

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

МИНСК. БЕЛОРУССКАЯ НАУКА. 2022. ТОМ 66. № 4

Выходит шесть номеров в год

Журнал основан в июле 1957 года

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 387 от 18.05.2009.

*Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных
Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)*

Главный редактор

Владимир Григорьевич Гусаков

Председатель Президиума Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

Редакционная коллегия

А. В. Кильчевский

заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
(заместитель главного редактора)

Т. П. Петрович

(ведущий редактор журнала)

С. В. Абламейко – Белорусский государственный университет, Республика Беларусь

П. А. Витязь – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

И. Д. Волотовский – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,
Республика Беларусь

С. В. Гапоненко – Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, Республика Беларусь

А. Я. Григорьев – Институт механики металлополимерных систем имени В. А. Белого Национальной академии
наук Беларуси, Республика Беларусь

С. В. Губкин – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

А. Е. Дайнеко – Белорусский национальный технический университет, Республика Беларусь

Н. Желев – Абертейский университет, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии

В. Г. Залесский – Физико-технический институт Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

А. И. Иванец – Министерство образования Республики Беларусь, Республика Беларусь

Н. С. Казак – Научно-производственное объединение «Оптика, оптоэлектроника и лазерная техника»,
Республика Беларусь

Н. Н. Казанский – Институт лингвистических исследований Российской академии наук, Российская Федерация

С. П. Карпов – Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Российская Федерация

С. Я. Килин – Институт физики им. Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
(заместитель главного редактора)

А. А. Коваленя – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

В. И. Корзюк – Белорусский государственный университет, Республика Беларусь

В. В. Лапа – Институт почвоведения и агрохимии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

М. Ларссон – Университетский научный центр Алба Нова Стокгольмского университета, Королевство Швеция

- А. П. Ласковнев** – Физико-технический институт Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
В. Ф. Логинов – Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
Г. Маркрам – Институт мозга, Центр неврологии и технологии Швейцарского федерального института технологий, Швейцария
А. А. Махнач – Институт геологии, Республика Беларусь
А. Г. Наумовец – Институт физики Национальной академии наук Украины, Украина
В. А. Орлович – Институт физики им. Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
В. Н. Пармон – Российская академия наук, Российская Федерация
О. Г. Пенязьков – Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
И. Д. Рашаль – Институт биологии Латвийского университета, Латвийская Республика
Б. А. Ривжа – Латвийская академия сельскохозяйственных и лесных наук, Латвийская Республика
В. А. Садовничий – Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Российская Федерация
А. М. Сергеев – Российская академия наук, Российская Федерация
Н. С. Сердюченко – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
В. И. Торчик – Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
А. В. Тузиков – Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
Тьяу Ван Минь – Вьетнамская академия наук и технологий, Социалистическая Республика Вьетнам
С. А. Усанов – Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
Ю. С. Харин – Научно-исследовательский институт прикладных проблем математики и информатики, Республика Беларусь
Л. В. Хотылева – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
А. Цайлингер – Австрийская академия наук, Австрийская Республика
С. А. Чижик – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
(*заместитель главного редактора*)
И. П. Шейко – Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству, Республика Беларусь
В. И. Янчевский – Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

Адрес редакции:

*ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, Минск, Республика Беларусь.
Тел.: +375 17 272-19-19; e-mail: doklady_nanb@mail.ru
doklady.belnauka.by*

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ. 2022. Т. 66. № 4

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор Т. П. Петрович
Компьютерная верстка Н. И. Кашуба

Сдано в набор 02.08.2022. Выпуск в свет 29.08.2022. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 138 экз. Заказ 149.

Цена: индивидуальная подписка – 12,66 руб.; ведомственная подписка – 29,74 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск.

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука».
Доклады НАН Беларуси, 2022

DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MINSK. BELARUSKAYA NAVUKA. 2022. Vol. 66. No. 4

Published bimonthly

The journal has been published since July, 1957

Founder – National Academy of Sciences of Belarus

The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus
in the State Registry of Mass Media, reg. no. 387.

*The journal included in the List of Journal for Publication of the Results of Dissertation Research
in the Republic of Belarus and in the Database of Russian Science Citation Index (RSCI)*

E d i t o r - i n - C h i e f

Vladimir G. Gusakov

Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

E d i t o r i a l B o a r d

Alexander V. Kilchevsky

Vice Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences
of Belarus, Republic of Belarus (*Associate Editor-in-Chief*)

Tatiana P. Petrovich

(*Lead editor*)

Sergey V. Ablameyko – Belarusian State University, Republic of Belarus

Chau Van Minh – Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Sergey A. Chizhik – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

(*Associate Editor-in-Chief*)

Alexey Ye. Dayneko – Belarusian National Technical University, Republic of Belarus

Sergey V. Gaponenko – Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, Republic of Belarus

Andrey Ya. Grigoriev – Institute of Mechanics of Metal-Polymeric Systems named after V. A. Bely of the National
Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

Sergey V. Gubkin – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

Andrei I. Ivanets – Ministry of education of the Republic of Belarus, Republic of Belarus

Sergey P. Karpov – Lomonosov Moscow State University, Russian Federation

Nikolay S. Kazak – State Research and Production Association “Optics, Optoelectronics and Laser Technics”,
Republic of Belarus

Nikolay N. Kazansky – Institute for Linguistic Studies of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation

Yuri S. Kharin – Research Institute of Applied Problems of Mathematics and Informatics, Republic of Belarus

Lyubov V. Khotylova – Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Republic of Belarus

Sergey Ya. Kilin – B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

(*Associate Editor-in-Chief*)

Viktor I. Korzuyk – Belarusian State University, Republic of Belarus

- Alexander A. Kovalenya** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Vitaly V. Lapa – Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Mats Larsson – Alba Nova University Center of the University of Stockholm, Sweden
Alexander P. Laskovnev – Physical-Technical Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Vladimir F. Loginov – Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Anatoly A. Makhnach – Institute of Geology, Republic of Belarus
Henry Markram – Brain Institute, Center for Neurology and Technology of the Swiss Federal Institute of Technology, Switzerland
Anton G. Naumovets – Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine
Valentin A. Orlovich – B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Valentin N. Parmon – Russian Academy of Sciences, Russian Federation
Oleg G. Penyazkov – A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Isaak D. Rashal – Institute of Biology of the University of Latvia, Latvia
Baiba A. Rivza – Latvian Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Latvia
Viktor A. Sadovnichiy – Lomonosov Moscow State University, Russian Federation
Nikolay S. Serdyuchenko – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Alexander M. Sergeev – Russian Academy of Sciences, Russian Federation
Ivan P. Sheyko – Scientific and Practical Center for Animal Breeding, Republic of Belarus
Vladimir I. Torchik – Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Alexander V. Tuzikov – United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Sergey A. Usanov – Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Petr A. Vityaz – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Igor D. Volotovskiy – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Vitali G. Zaleski – Physical-Technical Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Anton Zeilinger – Austrian Academy of Sciences, Austria
Nikolas Zhelev – Abertay University, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

Address of the Editorial Office:

1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.

Phone: +375 17 272-19-19; e-mail: doklady_nanb@mail.ru

doklady.belnauka.by

DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS. 2022. Vol. 66. No. 4

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor T. P. Petrovich
Computer Imposition N. I. Kashuba

Sent for press 02.08.2022. Output 29.08.2022. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 10,23. Publisher's signatures 11,3. Circulation 138 copies. Order 149.
Price: individual subscription – 12.66 BYN, departmental subscription – 29.74 BYN.

Publisher and printing execution:

Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions
no. 1/18 dated of August 2, 2013. License for press no. 02330/455 dated of December 30, 2013.
40, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕМАТИКА

- Корзюк В. И., Ковнацкая О. А., Севастюк В. А.** Задача Гурса на плоскости для квазилинейного гиперболического уравнения..... 391

ФИЗИКА

- Желудкевич Д. В., Латушко С. И., Силибин М. В., Чобот А. Н., Сыса А. В., Неклюдов К. Н., Чобот Г. М., Карпинский Д. В.** Кристаллическая структура системы твердых растворов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)-y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ 397

ХИМИЯ

- Семенов Д. А., Вашкевич И. И., Владыко А. С., Свиридов О. В.** Взаимодействие рекомбинантного лактоферрина человека и вируса SARS-CoV-2 с белковым конъюгатом гепарина..... 404

БИОЛОГИЯ

- Бабак О. Г., Анисимова Н. В., Никитинская Т. В., Некрашевич Н. А., Яцевич К. К., Дрозд Е. В., Фатеев Д. А., Беренсен Ф. А., Артемьева А. М., Кильчевский А. В.** Изучение полиморфизма генов R2R3 Mub транскрипционных факторов культур семейства *Solanaceae* и гена *Myb114* рода *Brassica* в связи с регуляцией биосинтеза антоцианов..... 414

- Суховеева С. В., Кабачевская Е. М., Кузнецова Т. Е., Волотовский И. Д.** Сравнительный анализ структурно-функциональных изменений эндодермальных клеток черешков листьев томата после гравистимуляции и действия фитогормонов..... 425

МЕДИЦИНА

- Митюкова Т. А., Полулях О. Е., Чудиловская Е. Н., Басалай А. А., Рудниченко Ю. А., Хрусталёва Т. А., Губкин С. В.** Влияние диет-индуцированного ожирения и его коррекции на уровень половых гормонов и особенности поведения самцов крыс линии Вистар..... 433

НАУКИ О ЗЕМЛЕ

- Червань А. Н., Мельник В. И., Яцухно В. М.** Оценка и внутрирегиональные различия уязвимости почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья к засухам в условиях потепления климата..... 444

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Чубенко Е. Б., Баглов А. В., Емельянова О. А., Дудчик Н. В., Дроздова Е. В., Борисенко В. Е.** Формирование и антибактериальные свойства графитоподобного нитрида углерода..... 454

АГРАРНЫЕ НАУКИ

- Гусаков В. Г., Шейко И. П., Тимошенко В. Н., Богданович Д. М., Климец Н. В., Песоцкий Н. И., Коропец И. Н., Музыка А. А., Рогач В. Н., Березовик Р. В.** Научное обоснование программы разведения красного молочного скота в Республике Беларусь..... 460

CONTENTS*MATHEMATICS*

- Korzyuk V. I., Kovnatskaya O. A., Sevastyuk V. A.** Goursat's problem on the plane for a quasilinear hyperbolic equation 391

PHYSICS

- Zheludkevich D. V., Latushko S. I., Silibin M. V., Chobot A. N., Sysa A. V., Neklyudov K. N., Chobot G. M., Karpinsky D. V.** Crystal structure of the system of $(1-\gamma)(\text{BiFeO}_3)-\gamma(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ solid solutions..... 397

CHEMISTRY

- Semenov D. A., Vashkevich I. I., Vladyko A. S., Sviridov O. V.** Interaction of recombinant human lactoferrin and SARS-CoV-2 virus with heparin-protein conjugate..... 404

BIOLOGY

- Babak O. G., Anisimova N. V., Nikitinskaya T. V., Nekrashevich N. A., Yatsevich K. K., Drozd L. V., Fatev D. A., Berensen F. A., Artemyeva A. M., Kilchevsky A. V.** Investigating of the polymorphism of *Solanaceae* R2R3 Myb and *Brassica Myb114* genes of transcription factors in connection with the anthocyanin biosynthesis regulation... 414

- Sukhaveyeva S. V., Kabachevskaya A. M., Kuznetsova T. E., Volotovskii I. D.** Comparative analysis of the structure-function changes in the endodermal cells of tomato leaf petioles after gravity stimulation and phytohormone action..... 425

MEDICINE

- Mityukova T. A., Poluliakh O. Y., Chudilovskaya K. N., Basalai A. A., Rudnichenko Yu. A., Khrustaleva T. A., Hubkin S. V.** Effects of diet-induced obesity and its correction on sex hormone levels and the behavioral features of male Wistar rats..... 433

EARTH SCIENCES

- Chervan A. N., Melnik V. I., Yatsukhno V. M.** Assessment and intra-regional differences in the soil vulnerability of the agricultural lands of Belarusian Polesye to droughts under warming climate..... 444

TECHNICAL SCIENCES

- Chubenko E. B., Baglov A. V., Emeliyanova O. A., Dudchik N. V., Drozdova A. V., Borisenko V. E.** Formation and antibacterial properties of graphitic carbon nitride..... 454

AGRARIAN SCIENCES

- Gusakov V. G., Sheiko I. P., Tsimoshanka U. N., Bagdanovich D. M., Klimets N. V., Pesotski N. I., Koronets I. N., Muzyka A. A., Rogach V. N., Beresovik R. V.** Scientific justification of the breeding program of red dairy cattle in the Republic of Belarus 460

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МАТЕМАТИКА
MATHEMATICS

УДК 517.954
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-391-396>

Поступило в редакцию 12.04.2022
Received 12.04.2022

Академик В. И. Корзюк¹, О. А. Ковнацкая², В. А. Севастьяк¹

¹*Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

**ЗАДАЧА ГУРСА НА ПЛОСКОСТИ ДЛЯ КВАЗИЛИНЕЙНОГО
ГИПЕРБОЛИЧЕСКОГО УРАВНЕНИЯ**

Аннотация. Получено классическое решение задачи для квазилинейного гиперболического уравнения в случае двух независимых переменных с заданными для искомой функции условиями на характеристических линиях. Задача сводится к системе уравнений с вполне непрерывным оператором. Решение строится методом последовательных приближений. Проводятся обоснования. Кроме того, показывается для рассмотренной задачи единственность полученного классического решения. Доказаны необходимые и достаточные условия согласования заданных функций из рассмотренной в сообщении задачи, при выполнении которых классическое решение ее существует при наличии определенной гладкости заданных функций.

Ключевые слова: задача Гурса, квазилинейное уравнение, классическое решение, метод последовательных приближений, условия согласования

Для цитирования. Корзюк, В. И. Задача Гурса на плоскости для квазилинейного гиперболического уравнения / В. И. Корзюк, О. А. Ковнацкая, В. А. Севастьяк // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 391–396. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-391-396>

Academician Viktor I. Korzyuk¹, Olga A. Kovnatskaya², Vladimir A. Sevastyuk¹

¹*Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

GOURSAT'S PROBLEM ON THE PLANE FOR A QUASILINEAR HYPERBOLIC EQUATION

Abstract. A classical solution of the problem for a quasilinear hyperbolic equation in the case of two independent variables with given conditions for the desired function on the characteristic lines is obtained. The problem is reduced to a system of equations with a completely continuous operator. We constructed the unique solution by the method of successive approximations and showed the necessary and sufficient smoothness and matching conditions on given functions.

Keywords: Goursat's problem, quasilinear equation, classical solution, method of successive approximations, matching conditions

For citation. Korzyuk V. I., Kovnatskaya O. A., Sevastyuk V. A. Goursat's problem on the plane for a quasilinear hyperbolic equation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 391–396 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-391-396>

Введение. В [1, п. 4.6; 2] дается постановка задач для гиперболического уравнения двух независимых переменных, главная часть которого представлена во втором каноническом виде. Среди них задачи Гурса и Пикара. В [3; 4] авторами данного сообщения рассмотрены аналогичные задачи для одномерного волнового уравнения, когда условия для искомых функций заданы только на характеристиках или при наличии условия на одной из характеристик и на одной из нехарактеристических линий плоскости. Однако методика исследования классического решения в данном сообщении будет другой. В [3; 4] использовано представление общего решения для волнового уравнения. Здесь следует отметить и [5], в которой изучается классическое решение первой смешанной задачи в криволинейной полуполосе для уравнения типа волнового уравнения с переменными коэффициентами и неоднородным дифференциальным оператором.

Такого рода задачи, близкие к нашему сообщению, рассмотрены в [6–9]. Однако в данной работе решение рассматриваемой задачи найдено в аналитическом виде с помощью последовательных приближений непрерывно дифференцируемых функций. Особый интерес представляет случай, когда исходное уравнение задано на всей плоскости. Здесь присоединяются условия Дирихле, заданные на выбранных характеристиках уравнения.

Постановка задачи. На плоскости \mathbb{R}^2 независимых переменных $\mathbf{x} = (x_1, x_2)$ рассмотрим квазилинейное дифференциальное уравнение второго порядка вида

$$\mathcal{L}u(\mathbf{x}, \mathbf{D}) = a(\mathbf{x})\partial_{x_1}^2 u + 2b(\mathbf{x})\partial_{x_1}\partial_{x_2}u + c(\mathbf{x})\partial_{x_2}^2 u + \mathcal{L}^{(1)}(\mathbf{x}, u, \partial_{x_1}u, \partial_{x_2}u) = f(\mathbf{x}) \quad (1)$$

относительно искомой функции $u: \mathbb{R}^2 \ni \mathbf{x} \rightarrow u(\mathbf{x}) \in \mathbb{R}$, где a, b, c, f – заданные функции на всей плоскости. Оператор $\mathcal{L}^{(1)}$ рассматриваем как функцию $\mathcal{L}^{(1)}(\mathbf{x}, \xi_1, \xi_2, \xi_3)$ от переменных $\xi = (\xi_1, \xi_2, \xi_3)$, которая удовлетворяет следующему условию Липшица.

У с л о в и е 1. Для любого $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^2$ существует константа $L \in \mathbb{R}$, для которой для любых $\xi = (\xi_1, \xi_2, \xi_3)$ и $\eta = (\eta_1, \eta_2, \eta_3)$ из \mathbb{R}^3 выполняется неравенство

$$|\mathcal{L}^{(1)}(\mathbf{x}, \xi) - \mathcal{L}^{(1)}(\mathbf{x}, \eta)| \leq |\xi - \eta|.$$

У с л о в и е 2. На всей плоскости \mathbb{R}^2 уравнение (1) является гиперболическим, т. е. дискриминант, составленный из коэффициентов его главной части, является положительным, т. е.

$$b^2(\mathbf{x}) - a(\mathbf{x})c(\mathbf{x}) \geq A > 0$$

для любого $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^2$ и некоторой положительной константы A из множества действительных чисел \mathbb{R} .

Будем считать, что коэффициент $a(\mathbf{x}) \neq 0$ или $c(\mathbf{x}) \neq 0$ (если $a(\mathbf{x}) = c(\mathbf{x}) = 0$, то мы уже имеем второй канонический вид уравнения (1)). Из условия 2 следует, что (1) имеет два семейства характеристик $\varphi^{(1)}(\mathbf{x}) = C_1$ и $\varphi^{(2)}(\mathbf{x}) = C_2$, которые являются решениями соответствующего уравнения характеристик

$$a(\mathbf{x})(dx_2)^2 - 2b(\mathbf{x})dx_1dx_2 + c(\mathbf{x})(dx_1)^2 = 0. \quad (2)$$

К (1) присоединим условия Дирихле

$$u(\mathbf{x})|_{\gamma^{(1)}} = \psi^{(1)}(\mathbf{x}), \quad \mathbf{x} \in \gamma^{(1)}, \quad (3)$$

$$u(\mathbf{x})|_{\gamma^{(2)}} = \psi^{(2)}(\mathbf{x}), \quad \mathbf{x} \in \gamma^{(2)}, \quad (4)$$

которые задаются на характеристиках $\gamma^{(1)} = \{\mathbf{x} | \varphi^{(1)}(\mathbf{x}) = C_1^{(0)}\}$ и $\gamma^{(2)} = \{\mathbf{x} | \varphi^{(2)}(\mathbf{x}) = C_2^{(0)}\}$, которые пересекаются в некоторой точке $\mathcal{M}^{(0)} = (x_1^{(0)}, x_2^{(0)})$.

О п р е д е л е н и е. Функцию u из класса $C^2(\mathbb{R}^2)$ назовем классическим решением задачи (1), (3), (4), если она удовлетворяет уравнению (1) и условиям (3), (4).

Интегральное уравнение. Пусть $a(\mathbf{x}) \neq 0$ для любых независимых переменных \mathbf{x} на плоскости \mathbb{R}^2 и заданные функции уравнения (1) достаточно гладкие, например, $a, b, c, \mathcal{L}^{(1)}$ являются функциями из класса $C^2(\mathbb{R}^2)$. Согласно условию 2 уравнение (2) имеет два семейства характеристик [1]

$$\varphi^{(j)}(\mathbf{x}) = C_j, \quad j = 1, 2.$$

Через полученные функции $\varphi^{(j)}$ делаем замену независимых переменных \mathbf{y} через старые \mathbf{x} по следующим формулам:

$$y_1 = \varphi^{(1)}(\mathbf{x}), \quad y_2 = \varphi^{(2)}(\mathbf{x}). \quad (5)$$

Замена (5) является невырожденной [1] и $y_j \in C^2(\mathbb{R}^2)$. Следовательно, из (5) имеем обратную замену, т. е.

$$x_j = \tilde{\varphi}^{(j)}(\mathbf{y}), \quad j = 1, 2.$$

С помощью замены (5) относительно функции $v(\mathbf{y}) = u(\mathbf{x})$ уравнение (1) приведет к второму каноническому виду [1]

$$\partial_{y_1} \partial_{y_2} v + \mathcal{L}^{(2)}(\mathbf{y}, v, \partial_{y_1} v, \partial_{y_2} v) = g(\mathbf{y}). \quad (6)$$

Условия (3), (4) преобразуются следующим образом:

$$v(y_1 = C_1^{(0)}, y_2) = \xi^{(1)}(y_2), \quad y_2 \in \mathbb{R}, \quad (7)$$

$$v(y_1, y_2 = C_2^{(0)}) = \xi^{(2)}(y_1), \quad y_1 \in \mathbb{R}. \quad (8)$$

Так как замена (5) является невырожденной, т. е. якобиан не равен нулю для всех $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^2$, то оператор $\mathcal{L}^{(2)}$ удовлетворяет условию 1, возможно с другой константой L .

