex vitro</i>	8
Кабушева И.Н., Глушакова Н.М., Сак Н.Л. Применение корневина при размножении оранжерейных растений с фитонцидными свойствами.....	11
Каленчук Т.В., Володько И.К., Хрипач В.А. Использование ИФА для определения содержания фитогормонов в луковичных растениях.....	14
Ковзунова О.В., Эрст А.А., Решетников В.Н. Эффекты воздействия электромагнитного излучения низкого уровня мощности на hairy roots представителей рода <i>Silene</i> L.....	16
Кондрацкая И.П., Столепченко В.А., Яхимук А.Н., Чирик О.В., Васько П.П., Решетников В.Н. Клеточные и молекулярно–генетические технологии при создании межвидовых гибридов <i>Alopecurus pratensis</i> L....	19
Кутас Е.Н. Влияние состава питательных сред на регенерационный потенциал интродуцированных сортов <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	23
Пасовец М.В., Водчиц Н.В., Волкова Е.М. Сравнение методик выделения фрагментов ДНК голубики высокой из агарозного геля.....	26
Портянко А.В., Чернобров О.Ю. Особенности введения в культуру <i>in vitro</i> растений голубики высокорослой "Нельсон" (<i>Vaccinium corymbosum</i> "Nelson").....	29
Романчук И.Ю., Анохина В.С., Саук И.Б., Карпиевич В.А. Оценка гибридов люпина узколистного разных поколений по комплексу морфологических, биохимических и молекулярно–генетических признаков.....	31
Сакович В.В., Буснюк Е.В., Жерносеков Д.Д. Очистка ферментов, обладающих молокосвертывающей активностью из культуральной жидкости вешенки обыкновенной (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	34
Спиридович Е.В., Зубарев А.В., Хотляник Н.В., Лазарук Г.В. Биотехнология для устойчивого сохранения генофонда рода <i>Syringa</i> L.....	37
Федоренко М.П., Волотович А.А., Кудряшова О.А. Влияние led–освещения на рост и развитие растений <i>Vaccinium corymbosum</i> L. <i>ex vitro</i> ..	40
Федоренко А.Л. Влияние растений–неживителей на численность <i>Globodera rostochiensis</i> (Ro1).....	43
Федоренко С.В. Разработка лабораторного метода оценки устойчивости к дитиленхозу селекционного материала картофеля.....	44
Чирик О.В. Протеомные методы в биотехнологии растений.....	47
БИОТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ И АКВАКУЛЬТУРЕ	
Водчиц Н.В., Розумец А.В., Волкова Е.М., Ярмош В.В. Сравнение методов выделения ДНК из тканей африканского клариевого сома.....	50
Ильчук И.А., Никандров В.Н. Содержание сухого вещества в клетках <i>Chlorella vulgaris</i> в состоянии хлороза и добавлении $MnCl_2$ в питательную среду.....	53