Т е о р е м а 1. Пусть функции $a, b, c, \mathcal{L}^{(1)}, \psi^{(j)}, j = 1, 2$, из класса $C^2(\mathbb{R}^2)$, f – из класса $C^1(\mathbb{R}^2)$. Если u является классическим решением задачи (1), (3), (4), то $v(\mathbf{y}) = u(\mathbf{x})$ является классическим решением задачи (6)–(8). И наоборот, классическое решение задачи (6)–(8) является классическим решением $u(\mathbf{x}) = v(\mathbf{y})$ задачи (1), (3), (4).

Д о к а з а т е л ь с т в о следует из того, что замена (5) является невырожденной, и того, что заданные функции рассматриваемой задачи (1), (3), (4) достаточно гладкие (последнее будет доказано позже при конструкции классического решения задачи (6)–(8)).

Так как u – классическое решение задачи (1), (3), (4), то

$$\psi^{(1)}(\mathbf{x}^{(0)}) = \psi^{(2)}(\mathbf{x}^{(0)}). \quad (9)$$

Следовательно, и для решения задачи (6)–(8) имеем условие согласования

$$\xi^{(1)}(C_2^{(0)}) = \xi^{(2)}(C_1^{(0)}). \quad (10)$$

Условие согласования (10) (условие (9)) является не только необходимым, но и достаточным условием существования классического решения задачи (1), (3), (4) (задачи (6)–(8)). Достаточность этих условий будет доказана при исследовании классического решения задачи (6)–(8).

Таким образом, рассматриваем классическое решение задачи (6)–(8). Вводим дополнительные обозначения и функции следующим образом:

$$\partial_{y_1} v(\mathbf{y}) = w^{(1)}(\mathbf{y}), \quad \partial_{y_2} v(\mathbf{y}) = w^{(2)}(\mathbf{y}).$$

Теперь уравнение (6) в новых обозначениях запишется в виде

$$\partial_{y_2} w^{(1)} + \mathcal{L}^{(2)}(\mathbf{y}, v, w^{(1)}, w^{(2)}) = g(\mathbf{y}). \quad (11)$$

или

$$\partial_{y_1} w^{(2)} + \mathcal{L}^{(2)}(\mathbf{y}, v, w^{(1)}, w^{(2)}) = g(\mathbf{y}). \quad (12)$$

Запишем уравнения (11), (12) в интегральном виде через функции $w^{(1)}$ и $w^{(2)}$, используя условия (7), (8). В результате получим систему интегральных уравнений второго рода

$$\begin{aligned} w^{(1)}(\mathbf{y}) &= d\xi^{(2)}(y_1) + \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} (g(y_1, z) - \mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, v(y_1, z), w^{(1)}(y_1, z), w^{(2)}(y_1, z))) dz, \\ w^{(2)}(\mathbf{y}) &= d\xi^{(1)}(y_2) + \int_{y_1^{(0)}}^{y_1} (g(z, y_2) - \mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, v(z, y_2), w^{(1)}(z, y_2), w^{(2)}(z, y_2))) dz, \\ v(\mathbf{y}) &= \xi^{(2)}(y_1) + \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} w^{(2)}(y_1, z) dz. \end{aligned} \quad (13)$$

Т е о р е м а 2. Задача (6)–(8) и система уравнений (13) эквивалентны, если $v, a, b, c, \mathcal{L}^{(1)}, \psi^{(j)} \in C^2(\mathbb{R}^2), j = 1, 2, f \in C^1(\mathbb{R}^2)$.

Т е о р е м а 3. Если $v, a, b, c, \mathcal{L}^{(1)}, \Psi^{(j)} \in C^2(\mathbb{R}^2)$, $j = 1, 2$, $f \in C^1(\mathbb{R}^2)$, то существует единственное решение $v, w^{(1)}, w^{(2)} \in C(\mathbb{R}^2)$ системы уравнений (13), а также $\partial_{y_1} \partial_{y_2} v \in C(\mathbb{R}^2)$ и функция v является решением задачи (6)–(8).

Д о к а з а т е л ь с т в о. Применим метод последовательных приближений. За нулевое приближение системы (13) возьмем $w_0^{(1)} = d\xi^{(2)}$, $w_0^{(2)} = d\xi^{(1)}$, $v_0 = \xi^{(2)}$. Следующие приближения вычисляются по формуле

$$\begin{aligned} w_k^{(1)}(y) &= d\xi^{(2)}(y_1) + \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} (g(y_1, z) - \mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, v_{k-1}(y_1, z), w_{k-1}^{(1)}(y_1, z), w_{k-1}^{(2)}(y_1, z))) dz, \\ w_k^{(2)}(y) &= d\xi^{(1)}(y_2) + \int_{y_1^{(0)}}^{y_1} (g(z, y_2) - \mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, v_{k-1}(z, y_2), w_{k-1}^{(1)}(z, y_2), w_{k-1}^{(2)}(z, y_2))) dz, \\ v_k(y) &= \xi^{(2)}(y_1) + \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} w_{k-1}^{(2)}(y_1, z) dz, \quad k = 1, 2, \dots \end{aligned}$$

Пусть $\Omega^{(\lambda)} \subset \mathbb{R}^2$, $\lambda = 1, 2, \dots$, – подобласти в \mathbb{R}^2 такие, что $\bigcup_{\lambda=1}^{\infty} \Omega^{(\lambda)} = \mathbb{R}^2$, $\Omega^{(\lambda)} \subset \Omega^{(\tilde{\lambda})}$, $\lambda < \tilde{\lambda}$, $\overline{\Omega^{(\lambda)}}$ – компактное множество в \mathbb{R}^2 . Докажем равномерную сходимость последовательностей $\{w_k^{(1)}, w_k^{(2)}, v_k\}_{k=1}^{\infty}$ в $\Omega^{(\lambda)}$.

Путем вычитания предыдущего приближения из последующего получим соотношения

$$\begin{aligned} w_{k+1}^{(1)} - w_k^{(1)} &= \\ &= - \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} (\mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, v_k(y_1, z), w_k^{(1)}(y_1, z), w_k^{(2)}(y_1, z)) - \\ &\quad - \mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, v_{k-1}(y_1, z), w_{k-1}^{(1)}(y_1, z), w_{k-1}^{(2)}(y_1, z))) dz; \\ w_{k+1}^{(2)} - w_k^{(2)} &= \\ &= - \int_{y_1^{(0)}}^{y_1} (\mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, v_k(z, y_2), w_k^{(1)}(z, y_2), w_k^{(2)}(z, y_2)) - \\ &\quad - \mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, v_{k-1}(z, y_2), w_{k-1}^{(1)}(z, y_2), w_{k-1}^{(2)}(z, y_2))) dz; \\ v_{k+1} - v_k &= \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} (w_k^{(2)} - w_{k-1}^{(2)})(y_1, z) dz, \quad k = 1, 2, \dots \end{aligned} \tag{14}$$

Покажем, что разности $|w_{k+1}^{(1)} - w_k^{(1)}|$, $|w_{k+1}^{(2)} - w_k^{(2)}|$, $|v_{k+1} - v_k|$ удовлетворяют неравенствам

$$|w_{k+1}^{(1)} - w_k^{(1)}|, |w_{k+1}^{(2)} - w_k^{(2)}|, |v_{k+1} - v_k| \leq L^k B \frac{(y_1 + y_2 - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})}{k!}, \quad k = 1, 2, \dots, \tag{15}$$

где B – некоторая постоянная. При $k = 0$ неравенство (15) легко проверяется, так как

$$\begin{aligned} w_1^{(1)} - w_0^{(1)} &= - \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} \mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, \xi^{(2)}(y_1, z), d\xi^{(2)}(y_1, z), d\xi^{(1)}(y_1, z)) dz, \\ w_1^{(2)} - w_0^{(2)} &= - \int_{y_1^{(0)}}^{y_1} \mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, \xi^{(2)}(z, y_2), d\xi^{(2)}(z, y_2), d\xi^{(1)}(z, y_2)) dz, \\ v_1 - v_0 &= \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} d\xi^{(1)}(z) dz. \end{aligned} \tag{16}$$

Оценка (15) сразу видна, если выбрать в (16) число B достаточно большим, которое зависит от функций $\xi^{(1)}$, $\xi^{(2)}$, $\mathcal{L}^{(2)}$ и размера области $\Omega^{(\lambda)}$. Из (14) для $k = 1, 2, \dots$ имеем

$$\begin{aligned} |w_{k+1}^{(1)} - w_k^{(1)}| &\leq \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} L^{k-1} B \frac{(y_1 + z - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})^{k-1}}{(k-1)!} dz \leq \\ &\leq L^k B \frac{(y_1 + z - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})^k}{k!} \Big|_0^{y_2} \leq L^k B \frac{(y_1 + y_2 - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})^k}{k!}. \end{aligned}$$

Аналогично оцениваются разности $|w_{k+1}^{(2)} - w_k^{(2)}|$ и $|v_{k+1} - v_k|$. Заметим, что

$$w_k^{(1)} = w_0^{(1)} + \sum_{j=1}^k (w_j^{(1)} - w_{j-1}^{(1)}), \quad w_k^{(2)} = w_0^{(2)} + \sum_{j=1}^k (w_j^{(2)} - w_{j-1}^{(2)}), \quad v_k = v_0 + \sum_{j=1}^k (v_j - v_{j-1}).$$

Из оценок (15) следует абсолютная и равномерная сходимость рядов

$$w_0^{(1)} + \sum_{k=1}^{\infty} (w_k^{(1)} - w_{k-1}^{(1)}), \quad w_0^{(2)} + \sum_{k=1}^{\infty} (w_k^{(2)} - w_{k-1}^{(2)}), \quad v_0 + \sum_{k=1}^{\infty} (v_k - v_{k-1})$$

на компактном множестве $\overline{\Omega^{(\lambda)}}$, члены которых по абсолютной величине меньше членов равномерно сходящегося ряда

$$B + B \sum_{k=0}^{\infty} L^k \frac{(y_1 + y_2 - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})^k}{k!} = B(1 + e^{L(y_1 + y_2 - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})}).$$

Таким образом, последовательные приближения $\{w_k^{(1)}, w_k^{(2)}, v_k\}$ на $\overline{\Omega^{(\lambda)}}$ равномерно стремятся к непрерывным функциям $w^{(1)}, w^{(2)}, v: \mathbb{R}^2 \supset \overline{\Omega^{(\lambda)}} \ni \mathbf{y} \rightarrow w^{(1)}(\mathbf{y}), w^{(2)}(\mathbf{y}), v(\mathbf{y}) \in \mathbb{R}$ соответственно. Переходя к пределу в (14) при $k \rightarrow \infty$, получим, что $w_k^{(1)}, w_k^{(2)}, v_k$ являются решением системы (13).

Докажем единственность решения. Предположим, что существуют два решения системы (13) $w^{(1)}, w^{(2)}, v$ и $W^{(1)}, W^{(2)}, V$, $\tilde{w}^{(1)} = W^{(1)} - w^{(1)}$, $\tilde{w}^{(2)} = W^{(2)} - w^{(2)}$, $\tilde{v} = V - v$. Тогда

$$\begin{aligned} \tilde{w}^{(1)} &= - \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} (\mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, V(y_1, z), W^{(1)}(y_1, z), W^{(2)}(y_1, z)) - \\ &\quad - \mathcal{L}^{(2)}(y_1, z, v(y_1, z), w^{(1)}(y_1, z), w^{(2)}(y_1, z))) dz, \\ \tilde{w}^{(2)} &= - \int_{y_1^{(0)}}^{y_1} (\mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, V(z, y_2), W^{(1)}(z, y_2), W^{(2)}(z, y_2)) - \\ &\quad - \mathcal{L}^{(2)}(z, y_2, v(z, y_2), w^{(1)}(z, y_2), w^{(2)}(z, y_2))) dz, \\ \tilde{v} &= \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} \tilde{w}^{(2)}(y_1, z) dz. \end{aligned}$$

Функции $\tilde{w}^{(1)}, \tilde{w}^{(2)}, \tilde{v} \in C(\overline{\Omega^{(\lambda)}})$. Поэтому $|\tilde{w}^{(1)}|, |\tilde{w}^{(2)}|, |\tilde{v}| \leq D$, D – некоторая постоянная. Из (16) имеем

$$|\tilde{w}^{(1)}(\mathbf{y})| \leq \int_{y_2^{(0)}}^{y_2} LD dz \leq LD(y_1 - y_1^{(0)}) \leq LD \frac{y_1 + y_2 - y_1^{(0)} - y_2^{(0)}}{1!}.$$

Такие же оценки справедливы и для $\tilde{w}^{(2)}$ и \tilde{v} . Применяя метод математической индукции, получим

$$|\tilde{w}^{(1)}|, |\tilde{w}^{(2)}|, |\tilde{v}| \leq L^k D \frac{(y_1 + y_2 - y_1^{(0)} - y_2^{(0)})^k}{k!}$$

для любого натурального k и любого $\mathbf{y} \in \overline{\Omega^{(\lambda)}}$. Отсюда следует, что $\tilde{w}^{(1)} \equiv \tilde{w}^{(2)} \equiv \tilde{v} \equiv 0$ в $\overline{\Omega^{(\lambda)}}$, если перейти к пределу при $k \rightarrow \infty$.

Таким образом, мы доказали утверждение теоремы 3 для системы (13) в подобласти $\Omega^{(\lambda)}$. Поскольку система $\{\Omega^{(\lambda)}\}_{\lambda=1}^{\infty}$ является покрытием плоскости \mathbb{R}^2 , то отсюда получаем доказываемое утверждение теоремы 3 для системы (13). Теорема 3 доказана.

Список использованных источников

1. Корзюк, В. И. Уравнения математической физики / В. И. Корзюк. – М., 2021. – 480 с.
2. Кошляков, Н. С. Уравнения в частных производных математической физики / Н. С. Кошляков, Э. Б. Глинер, М. М. Смирнов. – М., 1970. – 712 с.
3. Корзюк, В. И. Решения задач для волнового уравнения с условиями на характеристиках / В. И. Корзюк, О. А. Ковнацкая // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. фіз.-мат. навук. – 2021. – Т. 57, № 2. – С. 148–155. <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2021-57-2-148-155>
4. Корзюк, В. И. Задачи для одномерного волнового уравнения с условиями на характеристиках и нехарактеристических линиях / В. И. Корзюк, О. А. Ковнацкая, В. П. Сериков // Тр. Ин-та математики. – 2021. – Т. 29, № 1–2. – С. 106–112.
5. Корзюк, В. И. Классическое решение первой смешанной задачи для гиперболического уравнения второго порядка в криволинейной полуполосе с переменными коэффициентами / В. И. Корзюк, И. И. Столярчук // Дифференциальные уравнения. – 2017. – Т. 53, № 1. – С. 77–88.
6. Миронов, А. Н. К методу Римана решения одной смешанной задачи / А. Н. Миронов // Вестн. Самар. гос. техн. ун-та. Сер. физ.-мат. науки. – 2007. – № 2. – С. 27–32.
7. Наумов, О. Ю. Задача для уравнения колебания струны с производными по нормали на нехарактеристических частях границы треугольника и специальным условием сопряжения на характеристике / О. Ю. Наумов // Научные доклады ежегодной межвузовской 55 Научной конференции СамГПУ. – Самара, 2001. – С. 58–61.
8. Koeber, M. Inclusion of solutions of initial value problems for quasilinear hyperbolic equations / M. Koeber // Math. Res. – 1995. – Vol. 89. – P. 132–137.
9. Корзюк, В. И. Классические решения задач для гиперболических уравнений: курс лекций: в 10 ч. / В. И. Корзюк, И. С. Козловская. – Минск, 2017. – Ч. 1, 2.

References

1. Korzyuk V. I. *Equations of Mathematical Physics*. Moscow, 2021. 480 p. (in Russian).
2. Koshlyakov N. S., Gliner E. B., Smirnov M. M. *Partial Differential Equations of Mathematical Physics*. Moscow, 1970. 712 p. (in Russian).
3. Korzyuk V. I., Kovnatskaya O. A. Solutions of problems for the wave equation with conditions on the characteristics. *Vestsi Natsyianal'най akademii navuk Belarusi. Seriya fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2021, vol. 57, no. 2, pp. 148–155 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2021-57-2-148-155>
4. Korzyuk V. I., Kovnatskaya O. A., Serikov V. P. Problems for a one-dimensional wave equation with conditions on characteristics and non-characteristic lines. *Trudy Instituta matematiki = Proceedings of the Institute of Mathematics*, 2021, vol. 29, no. 1–2, pp. 106–112 (in Russian).
5. Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I. Classical solution of the first mixed problem for second-order hyperbolic equation in curvilinear half-strip with variable coefficients. *Differential Equations*, 2017, vol. 53, no. 1, pp. 74–85. <https://doi.org/10.1134/s001226611701007>
6. Mironov A. N. On the Riemann method for solving one mixed problem. *Vestnik Samarskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: fiziko-matematicheskie nauki* [Bulletin of the Samara State Technical University. Series: Physical and Mathematical Sciences], 2007, no. 2, pp. 27–32 (in Russian).
7. Naumov O. Yu. The problem for the string vibration equation with normal derivatives on noncharacteristic parts of the triangle boundary and a special conjugation condition on the characteristic. *Nauchnye doklady ezhegodnoy mezhvuzovskoy 55 Nauchnoy konferentsii Samarskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta* [Scientific reports of the annual interuniversity 55th Scientific Conference of the Samara State Pedagogical University]. Samara, 2001, pp. 58–61 (in Russian).
8. Koeber M. Inclusion of solutions of initial value problems for quasilinear hyperbolic equations. *Mathematical Research*, 1995, vol. 89, pp. 132–137.
9. Korzyuk V. I., Kozlovskaya I. S. *Classical problem solutions for hyperbolic equations: A course of lectures in 10 parts*. Minsk, 2017, part 1, 2 (in Russian).

Информация об авторах

Корзюк Виктор Иванович – академик, д-р физ.-мат. наук, профессор. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: korzyuk@bsu.by.

Ковнацкая Ольга Анатольевна – канд. физ.-мат. наук. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: Kovnatskaya@bsu.by.

Севастьяк Владимир Александрович – ведущий инженер-программист. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Korzyuk Viktor I. – Academician, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: korzyuk@bsu.by.

Kovnatskaya Olga A. – Ph. D. (Physics and Mathematics). Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Kovnatskaya@bsu.by.

Sevastiyuk Vladimir A. – Lead Software Developer. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ФИЗИКА
PHYSICS

УДК 538.911
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-397-403>

Поступило в редакцию 26.05.2022
Received 26.05.2022

**Д. В. Желудкевич¹, С. И. Латушко¹, М. В. Силибин², А. Н. Чобот¹, А. В. Сыса²,
К. Н. Неклюдов², Г. М. Чобот³, Д. В. Карпинский¹**

¹Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению,
Минск, Республика Беларусь

²Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ»,
Зеленоград, Российская Федерация

³Белорусский государственный аграрный технический университет, Минск, Республика Беларусь

**КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА
СИСТЕМЫ ТВЕРДЫХ РАСТВОРОВ $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$**

(Представлено членом-корреспондентом В. М. Федосюком)

Аннотация. Кристаллическая структура системы твердых растворов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ ($0 \leq x \leq 1$; $0,2 \leq y \leq 0,4$) определена на основании данных, полученных методом дифракции рентгеновского излучения, а также результатов сканирующей электронной микроскопии. Полученные результаты позволили уточнить концентрационные области однофазного структурного состояния, а также области сосуществования двух структурных фаз в исследуемой системе. Показано, что увеличение концентрации ионов-заместителей приводит к уменьшению ромбоэдрических искажений. Структуру составов с $y = 0,25-0,33$ можно уточнить, предполагая сосуществование ромбоэдрической и псевдокубической фаз. Дальнейшее замещение приводит к трансформации структуры, она становится однофазной с кубической симметрией. Расщепление рефлексов, характеризующих ромбоэдрическую фазу, полностью исчезает для составов с $y = 0,35; 0,40$. Особое внимание уделено анализу структуры твердых растворов в области концентрационного фазового перехода. Определена эволюция морфологии кристаллитов в зависимости от типа структурных искажений и концентрации ионов стронция.

Ключевые слова: твердые растворы, мультиферроики, рентгеновская дифракция, структурные фазовые переходы, ионы-заместители

Для цитирования. Кристаллическая структура системы твердых растворов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ / Д. В. Желудкевич [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 397–403. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-397-403>

**Dmitry V. Zheludkevich¹, Sergei I. Latushko¹, Maxim V. Silibin², Aleksandra N. Chobot¹,
Artem V. Sysa², Kapiton N. Neklyudov², Gennadii M. Chobot³, Dmitry V. Karpinsky¹**

¹Scientific-Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²National Research University of Electronic Technology “MIET”, Zelenograd, Russian Federation

³Belarusian State Agrarian Technical University, Minsk, Republic of Belarus

CRYSTAL STRUCTURE OF THE SYSTEM OF $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ SOLID SOLUTIONS

(Communicated by Corresponding Member Valery M. Fedosuyk)

Abstract. The crystal structure of the system of $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ ($0 \leq x \leq 1$; $0,2 \leq y \leq 0,4$) solid solutions was studied based on the X-ray diffraction data and the scanning electron microscopy results. The obtained results have allowed determining the concentration ranges of a single-phase structural state, as well as the regions of coexistence of two structure phases. It is shown that an increase in the concentration of the dopant ions leads to a decrease in rhombohedral distortions. The structure of the compounds with $y = 0,25-0,33$ is characterized by the coexistence of the rhombohedral and pseudocubic phases. Further chemical doping leads to the transformation of the structure; it becomes single-phase and has a cubic symmetry.

Splitting of the reflections specific to the rhombohedral phase completely disappears for the compounds with $y = 0.35; 0.40$. Particular attention is paid to the analysis of the structure of solid solutions in the region of the concentration phase transition. The evolution of crystallite morphology was determined as a function of the type of structure distortions and dopants concentration.

Keywords: solid solutions, multiferroics, X-ray diffraction, structural phase transitions, dopant ions

For citation. Zheludkevich D. V., Latushko S. I., Silibin M. V., Chobot A. N., Syta A. V., Neklyudov K. N., Chobot G. M., Karpinsky D. V. Crystal structure of the system of $(1-y)(\text{BiFeO}_3)-y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ solid solution. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 397–403 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-397-403>

Введение. Материалы, относящиеся к классу мультиферроиков, в последнее десятилетие являются предметом повышенного интереса исследователей. Возможность управления свойствами материалов благодаря тесной связи между электрической и магнитной подсистемами увеличивает степень свободы при создании новых материалов и открывает широкие перспективы их практического использования. Мультиферроики находят применение при производстве элементов памяти, в устройствах, основанных на ферромагнитном резонансе, благодаря наличию в них нескольких типов ферро-упорядочения.

Одним из наиболее перспективных мультиферроиков является феррит висмута (BiFeO_3), для которого характерны переходы в магнитоупорядоченное и сегнетоэлектрическое состояния при температурах значительно выше комнатной (температура Нееля $T_N \sim 650$ К, температура Кюри $T_C \sim 1100$ К) [1–8]. Известно, что химическое замещение ионов висмута и железа позволяет модифицировать кристаллическую структуру соединений и тем самым изменять их физические свойства. Ограниченный выбор материалов с несколькими типами ферро-упорядочений обусловлен невозможностью одновременного сосуществования сильного дипольного и магнитного упорядочений в оксидах переходных металлов. Величина магнитоэлектрического эффекта в однофазных мультиферроиках вблизи комнатной температуры быстро уменьшается при повышении температуры. Значение магнитоэлектрического сигнала может быть увеличено путем синтеза составов, в качестве компонентов которых используются электро- и магнитоэлектрические материалы. Так, материалы на основе феррита висмута с сегнетоэлектрическими компонентами (Co, Mg, Ni) Fe_2O_4 и BaTiO_3 характеризуются значительным магнитоэлектрическим взаимодействием [9]. Предварительно установлено, что синтез электроэлектрических и магнитоэлектрических материалов в комбинации с ферритом висмута, полученных золь-гель методом, представляет собой эффективный метод производства наноразмерных магнитоэлектрических композитов. Свойства таких материалов в значительной степени обуславливаются феноменом перколяции, который предполагает аномальное изменение электрических свойств состава вблизи границы взаимопроникновения фаз [10]. Хорошо известно, что граница перколяции смещается в сторону увеличения с уменьшением размера зерен составов.

В настоящей работе исследованы структурные фазовые переходы в системе твердых растворов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)-y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ ($0 \leq x \leq 1, 0,2 \leq y \leq 0,4$) в зависимости от концентрации ионов-заместителей, определен оптимальный химический состав и соотношение магнитоактивной и сегнетоэлектрической подсистем в твердых растворах на основе феррита висмута, что позволяет получить материалы с высокими значениями магнитоэлектрического взаимодействия.

Материалы и методы исследования. Составы $(1-y)(\text{BiFeO}_3)-y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ были получены золь-гель методом с использованием исходных реагентов $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$, $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{Ti}$, $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$. Изначально лимонная кислота растворялась в дистиллированной воде в соотношении 1 : 3, затем к раствору добавлялся изопропоксид титана и температура подогревающей пластины доводилась до 90 °С. На следующем этапе к вышеуказанному раствору добавляли $\text{Ti}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ и $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$. Перед добавлением нитрата висмута значение pH реакционной смеси доводили до 1 путем добавления азотной кислоты (HNO_3) с целью избежать образования осадков нерастворимого оксинитрата висмута BiONO_3 . Далее к прозрачному раствору добавляли $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ (соотношение общего количества ионов металла и этиленгликоля составляло 1 : 10) и смесь гомогенизировали при 90 °С в течение 1,5 ч. Полученный гель сушили 12 ч при 180 °С, а порошок растирали в ступке и отжигали при 1000 °С.

Рентгенофазовый анализ проводился на дифрактометрах ДРОН-3 и ДРОН-3 М в Cu-K_α - и Cu-K_β -излучениях при комнатной температуре. Для отсекающей K_β -компоненты рентгеновского излучения использовался графитовый монохроматор. Шаг сканирования составлял не более $0,03^\circ$, время экспозиции – не менее 5 с. Фиксация данных производилась автоматически. Отсутствие примесей подтверждено исследованиями фазовой чистоты составов, проведенными методом дифракции рентгеновского излучения. Анализ дифракционных данных проводился методом полнопрофильного анализа Ритвелда. Для уточнения спектров использовался программный комплекс FullProf [11]. Исследование морфологии образцов было проведено с помощью метода сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе TESCAN VAGA 3.

Результаты и их обсуждение. На основании данных, полученных методом дифракции рентгеновского излучения, определена кристаллическая структура системы твердых растворов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ ($x = 0,25-1,0$; $y = 0,2-0,4$), что позволило проследить эволюцию кристаллической структуры этой системы в зависимости от концентрации ионов-заместителей.

Рентгенограммы, полученные для составов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ с $x = 0$; $y \leq 0,2$, характеризуются однофазной ромбоэдрической структурой (рис. 1). Увеличение концентрации ионов-заместителей приводит к уменьшению ромбоэдрических искажений. Структуру составов с $y = 0,25-0,33$ можно уточнить, предполагая сосуществование ромбоэдрической и псевдокубической фаз. Дальнейшее замещение приводит к трансформации структуры, она становится однофазной с кубической симметрией.

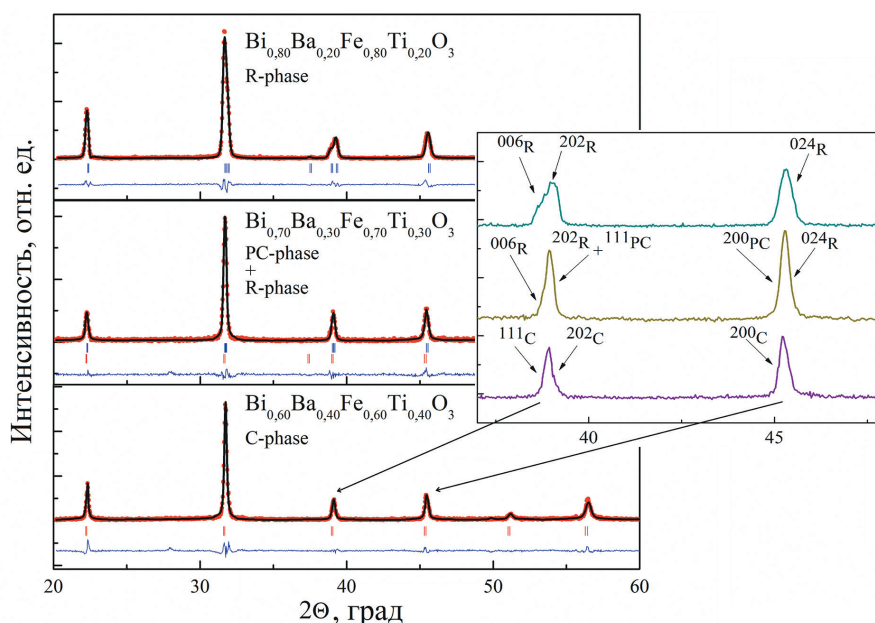


Рис. 1. Рентгенограммы составов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ с $x = 0$; $y = 0,2-0,4$ при комнатной температуре (на вставке указана эволюция выбранных дифракционных рефлексов для твердых растворов с разным химическим составом)

Fig. 1. X-ray diffraction patterns of the compounds $(1-y)(\text{BiFeO}_3)_y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ with $x = 0$; $y = 0.2-0.4$ at room temperature (the inset shows an evolution of the selected diffraction reflections as a function of the dopants concentration)

Следует отметить, что псевдокубическая фаза наблюдается в составах $0,25 < y < 0,40$. Химическое замещение вызывает постепенное уменьшение объемной доли искажения ромбоэдрической элементарной ячейки. Об этом свидетельствует эволюция рефлекса $(113)R$ (рис. 1), связанного с искажением кислородных октаэдров в плоскости ab ромбоэдрической решетки. Интенсивность рефлекса постепенно уменьшается с увеличением значений y и практически исчезает для состава с $y = 0,2$. Расщепление рефлексов $(202)R$ и $(006)R$ ($2\theta = 39^\circ$), характеризующих ромбоэдрическую фазу, постепенно уменьшается с увеличением концентрации ионов-заместителей. Уменьшение расщепления обусловлено постепенным уменьшением вытянутости ромбоэдрической решетки.

Это расщепление полностью исчезает для составов с $y = 0,35; 0,40$, что также подтверждает отсутствие в составах ромбоэдрической фазы.

Таким образом, увеличение концентрации ионов Sr приводит к искажению ромбоэдрической элементарной ячейки и переходу в однофазное кубическое состояние. Как видно из рис. 2, с ростом концентрации Sr наблюдается уменьшение значений параметра a и величины объема элементарной ячейки v (от $62,61 \text{ \AA}^3$ для состава с $x = 0,25$ до $61,22 \text{ \AA}^3$ для состава с $x = 1,0$). Такое изменение параметров связано с замещением ионов Ba с радиусом ($1,35 \text{ \AA}$) на ионы Sr с меньшим ионным радиусом ($1,18 \text{ \AA}$).

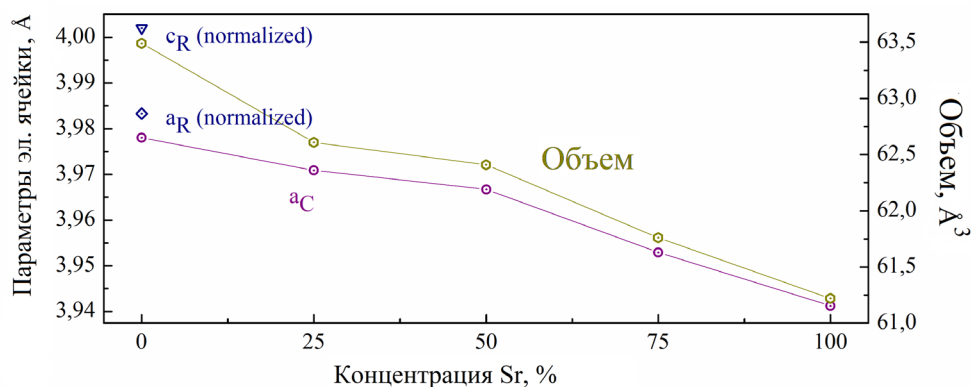


Рис. 2. Параметры элементарной ячейки для составов $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$

Fig. 2. The unit cell parameters for compounds $0.7(\text{BiFeO}_3)-0.3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$

На рис. 3 представлены дифрактограммы образцов $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ с $0,25 \leq x \leq 1,0$. Анализ дифрактограмм указывает на незначительные структурные изменения для составов с концентрациями $x < 0,75$. Рефлекс в области $\theta = 32^\circ$ для состава с концентрацией $x = 1,0$ имеет несимметричный профиль, что свидетельствует о наличии ромбоэдрических искажений.

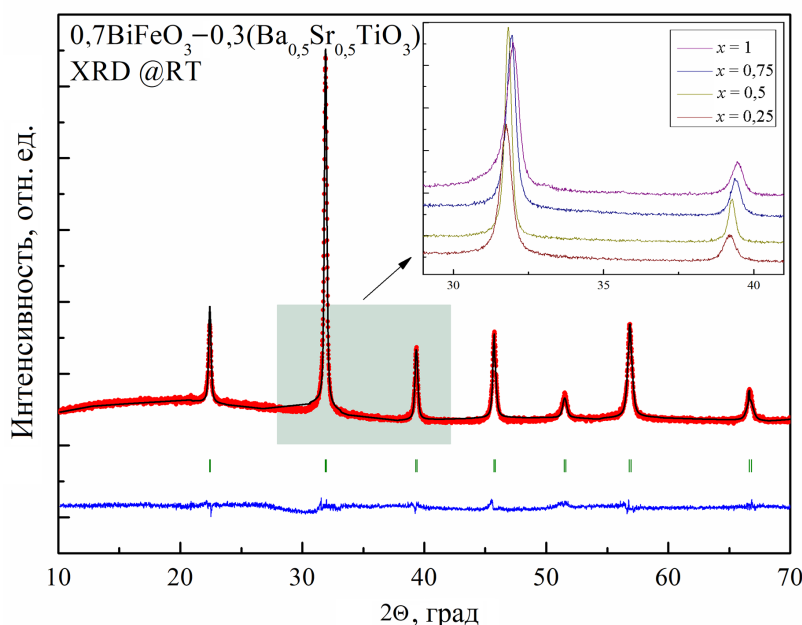


Рис. 3. Рентгенограммы, полученные для составов $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ при комнатной температуре.

На вставке показана эволюция дифракционных пиков для составов $0,25 \leq x \leq 1,0$

Fig. 3. X-ray diffraction patterns of the compounds $0.7(\text{BiFeO}_3)-0.3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ at room temperature.

The inset shows the evolution of diffraction reflections for the compounds with $0.25 \leq x \leq 1.0$

Морфология поверхности образцов $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ была исследована методом сканирующей электронной микроскопии. Исследуемые составы состоят из агломерированных сферических кристаллитов размером менее 100 нм. СЭМ-изображения составов $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ показаны на рис. 4. Следует отметить, что исходный состав $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{BaTiO}_3)$ имеет схожую микроструктуру с составами, содержащими ионы стронция. Для данного состава характерны сферические и пластинчатые частицы размером 70–100 нм.

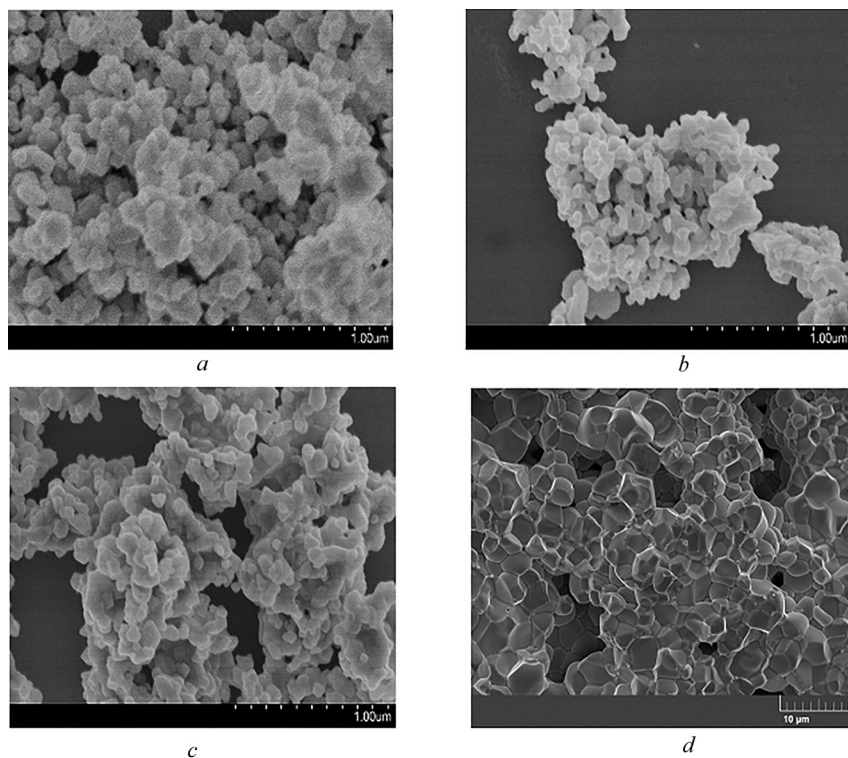


Рис. 4. СЭМ-изображения составов $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$: *a*) $x = 0$; *b*) $x = 0,1$; *c*) $x = 0,5$; *d*) $x = 1,0$

Fig. 4. SEM images of the compounds $0,7(\text{BiFeO}_3)-0,3(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$: *a*) $x = 0$; *b*) $x = 0,1$; *c*) $x = 0,5$; *d*) $x = 1,0$

Форма кристаллитов составов с $0,25 \leq x \leq 1$ практически не изменялась с увеличением концентрации ионов-заместителей. При этом происходило уменьшение среднего размера кристаллитов и уменьшение параметров элементарной ячейки, что подтверждается рентгеноструктурными данными.

Заключение. Проведено исследование кристаллической структуры системы твердых растворов $(1-y)(\text{BiFeO}_3)-y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ методом дифракции рентгеновского излучения, а также сканирующей электронной микроскопии. Показано, что составы $(1-y)(\text{BiFeO}_3)-y(\text{Ba}_{1-x}\text{Sr}_x\text{TiO}_3)$ с концентрацией $x = 0$ и $y \leq 0,2$ характеризуются однофазной ромбоэдрической структурой. Увеличение концентрации ионов-заместителей приводит к уменьшению ромбоэдрических искажений, а структуру составов с $0,25 \leq y \leq 0,33$ можно уточнить, предполагая сосуществование ромбоэдрической и псевдокубической фаз. Расщепление рефлексов, характеризующих ромбоэдрическую фазу, постепенно уменьшается с увеличением концентрации ионов-заместителей. Уменьшение расщепления обусловлено постепенным уменьшением вытянутости ромбоэдрической решетки. Это расщепление полностью исчезает для составов с $y = 0,35; 0,40$, что также подтверждает отсутствие в составах ромбоэдрической фазы. Дальнейшее замещение приводит к трансформации структуры, она становится однофазной с кубической симметрией.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 20-58-04003Бел_мол_а) и БРФФИ (проект № Ф21PM-018).