Козырь А.В., Цвирко Л.С. Влияние аквапонного pft-модуля на темпы массонакопления клариевого сома (<i>Clarias gariepinus</i> B., 1868).....	57
Натынчик Т.М., Космович Е.Ю., Савенков О.И., Макаревич Я.В. Повышение продуктивного действия кукурузного силоса за счет включения комплексных кормовых добавок.....	59
Натынчик Т.М., Космович Е.Ю., Савенков О.И., Макаревич Я.В. Зависимость рубцового пищеварения и эффективности использования кормов молодняком крупного рогатого скота от степени измельчения зерна бобовых.....	62
Петрукович Т.В. Воспроизводительные качества племенных петухов в зависимости от использования в рационах различных доз пророщенного зерна овса с селемагом.....	65
Ярмошевич Ю.А., Астренков А.В. Влияние консервирующих компонентов на микробиологические показатели в готовой продукции.....	68
Ярмошевич Ю.А., Астренков А.В. Перспективы развития кормопроизводства в аквакультуре Республики Беларусь.....	70
БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ	
Жук О.Н., Камельчук Я.С., Грушевская Д.А., Лагодич Г.А. Влияние природного штамма <i>Azotobacter chroococcum</i> на ростовые характеристики тритикале (<i>Triticosecale</i>).....	72
Кудин К.В., Сауткина Н.В., Адамонис Я.В., Прокулевич В.А. Создание конструкции на основе вектора серии рЕТ для экспрессии гена капсидного белка вируса диареи крупного рогатого скота в штаммах <i>E. Coli</i>	75
Кудин К.В., Кудина И.В., Прокулевич В.А. Влияние препарата «Биферон-С» на основе рекомбинантных цитокинов на рост, развитие и иммунизацию поросят к ЦВС-2.....	78
Подольский Д.Э. Динамика митохондриального мембранного потенциала в клеточной популяции <i>Saccharomyces cerevisiae</i> при дыхании и брожении на разных фазах роста.....	81
Сауткина Н.В., Костюшевская М.А., Прокулевич В.А. Влияние дополнительных источников углерода и энергии в составе рыбного бульона на интенсивность накопления пигмента виолацеина штаммами бактерий <i>Janthinobacterium lividum</i>	84
Сауткина Н.В., Бусленко А.В., Прокулевич В.А. Оптимизация хроматографической очистки рекомбинантного фьюжн-белка SUMO-Esc-b(1-20).....	87
БИОТЕХНОЛОГИИ В ГЕНЕТИКЕ И МЕДИЦИНЕ	
Глинская Н.А., Сильченко Е.С., Гречная Е.Д. Мясная продуктивность крупного рогатого скота абердин-ангусской породы.....	91
Kapustianenko L.G., Iusova O.I., Zhernossekov D.D., Grinenko T.V. Platelets are able to conversion of endogenous plasminogen to fragments and to sort them.....	92
Королевич В.М., Блажиньска П., Сыкула А., Лодыга-Хрустинска Е. Анализ физико-химических свойств 2'-гидроксифлаванона и его производного на основе модификации Шиффа.....	96
Крылова Н.Г., Коваленко Е.А., Жолнеревич И.И., Ильич Т.В., Корень С.В. Функциональная активность митохондрий при действии хинон-содержащих комплексов УНТ/ДНК.....	99
Левковец Л.И., Лебедь Т.Л. Полиморфизм генов серотониновой	102

нейромедиации у подростков с девиантным поведением.....	
<i>Левковец Л.И., Шашко Т.В., Лебедь Т.Л.</i> Генетика атопических состояний.....	104
<i>Рыжыкава М.В., Чарнышэнка Ё.А., Гудзь Я.А., Лабынцаў А.Ю.</i> N-стэараілэтаноламін прыгнечвае агрэгацию трамбацытаў чалавека.....	107
НАУЧНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ	
<i>Blazińska P., Korolevich V., Sykuła A., Łodyga-Chruścińska E.</i> Novel thiocarbohydrazone derivative of flavanone.....	110
<i>Войцеховская Е.А.</i> Содержание фенольных соединений в листьях некоторых сортов рода <i>Paeonia</i> L., произрастающих в Республике Беларусь.....	112
<i>Волкова В.В.</i> Актуальность сохранения естественных природных комплексов.....	114
<i>Гетко Н.В., Амесленко Е.В., Шамшур Г.Ч., Шамшур Г.Ч.</i> Пигментный фонд листьев представителей рода <i>Citrus</i> L. в апельсиновой культуре.....	117
<i>Деева А.М., Чижик О.В., Решетников В.Н.</i> Углеводный комплекс листьев <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	120
<i>Кузёмкин Д.В., Касюк В.В.</i> Анализ дендрофлоры экологической тропы «Надливская гряда» ландшафтного заказника республиканского значения «Выгонощанское».....	122
<i>Левшук О.Н.</i> Оценка состояния дендрофлоры школьных территорий г. Пинска.....	125
<i>Покотилова К.Г.</i> Конспект видов раритетной дендрофлоры искусственных заповедных парков Ровенской области (Украина).....	129
<i>Ракицкий А.И.</i> Влияние растительности на пропускную способность водотока на примере канала Ореховский (участок Званец).....	134
<i>Чигрин Н.А., Блох В.Г.</i> Анализ дендрофлоры старинного парка «Ново-Бережновский».....	137
<i>Чигрин Н.А., Блох В.Г.</i> Оценка состояния древесных насаждений памятника природы «Турнянские черные березы».....	140

Научное издание

**СБОРНИК
материалов III международной
научно–практической конференции**

«БИОТЕХНОЛОГИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»

**Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь,
22–23 ноября 2018 г.**

За содержание и достоверность информации
в материалах сборника отвечают авторы

Подписано в печать 15.11.2018. Бумага типографская
Формат 60x84/16 Гарнитура Times
Усл. печ. л. 8,54. Уч.–изд. л. 7,94. Тираж 50. Заказ № 665.

Отпечатано в учреждении образования «Полесский государственный университет»
225710, г. Пинск, ул. Днепровской флотилии, 23