Acknowledgements. The work is supported by the RFBR (project № 20-58-04003Бел_мол_а) and BRFFR (project № Ф21PM-018).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Phase stability and structural temperature dependence in powdered multiferroic BiFeO₃ / R. Haumont [et al.] // *Phys. Rev. B.* – 2008. – Vol. 78, N 13. – Art. 134108. <https://doi.org/10.1103/physrevb.78.134108>
2. Structural and electrical characteristics of potential candidate lead-free BiFeO₃–BaTiO₃ piezoelectric ceramics / S. Kim [et al.] // *J. Appl. Phys.* – 2017. – Vol. 122, N 16. – P. 164105. <https://doi.org/10.1063/1.4999375>
3. Temperature and Composition-Induced Structural Transitions in Bi_{1-x}La(Pr)_xFeO₃ ceramics / D. V. Karpinsky [et al.] // *J. Am. Ceram. Soc.* – 2014. – Vol. 97, N 8. – P. 2631–2638. <https://doi.org/10.1111/jace.12978>
4. The β-to-γ Transition in BiFeO₃: A Powder Neutron Diffraction Study / D. C. Arnold [et al.] // *Adv. Funct. Mater.* – 2010. – Vol. 20, N 13. – P. 2116–2123. <https://doi.org/10.1002/adfm.201000118>
5. Temperature-dependent structural and spectroscopic studies of (Bi_{1-x}Fe_x)FeO₃ / A. Kirsch [et al.] // *J. Phys. Chem. C.* – 2018. – Vol. 122, N 49. – P. 28280–28291. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b05740>
6. Catalan, G. Physics and Applications of Bismuth Ferrite / G. Catalan, J. F. Scott // *Adv. Mater.* – 2009. – Vol. 21, N 24. – P. 2463–2485. <https://doi.org/10.1002/adma.200802849>
7. The Ferroic Phase Transitions of BiFeO₃ / S. M. Selbach [et al.] // *Adv. Mater.* – 2008. – Vol. 20, N 19. – P. 3692–3696. <https://doi.org/10.1002/adma.200800218>
8. Structural Stability and Magnetic Properties of Bi_{1-x}La(Pr)_xFeO₃ Solid Solutions / D. V. Karpinsky [et al.] // *Solid State Communications.* – 2011. – Vol. 151, N 22. – P. 1686–1689. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2011.08.002>
9. Integration of sputter-deposited multiferroic CoFe₂O₄–BiFeO₃ nanocomposites on conductive La_{0.7}Sr_{0.3}MnO₃ electrodes / S. H. Lee [et al.] // *Nanotechnology.* – 2019. – Vol. 30, N 10. – P. 105601. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aaf7cd>
10. Priya, A. S. Investigation of multiferroic properties of doped BiFeO₃–BaTiO₃ composite ceramics / A. S. Priya, I. B. Shameem Banu, S. Anwar // *Mater. Lett.* – 2015. – Vol. 142. – P. 42–44. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.11.111>
11. Rodríguez-Carvajal, J. R. Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction / J. R. Rodríguez-Carvajal // *Physica B: Condensed Matter.* – 1993. – Vol. 192, N 1–2. – P. 55–69. [https://doi.org/10.1016/0921-4526\(93\)90108-i](https://doi.org/10.1016/0921-4526(93)90108-i)

References

1. Haumont R., Kornev I. A., Lisenkov S., Bellaiche L., Kreisel J., Dkhil B. Phase stability and structural temperature dependence in powdered multiferroic BiFeO₃. *Physical Review B*, 2008, vol. 78, no. 13, art. 134108. <https://doi.org/10.1103/physrevb.78.134108>
2. Kim S., Khanal G. P., Nam H.-W., Fujii I., Ueno S., Moriyoshi C., Kuroiwa Y., Wada S. Structural and electrical characteristics of potential candidate lead-free BiFeO₃–BaTiO₃ piezoelectric ceramics. *Journal of Applied Physics*, 2017, vol. 122, no. 16, pp. 164105. <https://doi.org/10.1063/1.4999375>
3. Karpinsky D. V., Troyanchuk I. O., Tovar M., Sikolenko V., Efimov V., Efimova E., Shur V. Ya., Kholkin A. L. Temperature and Composition-Induced Structural Transitions in Bi_{1-x}La(Pr)_xFeO₃ ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*, 2014, vol. 97, no. 8, pp. 2631–2638. <https://doi.org/10.1111/jace.12978>
4. Arnold D. C., Knight K. S., Catalan G., Redfern S. A., Scott J. F., Lightfoot P., Morrison F. D., The β-to-γ Transition in BiFeO₃: A Powder Neutron Diffraction Study. *Advanced Functional Materials*, 2010, vol. 20, no. 13, pp. 2116–2123. <https://doi.org/10.1002/adfm.201000118>
5. Kirsch A., Murshed M. M., Kirkhame M. J., Huq A., Litterst F. J., Gesing T. M. Temperature-dependent structural and spectroscopic studies of (Bi_{1-x}Fe_x)FeO₃. *Journal of Physical Chemistry C*, 2018, vol. 122, no. 49, pp. 28280–28291. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b05740>
6. Catalan G., Scott J. F. Physics and Applications of Bismuth Ferrite. *Advanced Materials*, 2009, vol. 21, no. 24, pp. 2463–2485. <https://doi.org/10.1002/adma.200802849>
7. Selbach S. M., Tybell T., Einarsrud M. A., Grande T. The Ferroic Phase Transitions of BiFeO₃. *Advanced Materials*, 2008, vol. 20, no. 19, pp. 3692–3696. <https://doi.org/10.1002/adma.200800218>
8. Karpinsky D. V., Troyanchuk I. O., Mantytskaya O. S., Khomchenko V. A., Kholkin A. L. Structural Stability and Magnetic Properties of Bi_{1-x}La(Pr)_xFeO₃ Solid Solutions. *Solid State Communications*, 2011, vol. 151, no. 22, pp. 1686–1689. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2011.08.002>
9. Lee S. H., Tian G., Kim T. C., Jung H. K., Choi J. W., Walker F. J., Ahn C. H., Ross C. A., Kim D. H. Integration of sputter-deposited multiferroic CoFe₂O₄–BiFeO₃ nanocomposites on conductive La_{0.7}Sr_{0.3}MnO₃ electrodes. *Nanotechnology*, 2019, vol. 30, no. 10, pp. 105601. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aaf7cd>
10. Priya A. S., Banu S. I. B., Anwar S. Investigation of multiferroic properties of doped BiFeO₃–BaTiO₃ composite ceramics. *Materials Letters*, 2015, vol. 142, pp. 42–44. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.11.111>
11. Rodríguez-Carvajal J. R. Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction. *Physica B: Condensed Matter*, 1993, vol. 192, no. 1–2, pp. 55–69. [https://doi.org/10.1016/0921-4526\(93\)90108-i](https://doi.org/10.1016/0921-4526(93)90108-i)

Информация об авторах

Желудкевич Дмитрий Викторович – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: geludkevichdima@mail.ru.

Латушко Сергей Игоревич – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: smer444@mail.ru.

Силибин Максим Викторович – канд. техн. наук, доцент. Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ» (пл. Шокина, 1, 124498, Зеленоград, Российская Федерация). E-mail: sil_m@mail.ru.

Чобот Александра Николаевна – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.n.chobot@tut.by.

Сыса Артём Владимирович – канд. техн. наук, ст. науч. сотрудник. Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ» (пл. Шокина, 1, 124498, Зеленоград, Российская Федерация). E-mail: sysa.artem@yandex.ru.

Неклюдов Капитон Николаевич – мл. науч. сотрудник. Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ» (пл. Шокина, 1, 124498, Зеленоград, Российская Федерация). E-mail: neklyudovk@gmail.com.

Чобот Геннадий Михайлович – канд. физ.-мат. наук, доцент. Белорусский государственный аграрный технический университет (пр. Независимости, 99, 220023, Минск, Республика Беларусь). E-mail: g.m.chobot@tut.by.

Карпинский Дмитрий Владимирович – канд. физ.-мат. наук, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: karpinsky@ifftp.bas-net.by.

Information about the authors

Zheludkevich Dmitry V. – Junior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: geludkevichdima@mail.ru.

Latushko Sergei I. – Junior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: smer444@mail.ru.

Silibin Maxim V. – Ph. D. (Engineering), Assistant Professor. National Research University of Electronic Technology “MIET” (1, Shokin sq., 124498, Zelenograd, Russian Federation). E-mail: sil_m@mail.ru.

Chobot Aleksandra N. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.n.chobot@tut.by.

Sysa Artem V. – Ph. D. (Engineering), Senior Researcher. National Research University of Electronic Technology “MIET” (1, Shokin sq., 124498, Zelenograd, Russian Federation). E-mail: sysa.artem@yandex.ru.

Neklyudov Kapiton N. – Junior Researcher. National Research University of Electronic Technology “MIET” (1, Shokin sq., 124498, Zelenograd, Russian Federation). E-mail: neklyudovk@gmail.com.

Chobot Gennadii M. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Assistant Professor. Belarusian State Agrarian Technical University (99, Nezavisimosti Ave., 220023, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: g.m.chobot@tut.by.

Karpinsky Dmitry V. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: karpinsky@ifftp.bas-net.by.

ХИМИЯ
CHEMISTRY

УДК [577.112.853+577.112.854]:57.083.3:615.281.8
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-404-413>

Поступило в редакцию 12.04.2022
Received 12.04.2022

Д. А. Семенов¹, И. И. Вашкевич¹, А. С. Владыко², О. В. Свиридов¹

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*
²*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь*

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА
И ВИРУСА SARS-CoV-2 С БЕЛКОВЫМ КОНЬЮГАТОМ ГЕПАРИНА**

(Представлено членом-корреспондентом С. А. Усановым)

Аннотация. Преимущества комплекса рекомбинантного лактоферрина человека (рчЛФ) с ионами европия использованы для установления количественных параметров специфического взаимодействия рчЛФ с иммобилизованным белковым конъюгатом гепарина как моделью гепарансульфат протеогликанов клеток. Продукт присоединения гепарина к инертному белку синтезирован в реакции восстановительного аминирования и адсорбирован посредством белковой части в лунках полистирольного микропланшета. Полученный из нативного рчЛФ комплекс рчЛФ–Eu³⁺ содержит 0,8 моль иона лантанида на моль белка (степень насыщения 40 %). Равновесие в гетерофазной системе связывания устанавливается в течение 1 мин при комнатной температуре, и рассчитанная константа ассоциации комплекса рчЛФ–гепарин составляет $2,1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$. Обратимый и насыщаемый характер связывания с гепарином рчЛФ, меченного по активному центру Eu³⁺, подтвержден переходом рчЛФ–Eu³⁺ в жидкую фазу при внесении в систему 1000-кратного мольного избытка немеченного рчЛФ. Выявлен основанный на сродстве рчЛФ к гликозаминогликану блокирующий эффект этого белка на связывание вируса SARS-CoV-2 с иммобилизованным гепарин-белковым конъюгатом, имитирующим протеогликан на поверхности клетки-хозяина. Предварительная обработка адсорбированного конъюгата раствором рчЛФ (10 мкг на лунку) уменьшает примерно на 80 % специфическое связывание 100 нг вирусных частиц, внесенных в лунку. Представленные результаты позволяют, в частности, оценивать целостность структуры и активность рчЛФ в качестве возможной субстанции пищевых добавок и фармацевтических средств и могут быть полезными в разработках комбинированных лекарств от коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: рекомбинантный лактоферрин человека, вирус SARS-CoV-2, гепарин, гепарансульфат протеогликан

Для цитирования. Взаимодействие рекомбинантного лактоферрина человека и вируса SARS-CoV-2 с белковым конъюгатом гепарина / Д. А. Семенов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 404–413. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-404-413>

Dmitry A. Semenov¹, Irina I. Vashkevich¹, Aleksandr S. Vladyko², Oleg V. Sviridov¹

¹*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus*

**INTERACTION OF RECOMBINANT HUMAN LACTOFERRIN AND SARS-COV-2 VIRUS
WITH HEPARIN-PROTEIN CONJUGATE**

(Communicated by Corresponding Member Sergey A. Usanov)

Abstract. The advantages of the complex of recombinant human lactoferrin (rhLF) with europium ions have been used to establish quantitative parameters of specific interaction of rhLF with immobilized heparin-protein conjugate as a model of cell-surface heparan sulfate proteoglycans. Heparin coupled through terminal formyl by reductive amination to an inert

protein was adsorbed through the protein part in the wells of a polystyrene microplate. The rhLF–Eu³⁺ complex obtained from native rhLF contains 0.8 mol of lanthanide ion per mol of protein (40 % saturation level). Equilibrium in the heterophase binding system is established within 1 min at room temperature, and the calculated association constant of the rhLF-heparin complex is $2.1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$. The reversible and saturable character of binding rhLF labeled by Eu³⁺ at the active site to heparin was confirmed by the transition of rhLF–Eu³⁺ into the liquid phase when a 1000-fold molar excess of unlabeled rhLF was added to the system. Based on the affinity of rhLF for glycosaminoglycan, a blocking effect of this protein on the binding of the SARS-CoV-2 virus to the immobilized heparin-protein conjugate that imitates proteoglycan on the host cell surface was revealed. Pretreatment of the adsorbed conjugate with a solution of rhLF (10 µg per well) reduces the specific binding of 100 ng of viral particles added to the well by approximately 80 %. The presented results allow one, in particular, to evaluate the integrity of the structure and activity of rhLF as a possible substance in food supplements and pharmaceuticals and may be useful in developing combined drugs for corona virus infection.

Keywords: recombinant human lactoferrin, SARS-CoV-2 virus, heparin, heparan sulfate proteoglycans

For citation. Semenov D. A., Vashkevich I. I., Vladyko A. S., Sviridov O. V. Interaction of recombinant human lactoferrin and SARS-CoV-2 virus to heparin-protein conjugate. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 404–413 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-404-413>

Введение. Лактоферрин (ЛФ) – это широко известный белок с выдающимися биологическими свойствами, необходимость или полезность которого для человека доказаны во множестве научных статей [1] и весьма широко представлены в публицистической литературе. Физиологические функции ЛФ, входящего в состав различных секреторных жидкостей и некоторых клеток организма, определяются его способностью обратимо хелатировать ионы железа и взаимодействовать с целым рядом биологических макромолекул, благодаря особенностям аминокислотной последовательности и доменной глобулярной структуры единственной полипептидной цепи. Одной из важнейших черт этого гликопротеина с молекулярной массой ~80 кДа является высокий общий положительный заряд: изоэлектрическая точка лежит при pH ~ 8,7. Однако заряд неравномерно распределен по молекуле, и функционально важным примером этого служит экспонированная в раствор N-концевая последовательность Arg²–Arg³–Arg⁴–Arg⁵ в комбинации с пространственно близким ей катионизированным фрагментом 27–30 на поверхности глобулы. Указанные структурные участки формируют предполагаемый сайт связывания молекулой ЛФ биологических полианионов, таких как гепарин, другие гликозаминогликаны, ДНК, липополисахарид, некоторые белки [2].

Ценный для здоровья человека белок ЛФ в самом ближайшем будущем должен найти практическое применение в виде биологически активных добавок в продуктах специализированного питания и лекарственных препаратов, выпускаемых пищевой индустрией и фармацевтической промышленностью Беларуси. Субстанцией будет служить высокоочищенный рекомбинантный биоаналог ЛФ человека (рчЛФ) из молока трансгенных коз [3], технология выделения которого и физиологические эффекты [4], антимикробные и антиоксидантные свойства [5], а также металл-связывающая активность [6] и методики иммунохимического анализа [7] описаны, в частности, в отечественной литературе.

Дополнительной важной характеристикой рчЛФ должны стать данные о его специфическом взаимодействии с биологическими макромолекулами, в том числе с отрицательно заряженными биополимерами, за счет правильно структурированных катионных кластеров белка. Это можно рассматривать даже как один из параметров контроля качества рчЛФ при его производстве. Действительно, в одной из пионерских работ в данной области [8] авторы изучали сродство природного ЛФ к нескольким видам макромолекулярных анионов, в том числе к гепарину, и сопоставили полученные данные с характеристиками взаимодействия рчЛФ из молока трансгенных мышей с теми же объектами для подтверждения идентичности структур природного и рекомбинантного белков и прогнозирования их одинаковых антибактериальных и противовоспалительных свойств.

Цель настоящей работы – характеристика активностей рчЛФ, обусловленных структурными участками, которые удалены и независимы от обоих Fe³⁺-связывающих центров, путем установления специфичности и количественных параметров взаимодействия рекомбинантного белка с гепарином, иммобилизованным на твердой фазе в составе конъюгата с альбумином сыворотки быка (БСА). Важным и, пожалуй, решающим отличием примененного нами методического под-

хода является использование в экспериментах интактного рЧЛФ, биологически меченного по металлсвязывающему центру способным к флуоресценции лантанидом, вместо поврежденной химической модификацией белковой метки.

В развитие работы проведен эксперимент, в котором выявленная гепаринсвязывающая активность рЧЛФ подавляет прикрепление вируса SARS-CoV-2 к твердофазному конъюгату гепарин-БСА, моделирующему протеогликан на поверхности клетки-хозяина.

Полученные результаты могут быть практически полезными при разработке критериев качества рЧЛФ как субстанции пищевых добавок и фармацевтических средств, а также в поиске комбинированных лекарств от коронавирусной инфекции.

Материалы и методы исследования. *Реактивы, препараты и приборы.* Препарат рЧЛФ с чистотой не менее 98 %, выделенный из молока трансгенных коз-продуцентов [3; 4], в виде сухого порошка получен от НПЦ НАН Беларуси по животноводству. Для определения концентрации белка в растворе измеряли характеристики поглощения с помощью спектрофотометра Specord M40 (Carl Zeiss, Германия).

В Институте биоорганической химии НАН Беларуси изготовлен диссоциативно-усиливающий раствор для лантанидного иммунофлуориметрического анализа (ЛИФМА). В экспериментах с применением метода иммуноферментного анализа (ИФА) использовался стабилизированный раствор хромоген-субстратной смеси (3,3',5,5'-тетраметилбензидин/ H_2O_2) от фирмы-изготовителя Иммунотех (Чехия). Раствор хлорида европия (III) приготовлен в Институте химии новых материалов НАН Беларуси. Точную концентрацию ионов европия в этом растворе определяли прямым комплексометрическим титрованием динатриевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты с использованием ксиленолового оранжевого в качестве индикатора. Содержание ионов железа в приготовленном растворе хлорида железа (III) устанавливали фотометрически по интенсивности окрашивания комплекса восстановленного солью гидроксиламина двухвалентного железа с о-фенантролином. Хроматографическая колонка PD-10 (Сефадекс G-25) для обессоливания растворов биополимеров куплена у фирмы GE Healthcare (США). Разборные полистирольные микропланшеты повышенной сорбционной емкости от Хема (Россия) применяли для конструирования гетерофазных систем ИФА и ЛИФМА. Другими реактивами служили соли, основания и кислоты высокой степени чистоты, доступные от поставщиков химреактивов в Республике Беларусь, а также БСА, $NaCNBH_3$, детергенты, бактериостатики, приобретенные у фирмы Sigma-Aldrich (США), тринатриевая соль нитрилотриуксусной кислоты моногидрат фирмы Alfa Aesar (США), сахароза (AppliChem, Германия), сорбит (Glentham Life Sciences, Великобритания).

Во всех экспериментах нашей работы использовали деионизированную воду с удельным электрическим сопротивлением 17–18 МОм · см, полученную в модульной системе очистки воды Arium® pro VF фирмы Sartorius (Германия).

Постановки ИФА и ЛИФМА выполняли в микропланшетном термошейкере PST-60HL с возможностью регулирования интенсивности встряхивания и температуры (Biosan, Латвия). Для измерения оптической плотности растворов при 450 нм в лунках микропланшета использовали прибор СPECTROstar NANO (BMG Labtech, Германия). Интенсивность времяразрешенной флуоресценции Eu^{3+} при длинах волн возбуждения и регистрации 340 и 613 нм с временной задержкой 400 мкс измеряли в микропланшетном флуориметре Delfia 1234 фирмы Wallac Oy (Финляндия).

Конъюгат гепарин–БСА. Нефракционированный гепарин был конъюгирован с аминоксислотной группой БСА через альдегидную группу свободного редуцирующего конца гликозаминогликана реакцией восстановительного аминирования по описанной методике [9]. В эксперименте гепарин (15,0 мг) и БСА (10,0 мг) растворяли в 1,0 мл 0,1 М ацетатного буфера, pH 5,0, содержащего 62,8 мг/мл цианоборогидрида Na. Эту реакционную смесь инкубировали в лабораторном термостате Heraeus (Германия) при 37 °C в течение 24 ч. Очистку конъюгата от непрореагировавших гепарина и БСА, а также низкомолекулярных примесей осуществляли эксклюзионной хроматографией в 0,3 М NaCl на колонке Superdex® 200 Prep Grade (GE Healthcare, США) в автоматической

системе ÄKTA pure (GE Healthcare, США). Для идентификации и выявления степени чистоты полученного конъюгата выполняли электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом Na без обработки 2-меркаптоэтанолом.

Продукт присоединения гепарина к инертному белку адсорбировали через белковую часть в лунках пластмассового микропланшета из 100 мкл раствора с концентрацией конъюгата 5,0 мг/л в 0,1 М NaHCO₃ выдерживанием в течение ночи при 4 °С. После промывки три раза по 200 мкл натрий-фосфатным буфером (НФБ), pH 7,4, содержащим Tween-20, блокировали свободные участки поверхности лунок и стабилизировали иммобилизованный конъюгат раствором НФБ, pH 7,4, включающим БСА, сахарозу, сорбит, тиомерсал (200 мкл на лунку). С целью дальнейшего хранения и использования для изучения взаимодействия гепарина с рчЛФ микропланшеты высушивали.

Параметры связывания комплекса рчЛФ–Eu³⁺ с конъюгатом гепарин–БСА. Для расчета по графику в координатах Скэтчарда количественных параметров взаимодействия рчЛФ, меченого по металлсвязывающему центру ионами европия, с иммобилизованным на твердой фазе белковым конъюгатом гепарина вносили в функционализированные лунки микропланшета по 100 мкл раствора комплекса рчЛФ–Eu³⁺ в трис-НСI буфере, pH 7,4, содержащем Tween-20, NaN₃, БСА (раствор для разведения в ЛИФМА), в диапазоне концентраций от 3,0 до 500,0 нМ. Инкубацию проводили в термошейкере со встряхиванием при 25 °С в течение 1 ч для установления равновесия в системе. После трехкратной промывки лунок микропланшета трис-НСI буферным раствором, pH 7,4, без БСА (промывочный раствор в ЛИФМА) вносили по 100 мкл диссоциативно-усиливающего раствора и через 10 мин измеряли интенсивность флуоресценции ионов европия, высвободившихся из связанного с гликозаминогликаном рчЛФ–Eu³⁺.

С целью оценки кинетических параметров ассоциации рчЛФ с гепарин-белковым конъюгатом в лунки микропланшета вносили по 100 мкл раствора комплекса рчЛФ–Eu³⁺ с концентрацией 125,0 нМ и инкубировали в термошейкере со встряхиванием при 25 °С в течение разных промежутков времени, начиная с 1 мин, до 1 ч. После обработки лунок промывочным раствором в ЛИФМА добавляли диссоциативно-усиливающий раствор и измеряли сигнал флуоресценции микропланшетным флуориметром. Для изучения кинетики диссоциации уже связанного рчЛФ–Eu³⁺ на твердой фазе с конъюгатом гепарин–БСА после инкубации меченого рчЛФ в течение 5 мин и промывки лунок вносили 1000-кратный мольный избыток (~10 мкг) немеченого рчЛФ по отношению к максимальной связывающей емкости сорбента, определенной по графику Скэтчарда. Затем также проводили инкубации в течение разных временных промежутков на протяжении 1 ч, а после промывки лунок и внесения диссоциативно-усиливающего раствора детектировали интенсивность флуоресценции с разрешением во времени.

Влияние рчЛФ на связывание вируса SARS-CoV-2 с конъюгатом гепарин–БСА. Для оценки конкурентного ингибирования связывания вируса SARS-CoV-2 с белковым конъюгатом гепарина в присутствии рчЛФ иммобилизованный конъюгат обрабатывали раствором рекомбинантного белка (10 мкг на лунку) в НФБ, pH 7,4, включающим Tween-20, тиомерсал и БСА. После промывки раствором без БСА в лунки микропланшета вносили вирусные частицы SARS-CoV-2 (7763), которые были получены в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, в количестве 100 нг. Образовавшийся на твердой фазе комплекс гепарина с вирусом выявляли путем последовательного внесения разведенной в 100 и 1000 раз сыворотки крови человека, содержащей антитела к вирусу, и антивидовых антител, меченных пероксидазой из корней хрена (Abscam ab97225, Великобритания), в разведении 1 : 5000. Количество связавшегося фермента оценивали путем измерения оптической плотности раствора в лунках после добавления хромоген-субстратной смеси. В качестве контроля проводились эксперименты без обработки функционализированной твердой фазы раствором рчЛФ, а также с применением сыворотки крови человека, не перенесшего коронавирусную инфекцию.

Все эксперименты в данном исследовании проводили не менее чем в трех повторах, достоверность $p < 0,05$. Обработку данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel. На графиках планки погрешностей обозначают стандартное отклонение экспериментальных значений.

Результаты и их обсуждение. Для количественной характеристики катион-анионных взаимодействий с участием рчЛФ мы разработали гетерофазную систему лиганд-белкового связыва-

ния, в которой в качестве анионного лиганда выступает гепарин, адсорбированный в лунках микропланшета через полипептидную часть конъюгата с БСА, а белок представлен комплексом рчЛФ– Eu^{3+} в жидкой фазе. Определение количества связанного рчЛФ на твердой фазе достигается диссоциацией иммобилизованного комплекса в добавляемом хелатно-детергентном растворе с пониженным рН и измерением интенсивности флуоресценции образовавшегося хелата Eu^{3+} с разрешением во времени. Наряду с установлением кинетических и равновесных параметров связывания в системе можно измерить показатели обратимости и специфичности взаимодействия, влияние температуры, а также органических и минеральных компонентов среды на этот процесс. Некоторые из таких экспериментов проведены нами, и далее переходим к представлению и обсуждению полученных результатов.

Компоненты системы связывания. Главными и постоянными компонентами гетерофазной системы нековалентного связывания белка с гликозаминогликаном являются комплекс рчЛФ– Eu^{3+} в растворе и конъюгат гепарин–БСА, иммобилизованный путем физической адсорбции на внутренней поверхности лунок полистирольного микропланшета (рис. 1). Также постоянными (за исключением специальных экспериментов) поддерживались солевой состав (0,05 М трис-НСl, 0,15 М NaCl, 0,02 % Tween-20, 0,05 % NaN_3 , 0,1 % БСА) и рН (7,4) жидкой фазы, при которых не блокировалось взаимодействие рчЛФ с гепарином и не протекала элюция связанного с гликозаминогликаном белка. Нативность или денатурированное состояние препаратов рчЛФ устанавливалось спектрофотометрически или флуориметрически по связыванию соответственно Fe^{3+} или Eu^{3+} [6], а также определением иммунореактивности по отношению к специфическим поликлональным антителам [7]. Неповрежденная структура комплекса рчЛФ– Eu^{3+} подтверждалась его активностью в ЛИФМА [7] и удерживанием Eu^{3+} в присутствии хелатирующих агентов в невысоких концентрациях при нейтральных значениях рН [6].

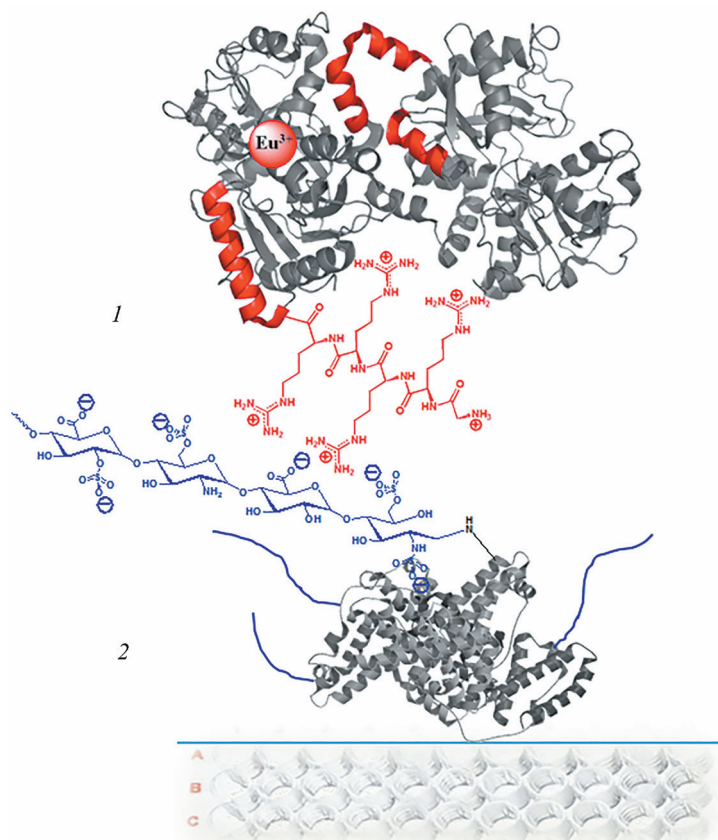


Рис. 1. Схематическое изображение гетерофазной системы связывания:
1 – комплекс рчЛФ– Eu^{3+} в растворе; 2 – конъюгат гепарин–БСА на твердой фазе

Fig. 1. Schematic illustration of the heterophase binding system:
2 – the conjugate of heparin and bovine serum albumin (BSA) on a solid phase

Выбор способа опосредованного покрытия твердой фазы гепарином основывался на литературных данных. Стадии первоначальной адсорбции катионного белка протамин сульфата в лунках микропланшета с последующим связыванием отрицательно заряженной молекулы гепарина [8] из-за непредсказуемости и возможной подвижности конечной структуры показали нам менее предпочтительными, чем адсорбционная иммобилизация на твердой фазе конъюгата гепарин–БСА через его белковую часть. Действительно, во втором случае гепариновые цепи присоединяются к инертному белку за счет своего концевого атома, строго ориентированы в раствор и полностью сохраняют многочисленные отрицательные заряды (рис. 1). Конъюгирование гепарина с БСА мы осуществили методом восстановительного аминирования [9], а высокоэффективную очистку продукта провели на автоматической установке для быстрой гель-хроматографии белков. Методика иммобилизации конъюгата обеспечивает устойчивость гепаринизированной твердой фазы к рабочим концентрациям детергентов, солей и ионов водорода в жидкой фазе при длительном (несколько суток) выдерживании на холоде, при комнатной температуре и умеренном нагреве.

В литературе для детекции связывания ЛФ с иммобилизованными биомакромолекулами описано применение комбинаций антител, специфичных к ЛФ, и меченных ферментом антивидовых антител или биотинилированного ЛФ и конъюгата стрептавидина с пероксидазой [8], а также сообщалось об использовании ЛФ, ацилированного по доступным остаткам лизина диангидридом диэтилентриаминпентауксусной кислоты и способного связывать 9 ионов европия на 1 молекулу ЛФ [10]. Конечно, прямое химическое мечение ЛФ дает продукт, упрощающий эксперимент по связыванию и обеспечивающий большую экспериментальную гибкость и возможность более правильной и точной количественной характеристики взаимодействия с гепарином. Мы в этом отношении решили пойти дальше, исключив химическое повреждение заряженной поверхности белковой глобулы органическими молекулами, и получили флуоресцентный рчЛФ за счет «биологически» внедренного иона редкоземельного металла в активный центр внутри третичной структуры белка [6]. Удельная интенсивность времязрешенной флуоресценции рчЛФ–Eu³⁺, хотя и меньшая, чем у конъюгата ЛФ с органическим комплексонатом Eu³⁺ [10], была вполне достаточной для количественной оценки кинетики и равновесного состояния реакции связывания с гепарином.

Кинетические характеристики и равновесные параметры связывания. Количество рчЛФ–Eu³⁺, ассоциированного с гепарин–БСА, выходит на максимум практически сразу, в течение 1 мин после начала взаимодействия (рис. 2, а), и остается на плато с небольшими колебаниями (коэффициент вариации – 6 %) в течение суток. В литературе аналогичный результат был получен в гомогенной системе для комплексообразования между ЛФ и [3Н]гепарином [11]. Диссоциация гепаринового комплекса рчЛФ–Eu³⁺ протекает на 74 % в первую минуту после внесения в систему 1000-кратного мольного избытка немеченного рчЛФ (рис. 2, а), и далее оставшееся количество связанного меченного белка медленно падает примерно в 3 раза в течение часа. Значит, связывание рчЛФ с гепарином является обратимым и насыщаемым. Похожий характер носит изученное нами ранее взаимодействие твердофазного рчЛФ с антителами в растворе, но в этом случае связывание достигает максимума лишь через 20 мин инкубации, и после примерно такого же промежутка времени выходит на плато реакция конкурентного ингибирования связывания за счет рчЛФ, внесенного в жидкую фазу [7].

При определении равновесной константы ассоциации (K_a) использованы две концентрации конъюгата гепарин–БСА на твердой фазе: конъюгат иммобилизовался из растворов с содержанием 5,0 и 0,5 мг/л. Обработка экспериментальных данных и графические построения в координатах Скэтчарда показали, что углы наклона двух линеаризованных прямых почти одинаковы (рис. 2, б), значит, показатели правильности и точности расчета K_a для этих двух концентраций достоверно не отличаются, и для взаимодействия рчЛФ с гепарином $K_a = 2,1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$.

Гораздо более высоким сродством характеризовалось связывание рчЛФ с поликлональными антителами в гетерофазной системе: $1,5 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}$ [7]. Однако для систем белок–гликозаминогликан невысокое сродство является типичным, и, например, в случае комплекса авидин–гепарин $K_a = 0,63 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ [12].

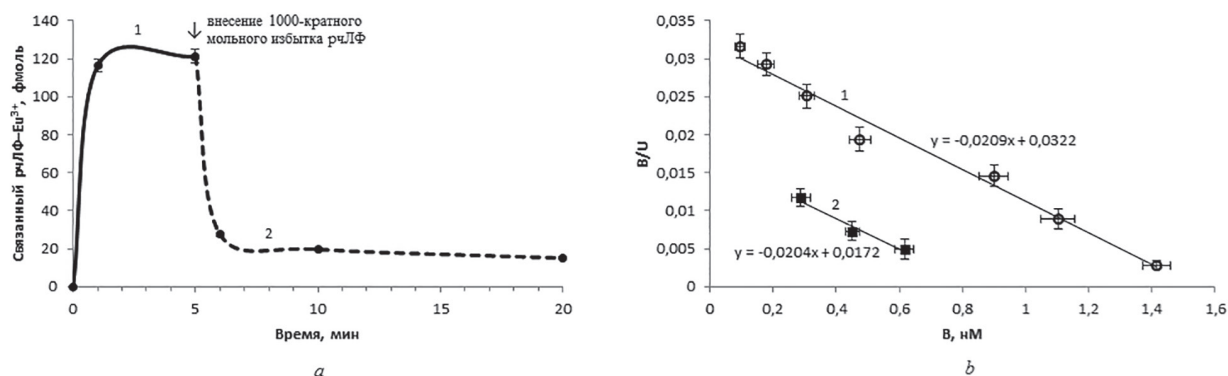


Рис. 2. Кинетика связывания комплекса рчЛФ–Eu³⁺ с конъюгатом гепарин-БСА: 1 – ассоциация; 2 – диссоциация при внесении в систему 1000-кратного молярного избытка рчЛФ (а). Скэтчардовский график зависимости между концентрациями рчЛФ–Eu³⁺, связанного с гепарин-БСА на твердой фазе (В) и свободного в растворе (U) в состоянии равновесия в гетерофазной системе, где гепариновый конъюгат иммобилизовался из растворов с содержанием: 1 – 5,0 мг/л; 2 – 0,5 мг/л (b)

Fig. 2. The kinetics of rhLF–Eu³⁺ complex binding to heparin-BSA conjugate: 1 – association; 2 – dissociation after adding of a 1000-fold molar excess of rhLF to the system (a). Scatchard plot of dependence between the concentrations of rhLF–Eu³⁺ bound to heparin-BSA on the solid phase (B) and unbound in the solution (U) at equilibrium in the heterophase system, where the heparin conjugate was immobilized from solutions containing: 1 – 5.0 mg/L; 2 – 0.5 mg/L (b)

Блокирующее действие рчЛФ на связывание вируса SARS-CoV-2 с конъюгатом гепарин–БСА.

Многочисленными исследованиями показано, что присутствующие на поверхности клеток человека гепарансульфат протеогликианы (ГСП) играют роль первичных связывающих сайтов для разнообразных вирусов, облегчая их последующую рецепцию специализированными белками клеточной поверхности и интернализацию [13]. Так, в одной из основополагающих работ [14] найдено, что псевдовиром SARS как экспериментальная модель вируса SARS-CoV эффективно проникает в клетку при биохимически согласованном участии ГСП как участка прикрепления и ангиотензинпревращающего фермента 2 в качестве рецептора, причем в обеих стадиях участвует вирусный спайк-белок. Разрушение поверхностного гликозаминогликана гепариназой или добавление гепарина в систему клетка–вирус *in vitro* резко повышает устойчивость клетки к инфекции. Авторы обнаружили также, что ЛФ коров адсорбируется на клеточной поверхности, связываясь с ГСП, и блокирует первичное взаимодействие SARS с клеткой. В [13] коровий ЛФ, безопасная и коммерчески широкодоступная пищевая добавка, идентифицирован как эффективный противовирусный агент в отношении SARS-CoV-2 в трансформированных и в физиологически релевантных клетках человека. Исследователи показали, что природный ЛФ и холо-ЛФ (но не трансферрин) одинаково эффективно препятствуют заражению вирусом SARS-CoV-2 гепатоклеточной карциномы человека (Huh7), выбранной в качестве оптимальной линии для исследования эффектов различных коммерчески доступных фармсредств и биореагентов на коронавирусную инфекцию. Отмечается, что противовирусное действие ЛФ обусловлено нейтрализацией связывающей активности ГСП клетки в отношении SARS-CoV-2. При этом важно отметить, что у людей, инфицированных коронавирусом острого респираторного синдрома, экспрессия гена ЛФ повышается примерно в 150 раз по сравнению с нормой [14].

Эти интересные в научном отношении и важные для практики результаты побудили нас впервые исследовать индивидуальное и совместное с рчЛФ связывание вируса SARS-CoV-2 с твердофазным конъюгатом гепарин–БСА как моделью клеточного ГСП. Вирусные частицы вносили в два ряда лунок микропланшета с иммобилизованным конъюгатом, причем один из рядов был предварительно обработан раствором рчЛФ и содержал этот белок, специфически адсорбированный на гепариновых цепях конъюгата. После инкубации и промывок проводилось определение фона или выявление связанного вируса в лунках путем внесения нормальной сыворотки или антисыворотки к SARS-CoV-2 человека (каждая в двух разведениях) с последующей обработкой промытых лунок антивидовыми антителами, меченными пероксидазой, проведени-

ем ферментативной реакции и регистрацией колориметрического сигнала (рис. 3, *a*). В экспериментах использовались сыворотки Вu-1 человека, который не болел и не имел антител к коронавирусу (контроль фона), и VL-1 человека, переболевшего ковид-19 и являющегося носителем антител класса G как к нуклеокапсидному, так и к спайковому белкам SARS-CoV-2.

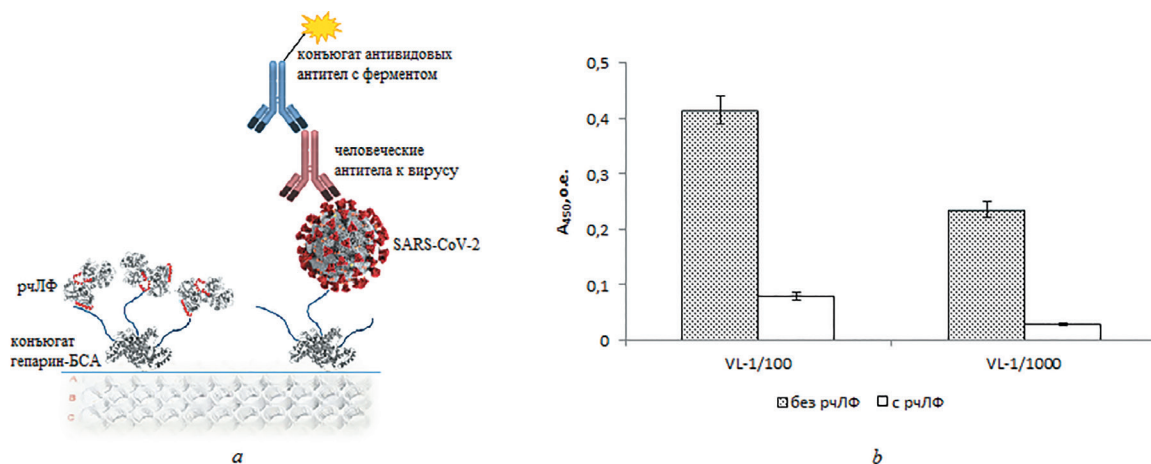


Рис. 3. Конструкция системы связывания (*a*) и результаты взаимодействия вируса SARS-CoV-2 с конъюгатом гепарин–БСА в отсутствие рчЛФ в системе и после обработки конъюгата белком рчЛФ (*b*)

Fig. 3. The scheme of the binding system (*a*) and the results of the interaction of the SARS-CoV-2 virus with heparin–BSA conjugate in the absence of rhLF in the system and after treatment of the conjugate with the rhLF protein (*b*)

На рис. 3, *b* представлены с вычетом фоновых значений результаты детекции вируса, связанного с конъюгатом гепарин–БСА, в контрольных и в обработанных раствором рчЛФ лунках. Видно, что рчЛФ ингибирует более чем на 80 % взаимодействие SARS-CoV-2 с гликозаминогликаном, т. е. структура исследованного препарата рчЛФ обладает целостностью и содержит в надлежащих местах макромолекулы, характерные для природного белка поверхностные катионные участки, обеспечивающие его активность по одному из механизмов антивирусной защиты.

Заключение. Многие функции природного ЛФ, жизненно необходимые или полезные для человека, обусловлены взаимодействиями периферических поверхностных участков третичной структуры этого белка, независимых от металлсвязывающих центров, с биологическими макромолекулами хозяина или инфицирующего агента. Поэтому в исследованиях, подготавливающих препарат рчЛФ к практическому применению, актуальной является задача установления структурной целостности и активности таких участков в рекомбинантном белке. Мы установили в препарате рчЛФ, имеющем статус производственного образца, наличие специфических положительно заряженных и экспонированных в раствор кластеров аминокислотных остатков по характеристикам их взаимодействия с биологическим полианионом на примере иммобилизованного гепарина – представителя гликозаминогликанов, моделирующего ГСП на поверхности клетки. В конъюгате гепарин–БСА, полученном путем восстановительного аминирования, углеводные цепи с многочисленными отрицательными зарядами ориентированы в раствор, а белковая часть обеспечивает прочную адсорбционную иммобилизацию в лунках пластмассового микропланшета. Добавляемый в жидкую фазу микропланшетной системы рчЛФ содержал ион Eu^{3+} в активном центре, детекция которого в связанном с гепарином белке осуществлялась измерением времязрешенной флуоресценции. Связывание носит обратимый и насыщаемый характер, и рассчитанное значение равновесной константы ассоциации составляет $2,1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$. Внесение в функционализированные лунки вирусных частиц SARS-CoV-2 приводило к их иммобилизации на конъюгате гепарин–БСА, поскольку коронавирусы способны прикрепляться к поверхности клетки-хозяина за счет зарядовых взаимодействий с клеточными ГСП, структурно родственными конъюгированному гепарину. В результате обработки конъюгата раствором рчЛФ связывание SARS-CoV-2 с гликозаминогликаном снижалось на 80 %.

Таким образом, обладающий металлсвязывающей активностью рчЛФ в форме комплекса с Eu^{3+} способен вступать в электростатические взаимодействия с биологическим полианионом за счет своей неповрежденной периферической структуры, включающей поверхностные катионные кластеры. Тест на взаимодействие рчЛФ– Eu^{3+} с иммобилизованным конъюгатом гепарин–БСА может выполняться при разработке параметров качества рчЛФ в процессе его производства и подготовке к применению в качестве субстанции пищевых добавок и фармацевтических средств, а также в поиске комбинированных лекарств от коронавирусной инфекции.

Список использованных источников

1. Борзенкова, Н. В. Лактоферрин: физико-химические свойства, биологические функции, системы доставки, лекарственные препараты и биологически активные добавки (обзор) / Н. В. Борзенкова, Н. Г. Балабушевич, Н. И. Ларионова // *Биофармацевтический журнал*. – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 3–19.
2. Mann, D. M. Delineation of the glycosaminoglycan-binding site in the human inflammatory response protein lactoferrin / D. M. Mann, E. Romm, M. Migliorini // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269, N 38. – P. 23661–23667. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)31566-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)31566-1)
3. Goats producing biosimilar human lactoferrin / D. M. Bogdanovich [et al.] // *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. – 2021. – Vol. 848, N 1. – Art. 012080. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/848/1/012080>
4. Получение рекомбинантного лактоферрина человека из молока коз-производителей и его физиологические эффекты / В. С. Лукашевич [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2016. – Т. 60, № 1. – С. 72–81.
5. Антимикробные и антиоксидантные свойства апо-формы рекомбинантного человеческого лактоферрина, выделенного из молока коз-производителей / Р. Н. Бирюков [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты*. – 2017. – Т. 9. – С. 305–317.
6. Некоторые металлсвязывающие свойства рекомбинантного лактоферрина человека из молока трансгенных коз / Д. А. Семенов [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2022. – Т. 66, № 1. – С. 43–54. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-1-43-54>
7. Семенов, Д. А. Новые иммуноаналитические системы на основе рекомбинантного лактоферрина человека / Д. А. Семенов, И. И. Вашкевич, О. В. Свиридов // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2021. – Т. 65, № 3. – С. 290–302. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-290-302>
8. N-terminal stretch Arg^2 , Arg^3 , Arg^4 and Arg^5 of human lactoferrin is essential for binding to heparin, bacterial lipopolysaccharide, human lysozyme and DNA / P. H. C. van Berkel [et al.] // *Biochem. J.* – 1997. – Vol. 328, N 1. – P. 145–151. <https://doi.org/10.1042/bj3280145>
9. Hermanson, G. T. *Bioconjugate techniques* / G. T. Hermanson. – 3rd ed. – Academic Press, 2013. – P. 217–218. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-64240-9>
10. Direct detection of the binding of avidin and lactoferrin fluorescent probes to heparinized surfaces / W. C. Kett [et al.] // *Analytical Biochemistry*. – 2005. – Vol. 339, N 2. – P. 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.01.054>
11. Pejler, G. Lactoferrin regulates the activity of heparin proteoglycan-bound mast cell chymase: characterization of the binding of heparin to lactoferrin / G. Pejler // *Biochem. J.* – 1996. – Vol. 320, N 3. – P. 897–903. <https://doi.org/10.1042/bj3200897>
12. Avidin is a heparin-binding protein. Affinity, specificity and structural analysis / W. C. Kett [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2003. – Vol. 1620, N 1–3. – P. 225–234. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(02\)00539-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(02)00539-1)
13. Morphological cell profiling of SARS-CoV-2 infection identifies drug repurposing candidates for COVID-19 / C. Mirabelli [et al.] // *PNAS*. – 2021. – Vol. 118, N 36. – Art. e2105815118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2105815118>
14. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans / J. Lang [et al.] // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6, N 8. – Art. e23710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023710>

References

1. Borzenkova N. V., Balabushevich N. G., Lariionova N. I. Lactoferrin: physical and chemical properties, biological functions, delivery systems, pharmaceutical and nutraceutical preparations (review). *Biofarmaceuticheskiy jurnal = Biopharmaceutical Journal*, 2010, vol. 2, no. 3, pp. 3–19 (in Russian).
2. Mann D. M., Romm E., Migliorini M. Delineation of the glycosaminoglycan-binding site in the human inflammatory response protein lactoferrin. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, vol. 269, no. 38, pp. 23661–23667. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)31566-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)31566-1)
3. Bogdanovich D. M., Radchikov V. F., Kuznetsova V. N., Petrushko E. V., Spivak M. E., Sivko A. N. Goats producing biosimilar human lactoferrin. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, vol. 848, no. 1, art. 012080. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/848/1/012080>
4. Lukashevich V. S., Budzevich A. I., Semak I. V., Kuznetsova V. N., Malyushkova E. V., Pyzh A. E., Novakovskaya S. A., Rudnichenko J. A., Popkov N. A., Ivashkevich O. A., Zalutsky I. V. Production of recombinant human lactoferrin from the milk of goat-producers and its physiological effects. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 1, pp. 72–81 (in Russian).
5. Birukou R. N., Kastsiyanovich A. A., Kapustin M. A., Falkouskaya U. V., Chubarova H. S., Hubchik K. A. Antimicrobial and antioxidant properties of apoform of recombinant human lactoferrin isolated from goat milk. *Mikrobnye biotekhnologii:*

fundamental'nye i prikladnye aspekty = Microbial biotechnologies: fundamental and applied aspects, 2017, vol. 9, pp. 305–317 (in Russian).

6. Semenov D. A., Kuprienko O. S., Vashkevich I. I., Sviridov O. V. Some metal binding properties of recombinant human lactoferrin from the milk of transgenic goats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 1, pp. 43–54 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-1-43-54>

7. Semenov D. A., Vashkevich I. I., Sviridov O. V. New immunoassay systems based on recombinant human lactoferrin. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 3, pp. 290–302 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-290-302>

8. Van Berkel P. H. C., Geerts E. J. M., van Veen A. H., Mericskay M., de Boer A. H., Nuijens J. H. N-terminal stretch Arg², Arg³, Arg⁴ and Arg⁵ of human lactoferrin is essential for binding to heparin, bacterial lipopolysaccharide, human lysozyme and DNA. *Biochemical Journal*, 1997, vol. 328, no. 1, pp. 145–151. <https://doi.org/10.1042/bj3280145>

9. Hermanson G. T. *Bioconjugate techniques, Third Edition*. Academic Press, 2013, pp. 217–218. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-64240-9>

10. Kett W. C., Osmond R. I. W., Stevenson S. M., Moe L., Coombe D. R. Direct detection of the binding of avidin and lactoferrin fluorescent probes to heparinized surfaces. *Analytical Biochemistry*, 2005, vol. 339, no. 2, pp. 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.01.054>

11. Pejler G. Lactoferrin regulates the activity of heparin proteoglycan-bound mast cell chymase: characterization of the binding of heparin to lactoferrin. *Biochemical Journal*, 1996, vol. 320, no. 3, pp. 897–903. <https://doi.org/10.1042/bj3200897>

12. Kett W. C., Osmond R. I. W., Moe L., Skett S. E., Kinnear B. F., Coombe D. R. Avidin is a heparin-binding protein. Affinity, specificity and structural analysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, vol. 1620, no. 1–3, pp. 225–234. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(02\)00539-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(02)00539-1)

13. Mirabelli C., Wotring J. W., Zhang C. J., McCarty S. M., Fursmidt R., Pretto C. D., Qiao Y., Zhang Y., Frum T., Kadambi N. S., Amin A. T., O'Meara T. R., Spence J. R., Huang J., Alysandratos K. D., Kotton D. N., Handelman S. K., Wobus C. E., Weatherwax K. J., Mashour G. A., O'Meara M. J., Chinnaiyan A. M., Sexton J. Z. Morphological cell profiling of SARS-CoV-2 infection identifies drug repurposing candidates for COVID-19. *PNAS*, 2021, vol. 118, no. 36, art. e2105815118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2105815118>

14. Lang J., Yang N., Deng J., Liu K., Yang P., Zhang G., Jiang C. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 8, art. e23710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023710>

Информация об авторах

Семенов Дмитрий Александрович – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dsemenov@iboch.by.

Вашкевич Ирина Игнатьевна – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vashkevich@iboch.by.

Владыко Александр Станиславович – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vladuko@belriem.by.

Свиридов Олег Васильевич – д-р хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sviridov@iboch.by.

Information about the authors

Semenov Dmitry A. – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dsemenov@iboch.by.

Vashkevich Irina I. – Ph. D. (Chemistry), Leading Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vashkevich@iboch.by.

Vladyko Aleksandr S. – D. Sc. (Medicine), Chief Researcher. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vladuko@belriem.by.

Sviridov Oleg V. – D. Sc. (Chemistry), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sviridov@iboch.by.

БИОЛОГИЯ**BIOLOGY**

УДК 577.212:575.164:635.649:635.33

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-414-424>

Поступило в редакцию 12.04.2022

Received 12.04.2022

**О. Г. Бабак¹, Н. В. Анисимова¹, Т. В. Никитинская¹, Н. А. Некрашевич¹, К. К. Яцевич¹,
Е. В. Дрозд¹, Д. А. Фатеев², Ф. А. Беренсен², А. М. Артемьева², академик А. В. Кильчевский¹**

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург,
Российская Федерация

**ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ R2R3 MYB ТРАНСКРИПЦИОННЫХ
ФАКТОРОВ КУЛЬТУР СЕМЕЙСТВА SOLANACEAE И ГЕНА MYB114 РОДА BRASSICA
В СВЯЗИ С РЕГУЛЯЦИЕЙ БИОСИНТЕЗА АНТОЦИАНОВ**

Аннотация. На основе сравнения генов R2R3 Myb транскрипционных факторов у овощных пасленовых (*S. lycopersicum*: *Ant1*, *Ant2*, *S. melongena*: *Myb1*, *C. annuum*: *Myb113-like1* и *Myb113-like2*) и капустных культур выполнен поиск ортологичных последовательностей. Выявлены наиболее близкие по нуклеотидной структуре к ранее изученным генам у пасленовых последовательности, кодирующие Myb114 TF у *Brassica oleracea* и *Brassica rapa*. Изучен полиморфизм в промоторной области гена *Myb113-like1 Capsicum annuum*, регулирующего биосинтез антоцианов: дополнительный повтор размером 148 п. н. и вставка 2 (1) п. н. у форм с нарушенным синтезом антоцианов в плодах. Установлена связь между наличием вставки в промоторе (*Myb113-like1pr⁺¹⁴⁸*) с полиморфизмами в экзонных областях генов *Myb113-like1^{delT}* и *Myb113-like2^{CIA}*, связанными с нарушением синтеза антоцианов. Выявлен ряд полиморфизмов гена *Myb114* у овощных культур семейства капустных (*Brassica oleracea*, *Brassica rapa*), тесно коррелирующих с высоким/низким накоплением антоцианов в листьях. У *B. oleracea* выявлены SNP, которые ведут к замене двух аминокислот, расположенных в области ДНК-связывающих доменов, что приводит к изменению эффективности связывания данного транскрипционного фактора с промоторами структурных генов биосинтеза. Белковая последовательность, кодируемая геном *Myb114*, у образцов *B. rapa* разновидности репа листовая с высоким накоплением антоцианов в листьях отличалась от таковой у образцов с отсутствием антоцианов в листьях пятью аминокислотами, при этом области ДНК-связывающих доменов были одинаковыми у форм с различным накоплением антоциана.

Ключевые слова: генетическая регуляция биосинтеза антоцианов, R2R3 Myb-транскрипционные факторы, ДНК-маркеры, *Solanaceae*, *Capsicum*, *Brassica*

Для цитирования. Изучение полиморфизма генов R2R3 Myb транскрипционных факторов культур семейства *Solanaceae* и гена *Myb114* рода *Brassica* в связи с регуляцией биосинтеза антоцианов / О. Г. Бабак [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 414–424. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-414-424>

**Olga G. Babak¹, Natalia V. Anisimova¹, Tatiana V. Nikitinskaya¹, Nataliya A. Nekrashevich¹,
Konstanciya K. Yatsevich¹, Lizaveta V. Drozd¹, Dmitry A. Fateev², Fedor A. Berensen²,
Anna M. Artemyeva², Academician Alexander V. Kilchevsky¹**

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources, Saint Petersburg, Russian Federation

**INVESTIGATING OF THE POLYMORPHISM OF SOLANACEAE R2R3 MYB
AND BRASSICA MYB114 GENES OF TRANSCRIPTION FACTORS IN CONNECTION
WITH THE ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS REGULATION**

Abstract. Based on comparison of R2R3 Myb genes in *Solanaceae* (*S. lycopersicum*: *Ant1*, *Ant2*, *S. melongena*: *Myb1*, *C. annuum*: *Myb113-like1* and *Myb113-like2*) and *Brassicaceae* crops, a search for orthologous sequences was performed. The sequences encoding Myb114 TF in *Brassica oleracea* and *Brassica rapa* was found to be the closest in a nucleotide structure to the previously investigated genes in *Solanaceae*. The polymorphism in the promoter region of the *Capsicum annuum Myb113-like1* gene that regulates anthocyanin biosynthesis: an additional 148 bp repeat and 2(1) bp insertion in the forms with impaired anthocyanin synthesis in fruits was studied. A relationship between the presence of an insert in the promoter (*Myb113-like1pr⁺¹⁴⁸*) and polymorphisms in the exon regions of *Myb113-like1^{delT}* and *Myb113-like2^{CIA}* genes associated with impaired anthocyanin synthesis was established. A number of polymorphisms of the *Myb114* gene in vegetable crops of the

cabbage family (*Brassica oleracea*, *Brassica rapa*), which closely correlate with high/low accumulation of anthocyanins in leaves, were identified. In *B. oleracea*, SNPs that lead to the replacement of two amino acids located in the region of DNA-binding domains were found, which leads to a change in the efficiency of binding of this transcription factor and the promoters of structural biosynthesis genes. A protein sequence encoded by the *Myb114* gene in accessions of the leafy turnip (*B. rapa*) with a high accumulation of anthocyanins in the leaves differed from the accessions without anthocyanin accumulation in the leaves by five amino acids, while the regions of DNA-binding domains were the same in the forms with various anthocyanin accumulation.

Keywords: gene regulation of anthocyanin synthesis, R2R3 MYB-transcription factors, DNA markers, *Solanaceae*, *Capsicum*, *Brassica*

For citation. Babak O. G., Anisimova N. V., Nikitinskaya T. V., Nekrashevich N. A., Yatsevich K. K., Drozd L. V., Fateev D. A., Berensen F. A., Artemyeva A. M., Kilchevsky A. V. Investigating of the polymorphism of *Solanaceae* R2R3 Myb and *Brassica Myb114* genes of transcription factors in connection with the anthocyanin biosynthesis regulation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 414–424 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-414-424>

Введение. Антоцианы, являясь одной из форм вторичных метаболитов в различных систематических группах растений, не только придают окраску определенным частям растений, но и обеспечивают один из древнейших механизмов устойчивости к абиотическим и биотическим стрессовым факторам. В связи с этим изучение генетики накопления определенных форм антоцианов и их регуляции является важным для создания новых сортов растений с высокой стрессоустойчивостью. Постоянно растущее внимание, уделяемое изучению особенностей накопления антоцианов, также связано с антиоксидантными и антимикробными свойствами антоцианов, потребляемых человеком с растительной пищей [1].

Механизм биосинтеза и регуляции антоцианов хорошо изучен на таких растениях, как арабидопсис, кукуруза, пшеница, томат, а также на плодовых яблоне, груше, персике [2–4]. Семейство *Solanaceae* является удобным объектом для изучения генетических механизмов регуляции накопления антоцианов в связи с широким меж- и внутривидовым полиморфизмом их накопления в различных частях растений. К настоящему времени в генетических базах данных представлены последовательности генов ряда Myb-транскрипционных факторов (ТФ), детерминирующих накопление различных форм антоцианов. В [5; 6] показан различный уровень их экспрессии у форм с накоплением и отсутствием антоцианов в плодах, при этом генетический полиморфизм данных генов не изучен. Jung с соавт. установлена регуляция накопления антоцианов в плодах перца геном *CaAn2*, кодирующим R2R3 MYB ТФ, путем создания трансгенных растений табака и арабидопсиса, экспрессирующих ген *CaAn2* и дающих антоциановую окраску тканей трансгенных растений [7]. В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси (ИГЦ) выполнен на основе секвенирования сравнительный анализ ряда последовательностей генов *R2R3-Myb* ТФ у пасленовых, который позволил выявить наиболее близкие к *Ant1* томата (*Solanum lycopersicum*) по нуклеотидному составу последовательности *Myb113-like 1* (*CaAn2* согласно Jung с соавт.) и *Myb113-like 2* у перца (*Capsicum annuum*), а также *Myb1* у баклажана (*Solanum melongena*) генетического банка NCBI. Были установлены генетические полиморфизмы экзонной области данных генов, приводящие к изменению структуры кодируемого белка и нарушению процесса биосинтеза антоцианов в плодах и вегетативных органах [8; 9].

Анализ исследований генетики накопления антоцианов у представителей рода *Brassica* L., характеризующихся широким спектром антоциановой окраски различных продуктивных органов, в настоящее время в основном связан с идентификацией структурных и регуляторных генов, участвующих в определении этапов биосинтеза, их картировании и оценке уровня экспрессии [10–13].

Целью данного этапа исследований являлся поиск полиморфизма генов овощных пасленовых и капустных культур, связанного с регуляцией биосинтеза антоцианов в растениях. Задачами данного этапа исследований были: анализ генетического полиморфизма промоторной области гена *Myb113-like1* рода *Capsicum* и оценка его связи с ранее выявленными нами изменениями структуры данного гена (для сопоставления результатов, полученных нами и корейскими исследователями) [8; 9]; поиск наиболее близких к изученным ранее последовательностям R2R3MYB транскрипционных факторов пасленовых (основываясь на законе гомологических рядов наследственной изменчивости Н. И. Вавилова) и изучение их полиморфизма у представителей капусты огородной и репы листовой.

Материалы и методы исследования. Для выполнения исследований использовали ДНК образцов *Solanum lycopersicum* и *Capsicum annuum* с различным уровнем накопления антоцианов в плодах и листьях коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси, ДНК образцов капусты огородной (*B. oleracea*) и репы листовой (*B. rapa*) из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР) с различным уровнем накопления антоцианов в листьях и других продуктовых органах.

Выделение ДНК проводили при помощи Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific), а также набора Сорб-ГМО-Б (Синтол) из молодых листьев растений согласно рекомендациям производителя. Количество ДНК в образце определяли на спектрофотометре Ultrospec 3300 pro (Швеция).

Поиск генов-ортологов у капустных культур к генам, кодирующим R2R3MYB TF у пасленовых культур, осуществлялся с помощью программы Blast сайта NCBI. Нуклеотидные последовательности аллелей гена *Myb-114*, а также промоторной области гена *Myb113-like1* определяли путем секвенирования. Для этого фрагменты амплификации, полученные на геномной ДНК с подобранными нами геноспецифическими праймерами (табл. 1) с использованием программы Primer-BLAST [14], разделяли в 1,0 %-ном агарозном геле, затем вырезали и очищали с использованием набора DNA Extraction Kit (Thermo Scientific) согласно методике производителя. Секвенирующие реакции выполняли с применением набора BigDye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно методике производителя. Продукты секвенирующей реакции очищали спиртовым осаждением, растворяли в формамиде, денатурировали и далее проводили капиллярный электрофорез с использованием ДНК-секвенатора Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems).

Т а б л и ц а 1. Праймеры, разработанные для секвенирования последовательностей изучаемых генов

Table 1. Primers designed for sequencing the studied genes

Название праймера Primer name	Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence	<i>T</i> отжига, °C <i>T</i> annealing, °C	ПЦР продукт, п. н. PCR product, bp
Ген <i>Myb114 Brassicacea</i>			
BrMYB114.1F	TCAAGGGAGACCAAGAACC	53,7	679
BrMYB114.1R	CATCGCCTCAAGAGACTGTC		
BrMYB114.2F	TCACTGCCTATGTCCCTCAC	56,6	995
BrMYB114.2R	GCCATCTTAGTCTACAACCTTCC		
BrMYB114.3F	AGGTGTAGGAAGAGTTGTAG	51,3	483
BrMYB114.3R	TGTTGTTGAGTCCAAGGC		
BrMYB114.4F	ACATTCTCTTCTACCACACC	52,2	649
BrMYB114.4R	AAACAGACGCTCTCACC		
Промоторная область гена <i>Myb113-like1</i>			
Myb 113(pr1)-F1	ACCTGTCATCACCAAAAGCA	57,64	825
Myb113(pr1)-R1	GCGGGTCAGCCTCATACTAA		
Myb113(pr2)-F2	TCCGCCCTCGTTAATTT	56,20	700
Myb113(pr2)-R2	AGCAGGAACAAGATGCCACT		

Компьютерную обработку данных, полученных в результате секвенирования, проводили с использованием программы Sequencing Analysis Software v 5.2 (Applied Biosystems). Для выравнивания нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали программы MEGA4 – Molecular Evolutionary Genetics Analysis [15], Vector NTI [16].

На основе выявленного полиморфизма были подобраны праймеры, с их использованием проведено ДНК-типирование коллекции образцов. ПЦР-реакцию проводили в термоциклере Biometra TProfessional Basic. Реакционная ПЦР-смесь объемом 15 мкл содержала 60–100 нг геномной ДНК; 2,5 мМdNTPMix (ThermoScientific), 1,4 единицы Tornado DNA-полимеразы в инкубационном буфере “F” (Праймтех, Беларусь) и 0,25 пмоль/мл праймеров (Евроген, Россия). Режим ПЦР был следующим: 95 °C – 15 мин, затем следовало 35 циклов, состоящих из инкубаций: 99 °C – 1 с, 52–58 °C – 30 с и 72 °C – 1 мин. Реакцию завершали при 72 °C в течение 7 мин. Продукты ПЦР разделяли методом электрофореза в 2 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия и документировали с помощью системы Bio-Rad GelDoc2000 (США). Размеры амплифицирован-

	5030	5040	5050	5060	5070	5080	5090	5100	5110	5120	5130	5140
Хромосома 10 <i>Carpsisum</i> для гена <i>Myb13-like</i> (П/Л)	5030	5040	5050	5060	5070	5080	5090	5100	5110	5120	5130	5140
224	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
211	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
226	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
214	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
216	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
225	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
217	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
223	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
250	GTCCSTCT	TTTTATAATATATA	---CATACCGGCTG	ATTTTTAGTAGAGGCTG	ACCCGGCTAAATTAATAAATCTTT	TAATTTGCTCTTTTTT	TGCAATGACAAAAGAAA					
Хромосома 10 <i>Carpsisum</i> для гена <i>Myb13-like</i> (П/Л)	5140	5150	5160	5170	5180	5190	5200	5210	5220	5230	5240	5250
332	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
319	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
334	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
322	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
324	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
333	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
327	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
331	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
358	AAATTAGATG	CAATTTTTCAGCCAA	AAATAAATTAATG	AGTCAAGTCAATTTAAAGGTC	CAATTTTTCGACG	TTTTCGAATAGTTAAAGGT						
5250	5250	5260	5270	5280	5290	5300	5310	5320	5330	5340	5350	536
Хромосома 10 <i>Carpsisum</i> для гена <i>Myb13-like</i> (П/Л)	5236											
433	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
420	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
435	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
423	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
425	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
443	GCACSTGTC	AAAGTTTAAAGGTTA	ATTTATGATATG	CCCTTAGATTTTAAAGCTG	GACGCCCCAGTTTTCGCTG	TGTAACATGCGTTTTCGCGCGGTAGGATTGGAGGTCATA						
437	GCACSTGTC	AAAGTTTAAAGGTTA	ATTTATGATATG	CCCTTAGATTTTAAAGCTG	GACGCCCCAGTTTTCGCTG	TGTAACATGCGTTTTCGCGCGGTAGGATTGGAGGTCATA						
441	GGACSTGTC	AAAGTTTAAAGGTTA	ATTTATGATATG	CCCTTAGATTTTAAAGCTG	GACGCCCCAGTTTTCGCTG	TGTAACATGCGTTTTCGCGCGGTAGGATTGGAGGTCATA						
468	GGACSTGTC	AAAGTTTAAAGGTTA	ATTTATGATATG	CCCTTAGATTTTAAAGCTG	GACGCCCCAGTTTTCGCTG	TGTAACATGCGTTTTCGCGCGGTAGGATTGGAGGTCATA						
Хромосома 10 <i>Carpsisum</i> для гена <i>Myb13-like</i> (П/Л)	5360	5370	5380	5390	5400	5410	5420	5430	5440	5450	5460	547
5236	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
433	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
420	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
435	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
423	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
425	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
553	ATAATTTGTC	AGTTTGAATAGT	TAAAGGTC	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG
547	ATAATTTGTC	AGTTTGAATAGT	TAAAGGTC	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG
551	ATAATTTGTC	AGTTTGAATAGT	TAAAGGTC	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG
578	ATAATTTGTC	AGTTTGAATAGT	TAAAGGTC	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG	CAAAAGTTTAAAGCTG

Рис. 1. Выравнивание нуклеотидных последовательностей промоторной области гена *Myb13-like1* у образцов перца с различным накоплением антоцианов относительно участка хромосомы 10 (GenBank NCBI: NC_029986.1)

Fig. 1. Nucleotide sequence alignment of the *Myb13-like1* gene in the pepper accessions with different anthocyanin accumulation relative to the chromosome 10 region (GenBank NCBI: NC_029986.1)

ных фрагментов определяли при использовании в качестве маркера молекулярного веса 100 п. н. Plus DNA ladder.

Результаты и их обсуждение. Выполнено секвенирование промоторной области гена *Myb113-like1* рода *Capsicum* размером около 1500 п. н., расположенной перед старт-кодоном, включающей непосредственно коровый элемент, а также ряд элементов промотора, связанных с регуляцией активности гена в зависимости от внешних факторов. На рис. 1 показана область промотора, где были выявлены полиморфизмы у форм с различным накоплением антоцианов в плодах и вегетативной части.

Так, у форм без накопления антоцианов в плодах (напр., Л 160-10, Златозар, Хабанеро красный, Огненная дева) обнаружен дополнительный повтор размером 148 п. н. Данная вставка находится на расстоянии –308...–160 п. н. от старт-кодона. Кроме того, у сорта Златозар, отличающегося практически полным отсутствием антоциановой окраски плодов и вегетативных органов, обнаружена инсерция размером 2 п. н. на расстоянии –515 п. н. от старт-кодона.

Для идентификации повтора 148 п. н. промоторной области гена *Myb113-like1* на широком материале использованы праймеры *Myb113(pr2)-F2/R2* (табл. 1). В результате ПЦР с данными праймерами у генотипов без вставки в промоторе амплифицируется фрагмент размером 700 п. н. У образцов с мутантным аллелем *Myb113-like1-prom^{Ins148}*, характеризующихся отсутствием накопления антоцианов, образуется фрагмент 848 п. н.

С целью выявления инсерции 2 п. н., обнаруженной у формы Златозар, разработан ДНК-маркер *MYB113-like1-promIns2*, для чего были подобраны праймеры *PromIns2-F (FAM)/R*, один из которых был с флюоресцентной меткой для анализа размера ампликонов на генетическом анализаторе: –TTTТААТАТТАСГТТААТТТGGGAACG/AATTAGCGGGTТAGCCTCA. ДНК-скрининг широкой коллекции образцов с помощью данных праймеров не выявил искомого полиморфизма у других форм, но при этом была обнаружена однонуклеотидная вставка у форм *ZongKao*, Шоколадная красавица.

Для изучения связи выявленных полиморфизмов промоторной области гена *Myb113-like1* с фенотипическим проявлением накопления антоцианов, а также для оценки сопряженности проявления ранее выявленных мутаций в экзонах генов *Myb113-like1* (однонуклеотидная делеция ТТ/–Т) и *Myb113-like2* (однонуклеотидная замена С→А), связанных с отсутствием синтеза антоцианов в плодах [9], выполнено ДНК-типирование материала на наличие вставки 148 п. н. в промоторной области и вышеуказанных мутаций в экзонных областях генов *Myb113-like1* и *Myb113-like2*. Результаты генотипирования образцов перца по генам *Myb113-like* показаны в табл. 2 наряду с проявлением антоциановой окраски плодов на стадии технической спелости.

Согласно представленным данным, большинство образцов, накапливающих антоцианы в плодах на стадии технической спелости, не имеют вставку 148 п. н., а также однонуклеотидную делецию в экзонной области гена *Myb113-like1*. В области SNP C/A гена *Myb113-like2* для данных форм характерен нуклеотид С [8]. Как правило, образцы, имеющие вставку в промоторной области, делецию (выпадение нуклеотида Т) в третьем экзоне *Myb113-like1* и нуклеотид А в области SNP C/A третьего экзона гена *Myb113-like2*, не накапливают антоцианы в плодах. В других сочетаниях, отличных от вышеуказанных, плоды обычно зеленые с проявлением светло-фиолетовой окраски в случае попадания на них избыточного количества солнечной радиации. Согласно результатам ДНК-типирования, мутация в промоторной области тесно связана с однонуклеотидной заменой – наличием нуклеотида А в 3 экзоне гена *Myb113-like2*. Анализ расположения на хромосоме данных двух генов показал, что они находятся на расстоянии около 1,9 млн пар оснований друг от друга, что подтверждает высокую степень сцепленности. По данным NCBI ближе к центромере хромосомы 10 находится *Myb113-like2*, а далее расположен *Myb113-like1*. Данное расположение, как мы полагаем, объясняет более высокое сцепление конца гена *Myb113-like2*, где расположена SNP C/A, с изучаемой областью промотора гена *Myb113-like1*, чем с однонуклеотидной делецией в третьем экзоне этого же гена, который имеет большие размеры интронных областей.

Таким образом, разработанный нами на основе секвенирования промоторной области гена *Myb113-like1* маркер позволяет выделять формы с отсутствием антоцианов в плодах на стадии технической спелости (образцы с аллелем *Myb113-like1prom^{Ins148}*), что согласуется с результатами,

Т а б л и ц а 2. Полиморфизм генов *Myb113-like1* и *Myb113-like2* и его связь с накоплением антоцианов в плодах перцаT a b l e 2. *Myb113-like1* and *Myb113-like2* polymorphism and its relationship with the anthocyanin accumulation in pepper fruits

Образец Sample	<i>Myb113-like1</i>		<i>Myb113-like2</i>	Окраска плода на стадии технической спелости Coloring of the fruit at the stage of technical ripeness
	<i>promIns148</i>	<i>delT</i>	<i>SNP C/A</i>	
Хабанеро красный	848	ТТ	А	Зеленая
Хабанеро оранжевый	848	ТТ	А	Зеленая
ОМ красный	700	ТТ	А	Зеленая
ОМ оранжевый	700	ТТ	А	Зеленая
ОМ желтый	848	ТТ	А	Зеленая
Шоколадная красавица	700	ТТ	А	Коричневая
ЛП60-10	848	Т–	А	Зеленая
Златозар	848	Т–	А	Зеленая
ZongKao	700	ТТ	А	Зеленая
Созвездие	700	ТТ	С	Фиолетовая
Рябинушка	700	ТТ	С	Фиолетовая
Чырвоны магнат	700	Т–	С	Зеленая
Оранжевое наслаждение	848	Т–	А	Зеленая
Желтоплодный	848	Т–	А	Зеленая
Л-24	848	Т–	А	Зеленая
Сиреневый кубик	700	ТТ	С	Сиреневая
Белоснежка	700	Т–	А	Зеленая
Отелло	700	ТТ	А	Светло-фиолетовая
ОГФ-1	700	ТТ	С	Темно-фиолетовая
Блондин	700	ТТ	С	Бледно-зеленая
Тройка	700	ТТ	А	Зеленая со слабым антоцианом
Черный красавец	700	ТТ	С	Фиолетово-черная
Линия 1 из Сиреневый	700	ТТ	С	Насыщенно-сиреневая
Линия 2 из Сиреневый	700	ТТ	А	Светло-сиреневая

полученными в [7]. Однако это лишь одна из мутаций, вызывающих нарушение процесса биосинтеза антоцианов в плодах перца. Выявленная нами однонуклеотидная делеция в третьем экзоне *Myb113-like1*, которая приводит к сдвигу рамки считывания и образованию раннего стоп-кодона и, как следствие, формированию нефункционального белка [8; 9], нарушает процесс биосинтеза антоцианов в плодах независимо от структуры промоторной области.

Проведена работа по поиску ортологов у капустных культур к генам, кодирующим R2R3Myb TF у пасленовых культур. С помощью программы Blast выполнен поиск и сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ранее изученных генов Myb-факторов семейства пасленовые: томата (MYB R2R3TF: *Ant1*; *Ant2*), перца (MYB R2R3caps TF: *Myb113-like 1*, *Myb113-like 2*) с последовательностями базы данных NCBI у капустных. В результате был найден ген *Myb114* транскрипционного фактора MYB114(XM_013771565), показывающий максимальную идентичность в области перекрытия у капусты огородной. К последовательности гена *Myb114* были подобраны праймеры для секвенирования на геномной ДНК у коллекционных образцов капусты и репы с контрастной антоциановой окраской.

По результатам выравнивания последовательностей гена *Myb114* у образцов капусты огородной с контрастным накоплением антоцианов относительно последовательности LOC106333082 выявлены 5 однонуклеотидных замен в экзонных областях (1 SNP в первом экзоне, 2 SNP во втором экзоне и 2 SNP в третьем экзоне) и делеция размером в 271 п. н. в первом интроне у образцов белокочанной и зеленой листовой капусты. На рис. 2, а показаны выявленные SNP в области второго экзона.

Выявленный аллельный полиморфизм гена *Myb114* при сопоставлении с фенотипами изучаемых форм был тесно связан с накоплением антоциана в листьях (кочанах) (рис. 2, б). При этом

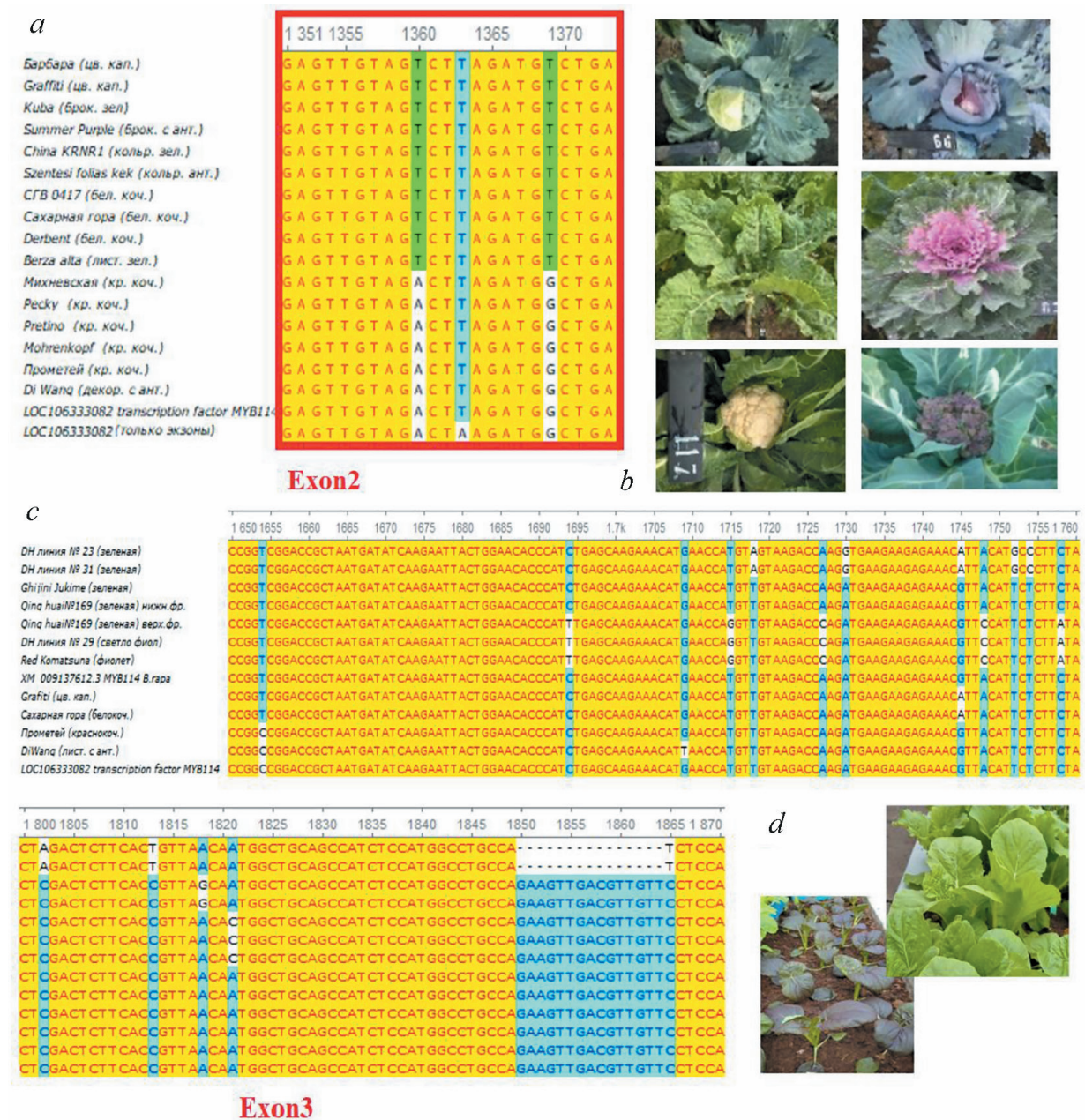


Рис. 2. Полиморфизм гена *Myb114* у капустных культур и его связь с фенотипом: *a* – часть экзона 2 гена *Myb114* *B. oleracea*; *b* – фенотипическое проявление антоциановой окраски у разновидностей капусты огородной; *c* – часть экзона 3 гена *Myb114* *B. rapa* и *B. oleracea*; *d* – фенотипическое проявление антоциановой окраски у разновидностей репы листовая

Fig. 2. *Myb114* gene polymorphism in *Brassica* crops and its association with the phenotype: *a* – part of the exon 2 of the *B. oleracea* *Myb114* gene; *b* – phenotypic manifestation of anthocyanin coloration in *B. oleracea* varieties; *c* – part of exon 3 of the *Myb114* gene of *B. rapa* and *B. oleracea*; *d* – phenotypic manifestation of anthocyanin coloration in leafy turnip varieties

с наличием антоциана в других органах (генеративных головок/соцветий цветной капусты и брокколи) связь не была выявлена.

У *B. rapa* разновидности листовая репа по результатам выравнивания последовательностей гена *Myb114* относительно последовательности XM 009137612.3 у образцов с различным накоплением антоцианов LOC106333082 выявлены 15 однонуклеотидных замен в третьем экзоне, делеция размером 15 п. н. у двух дигиплоидных форм с зелеными листьями также в третьем экзоне и делеция во втором интроне. На рис. 2, *c* показаны выявленные отличия в третьем экзоне, а также

их сравнение с последовательностями третьего экзона у образцов *B. oleracea* с контрастным накоплением антоцианов в листьях.

Наряду с SNP в экзонных областях выявлено большое количество однонуклеотидных замен в интронах. Общей особенностью полиморфизма интронов гена *Myb114* у разновидностей капусты и репы было наличие крупных делеций (270 п. н. и более) у форм с отсутствием антоцианов в листьях по сравнению с формами с активным его накоплением. По результатам секвенирования установлено разное количество АТ повторов во втором интроне у изученных образцов листовой репы. Наименьшее количество повторов было выявлено у линии удвоенных гаплоидов со светло-зеленой окраской листьев, а наибольшее у образцов с антоциановой окраской листьев (рис. 2, d). У разновидностей капусты огородной без накопления антоцианов в листьях выявлена делеция размером 271 п. н. Необходимо отметить, что при изучении нами полиморфизма гена *An2* (*Myb75*) (NM_001279063.2) у образцов *S. lycopersicum* с зелеными и фиолетовыми листьями в результате секвенирования были выявлены, наряду с SNP в экзонных областях, большие делеции в первом и втором интронах у образцов с наименьшим накоплением антоцианов в листьях. Данное сравнение позволяет предположить возможное участие интронных областей генов MYB-факторов в регуляции накопления антоцианов в листьях культур семейств пасленовые и капустные.

Вместе с анализом последовательности гена *Myb114* выполнены выравнивание аминокислотных последовательностей, синтезируемых на основе данного гена у изученных образцов и референсных последовательностей, а также анализ влияния генетических полиморфизмов на структуру синтезируемого белка (рис. 3).

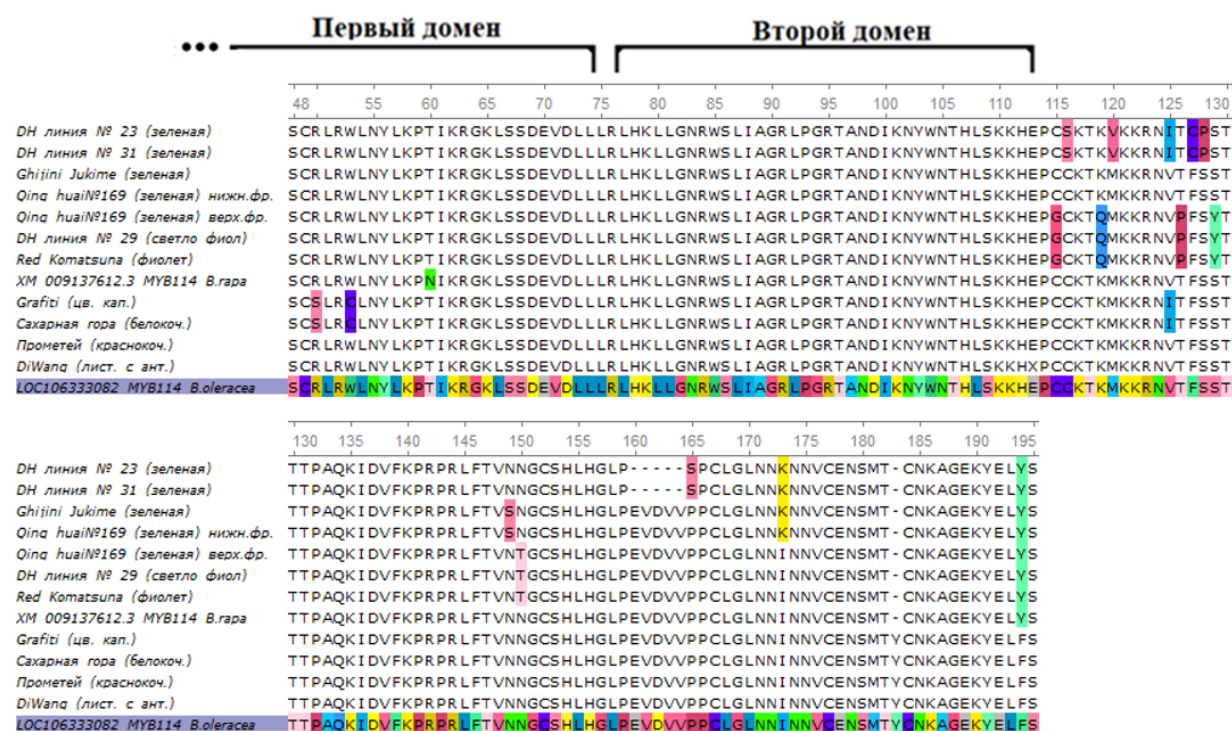


Рис. 3. Выравнивание аминокислотных последовательностей, кодируемых геном *Myb114* у образцов *B. oleracea* и *B. rapa* с различным накоплением антоцианов

Fig. 3. Amino acid sequence alignment encoded by the *Myb114* gene in *B. oleracea* and *B. rapa* accessions with different anthocyanin accumulation

На основании полученных нуклеотидных последовательностей гена *Myb114* у *B. oleracea* выявлены аминокислотные замены у белокочанной капусты: R→S в позиции 50, W→C в позиции 53 и V→I в позиции 125, две из которых ведут к замене аминокислот, расположенных в области ДНК-связывающих доменов. У образцов *B. rapa* разновидности репа листовая с высоким накоплением антоцианов в листьях наблюдались отличия по пяти аминокислотам от референсной

последовательности. Образцы без накопления антоциана в листьях (наряду с пятью общими отличными от форм с антоциановой окраской аминокислотами) характеризовались следующими заменами: G→C в позиции 108, P→T в позиции 119, S→P в позиции 121, Y→S в позиции 122, N→S в позиции 142, T→N в позиции 143, P→S в позиции 158 и I→K в позиции 166. Среди форм репы листовой с зелеными листьями выявлены отличия по аминокислотной структуре. Так, для структуры белка дигаплоидных форм № 23 и № 31 (рис. 3) характерно выпадение пяти аминокислот и 6 SNP.

Заключение. По результатам секвенирования промоторной области гена *Myb113-like1* перца, регулирующего биосинтез антоцианов, показано наличие вставок размером 148 п. н. и 2(1) п. н. у форм без накопления антоцианов в плодах. Разработаны маркеры MYB113-like1promIns2 и MYB113-like1promIns148 для идентификации форм с выявленными полиморфизмами. Установлена связь между наличием вставки в промоторе (*Myb113-like1pr⁺¹⁴⁸*) с полиморфизмами в экзонных областях аллелей *Myb113-like1^{delT}* и *Myb113-like2^{C/A}*, связанных с нарушением синтеза антоцианов.

На основании сравнительного анализа последовательностей ДНК и аминокислотных структур изучен у разновидностей капусты огородной и репы листовой полиморфизм гена *Myb114*, наиболее близкого по структуре к генам R2R3MYB овощных пасленовых культур. Выявлена связь генетических полиморфизмов данного гена с накоплением антоцианов в листьях изучаемых культур. Показан общий характер изменения структуры интронных областей *An2* томата и *Myb114* капустных культур. У *B. oleraceae* выявлены две аминокислотные замены в белке, кодируемом геном *Myb114*, расположенные в области ДНК-связывающих доменов, что приводит к изменению эффективности связывания данного транскрипционного фактора с промоторами структурных генов биосинтеза и уменьшению уровня их экспрессии. У изучаемых образцов *B. rapa* с высоким накоплением антоциана в листьях кодируемые геном *Myb114* белковые последовательности отличались пятью аминокислотами от таковых у образцов без накопления антоциана в листьях, при этом области ДНК-связывающих доменов были одинаковы у форм с различным накоплением антоциана.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке БРФФИ (грант Б20Р-285), а также РФФИ (грант № 20-516-00017Бел_a).

Acknowledgments. The work is supported by the BRFFR (grant No. Б20Р-285), and by the RFBR (grant No. 20-516-00017Бел_a).

Список использованных источников

1. Middleton, E. Jr. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease and cancer / E. Jr. Middleton, C. Kandaswami, T. C. Theoharides // *Pharmacol. Rev.* – 2000. – Vol. 52. – P. 673–751.
2. Хлесткина, Е. К. Гены биосинтеза флавоноидов пшеницы / Е. К. Хлесткина, О. Ю. Шоева, Е. И. Гордеева // *Вавиловский журн. генетики и селекции.* – 2014. – Т. 18, № 4/1. – С. 784–796.
3. Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in Solanaceous Vegetables: a review / Y. Liu [et al.] // *Frontiers in Chemistry.* – 2018. – Vol. 6. – P. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00052>
4. Naing, A. H. Roles of R2R3-MYB transcription factors in transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in horticultural plants / A. H. Naing, C. K. Kim // *Plant Mol. Biol.* – 2018. – Vol. 98, N 1–2. – P. 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0771-4>
5. Stommel, J. R. Coordinated regulation of biosynthetic and regulatory genes coincides with anthocyanin accumulation in developing eggplant fruit / J. R. Stommel, J. M. Dumm // *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* – 2015. – Vol. 140, N 2. – P. 129–135. <https://doi.org/10.21273/jashs.140.2.129>
6. Lightbourn, G. J. Epistatic interactions influencing anthocyanin gene expression in *Capsicum annuum* / G. J. Lightbourn, J. R. Stommel, R. J. Griesbach // *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* – 2007. – Vol. 132, N 6. – P. 824–829. <https://doi.org/10.21273/jashs.132.6.824>
7. A non-LTR retrotransposon activates anthocyanin biosynthesis by regulating a MYB transcription factor in *Capsicum annuum* / S. Jung [et al.] // *Plant Science.* – 2019. – Vol. 287. – Art. 110181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110181>
8. Изучение полиморфизма генов Муб-факторов на основе сравнительной геномики овощных пасленовых культур (томат, перец, баклажан) для поиска ДНК-маркеров, дифференцирующих образцы по накоплению антоцианов / О. Г. Бабак [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси.* – 2019. – Т. 63, № 6. – С. 721–729. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-721-729>
9. Identification of DNA Markers of Anthocyanin Biosynthesis Disorders Based on the Polymorphism of Anthocyanin 1 Tomato Ortholog Genes in Pepper and Eggplant / O. Babak [et al.] // *Crop. Breed. Genet. Genom.* – 2020. – Vol. 2, N 3. – Art. e200011. <https://doi.org/10.20900/cbagg20200011>

10. Fine mapping the Bjp11 gene for purple leaf color in B2 of *Brassica juncea* L. through comparative mapping and whole-genome re-sequencing / Z. Zhao [et al.] // *Euphytica*. – 2017. – Vol. 213, N 4. – P. 80–90. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1868-6>
11. Identification and characterization of anthocyanin biosynthesis-related genes in Kohlrabi / M. A. Rahim [et al.] // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2018. – Vol. 184, N 4. – P. 1120–1141. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2613-2>
12. Wang, J. Molecular characterization of BrMYB73: a candidate gene for the purple-leaf trait in *Brassica rapa* / J. Wang, T. B. Su, Y. J. Yu // *Int. J. Agric. Biol.* – 2019. – Vol. 22. – P. 122–130. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1041>
13. QTL-Seq and sequence assembly rapidly mapped the gene BrMYBL2.1 for the purple trait in *Brassica rapa* / X. Zhang [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, N 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58916-5>
14. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction / J. Ye [et al.] // *BMC Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 13, N 1. – Art. 134. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>
15. Molecular Evolutionary Genetics Analysis [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.megasoftware.net/>. – Date of access: 12.02.2022.
16. Vector NTI [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.thermofisher.com/by/en/home/life-science/cloning/vector-nti-software.html>. – Date of access: 05.02.2022.

References

1. Middleton E. Jr., Kandaswami C., Theoharides T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 2000, vol. 52, pp. 673–751.
2. Khlestkina E. K., Shoeva O. Yu., Gordeeva E. I. Flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding], 2014, vol. 18, no. 4/1, pp. 784–796 (in Russian).
3. Liu Y., Tikunov Yu., Schouten R. E., Marcelis L. F. M., Visser R. G. F., Bovy A. Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in Solanaceous Vegetables: a review. *Frontiers in Chemistry*, 2018, vol. 6, pp. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00052>
4. Naing A. H., Kim C. K. Roles of R2R3-MYB transcription factors in transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in horticultural plants. *Plant Molecular Biology*, 2018, vol. 98, no. 1–2, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0771-4>
5. Stommel J. R., Dumm J. M. Coordinated regulation of biosynthetic and regulatory genes coincides with anthocyanin accumulation in developing eggplant fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2015, vol. 140, no. 2, pp. 129–135. <https://doi.org/10.21273/jashs.140.2.129>
6. Lightbourn G. J., Stommel J. R., Griesbach R. J. Epistatic interactions influencing anthocyanin gene expression in *Capsicum annuum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2007, vol. 132, no. 6, pp. 824–829. <https://doi.org/10.21273/jashs.132.6.824>
7. Jung S., Venkatesh J., Kang M.-Y., Kwon J.-K., Kang B.-C. A non-LTR retrotransposon activates anthocyanin biosynthesis by regulating a MYB transcription factor in *Capsicum annuum*. *Plant Science*, 2019, vol. 287, art. 110181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110181>
8. Babak O. G., Nekrashevich N. A., Nikitinskaya T. V., Yatsevich K. K., Kilchevsky A. V. Study of the Myb-factor polymorphism based on comparative genomics of vegetable Solanaceae crops (tomato, pepper, eggplant) to search for DNA markers that differentiate samples by the anthocyanins accumulation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 6, pp. 721–729 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-721-729>
9. Babak O., Nikitinskaya T., Nekrashevich N., Yatsevich K., Kilchevsky A. Identification of DNA Markers of Anthocyanin Biosynthesis Disorders Based on the Polymorphism of Anthocyanin 1 Tomato Ortholog Genes in Pepper and Eggplant. *Crop Breeding, Genetics and Genomics*, 2020, vol. 2, no. 3, art. e200011. <https://doi.org/10.20900/cbagg20200011>
10. Zhao Z., Xiao L., Xu L., Xing X., Tang G., Du D. Fine mapping the Bjp11 gene for purple leaf color in B2 of *Brassica juncea* L. through comparative mapping and whole-genome re-sequencing. *Euphytica*, 2017, vol. 213, no. 4, pp. 80–90. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1868-6>
11. Rahim M. A., Robin A. H. K., Natarajan S., Jung H.-J., Lee J., Kim H., Kim H.-T., Park J.-I., Nou I.-S. Identification and characterization of anthocyanin biosynthesis-related genes in Kohlrabi. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2018, vol. 184, no. 4, pp. 1120–1141. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2613-2>
12. Wang J., Su T. B., Yu Y. J. Molecular characterization of BrMYB73: a candidate gene for the purple-leaf trait in *Brassica rapa*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2019, vol. 22, pp. 122–130. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1041>
13. Zhang X., Zhang K., Wu J., Guo N., Liang J., Wang X., Cheng F. QTL-Seq and sequence assembly rapidly mapped the gene BrMYBL2.1 for the purple trait in *Brassica rapa*. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58916-5>
14. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T. L. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, 2012, vol. 13, no. 1, art. 134. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>
15. Molecular Evolutionary Genetics Analysis. Available at: <https://www.megasoftware.net/> (accessed 12 February 2022).
16. Vector NTI. Available at: <https://www.thermofisher.com/by/en/home/life-science/cloning/vector-nti-software.html> (accessed 5 February 2022).

Информация об авторах

Бабак Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: babak_olga@mail.ru.

Анисимова Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.anisimova@igc.by.

Никитинская Татьяна Владимировна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikitinskaja@yandex.ru.

Некрасевич Наталья Александровна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.nekrashevich@igc.by.

Яцевич Констанция Константиновна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yakon-kon@yandex.ru.

Дрозд Елизавета Валерьевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: drozd.liza@bk.ru.

Фатеев Дмитрий Андреевич – мл. науч. сотрудник. Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ул. Большая Морская, 42-44, 190000, Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: dmtfateev@gmail.com.

Беренсен Федор Алексеевич – науч. сотрудник. Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ул. Большая Морская, 42-44, 190000, Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: fberensen@gmail.com.

Артемьева Анна Маевна – канд. с.-х. наук, вед. науч. сотрудник. Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ул. Большая Морская, 42-44, 190000, Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: akme11@yandex.ru.

Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель лаборатории. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about the authors

Babak Olga G. – Ph. D. (Biology), Assistant Professor, Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: babak_olga@mail.ru.

Anisimova Natalia V. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.anisimova@igc.by.

Nikitinskaya Tatiana V. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikitinskaja@yandex.ru.

Nekrashevich Nataliya A. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.nekrashevich@igc.by.

Yatsevich Konstanciya K. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yakon-kon@yandex.ru.

Drozd Lizaveta V. – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drozd.liza@bk.ru.

Fateev Dmitry A. – Junior Researcher. N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (42–44, Bolshaya Morskaya Str., 190000, Saint Petersburg, Russian Federation). E-mail: dmtfateev@gmail.com.

Berensen Fedor A. – Researcher. N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (42–44, Bolshaya Morskaya Str., 190000, Saint Petersburg, Russian Federation). E-mail: fberensen@gmail.com.

Artemyeva Anna M. – Ph. D. (Agrarian), Leading Researcher. N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (42–44, Bolshaya Morskaya Str., 190000, Saint Petersburg, Russian Federation). E-mail: akme11@yandex.ru.

Kilchevsky Alexander V. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Scientific Director. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 581.1
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-425-432>

Поступило в редакцию 18.05.2022
Received 18.05.2022

С. В. Суховеева¹, Е. М. Кабачевская¹, Т. Е. Кузнецова², академик И. Д. Волотовский¹

¹*Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

²*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭНДОДЕРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕРЕШКОВ ЛИСТЬЕВ ТОМАТА ПОСЛЕ ГРАВИСТИМУЛЯЦИИ И ДЕЙСТВИЯ ФИТОГОРМОНОВ

Аннотация. Продемонстрировано осаждение (седиментация) амилопластов в клетках черешков листьев томата при воздействии гравитостимуляции в направлении вектора силы тяжести, а также модулирующее влияние на этот процесс фитогормонов брассиностероидного ряда (эпин) и этилен-продуцента этефона в период времени 0,25–24 ч после начала гравитостимуляции. Этефон, предшественник этилена, значительно замедлял осаждение амилопластов, выполняющих функцию статолитов в клетках, что коррелирует с его ингибирующим действием на формирование гравитропического изгиба стебля.

Ключевые слова: растения томата (*Solanum lycopersicum* L.), листья, гравитропизм, этилен, эпин, статоциты, статолиты, амилопласты

Для цитирования. Сравнительный анализ структурно-функциональных изменений эндодермальных клеток черешков листьев томата после гравитостимуляции и действия фитогормонов / С. В. Суховеева [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 425–432. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-425-432>

Sviatlana V. Sukhaveyeva¹, Alena M. Kabachevskaya¹, Tatiana E. Kuznetsova², Academician Igor D. Volotovskii¹

¹*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STRUCTURE-FUNCTION CHANGES IN THE ENDODERMAL CELLS OF TOMATO LEAF PETIOLES AFTER GRAVITY STIMULATION AND PHYTOHORMONE ACTION

Abstract. The sedimentation of amyloplasts in tomato leaf petiole cells, when influenced by gravistimulation, gravistimulation and phytohormone epine, gravistimulation, and by an exogenous source of ethylene ethephon for a period of 0.25–24 h, was demonstrated. Ethephone significantly slowed down the sedimentation of amyloplasts serving as statolites in cells, which correlates with its inhibitory effect on the formation of the gravitropic bending of the stem.

Keywords: tomato (*Solanum lycopersicum* L.), leaves, gravitropism, ethylene, epin, statocytes, statolites, amyloplasts

For citation. Sukhaveyeva S. V., Kabachevskaya A. M., Kuznetsova T. E., Volotovskii I. D. Comparative analysis of the structure-function changes in the endodermal cells of tomato leaf petioles after gravity stimulation and phytohormone action. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 425–432 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-425-432>

Введение. Гравитация – постоянно действующий фактор на Земле, который является одним из основных сигналов для правильного роста и развития растений. В зависимости от направленного роста органов относительно гравитационного вектора Земли выделяют отрицательный и положительный гравитропизм растений, которые играют важнейшую роль в жизненном цикле. Положительным гравитропизмом обычно обладают корни растений, растущие в направлении к центру Земли, в то время как побеги растений обладают отрицательным гравитропизмом и растут в направлении, обратном вектору силы тяжести.

В ходе развития гравитропического ответа физической стимул (гравитационный) воспринимается специализированными растительными клетками – статоцитами. Внутри статоцитов расположены специфические тяжелые частицы – статолиты, перемещение которых под действием силы тяжести запускает процесс восприятия гравитационного сигнала [1].

Статоциты ведут себя как датчики наклона, а начальным гравитационным стимулом выступает положение статолитов внутри статоцитов. При перемещении (седиментации) статолитов под действием силы тяжести в нижнюю часть статоцита запускается процесс восприятия гравитационного сигнала: давление статолитов на мембраны нижней части клетки приводит к ее механическому раздражению и инициации перераспределения потоков ионов и регулятора роста фитогормона ауксина. В результате ассиметричного перераспределения ауксин накапливается преимущественно на нижней стороне гравистимулированного органа. Различие его концентраций приводит к дифференциальному росту растяжением клеток растений на верхней и нижней сторонах зоны гравистимуляции растения, вследствие чего формируется гравитропический изгиб [1].

Роль статолитов обычно выполняют амилопласты – непигментированные пластиды, содержащие два или несколько крупных крахмальных зерен. В амилопластах происходит синтез крахмала путем полимеризации глюкозы. Гранулы крахмала способны преобразовываться обратно в моносахариды в случае, если у растения возникает потребность в дополнительной энергии. Наиболее близкородственными к амилопластам пластидами являются хлоропласты. В клетках этиолированных органов растений содержатся амилопласты (этиопласты), которые после помещения таких растений на свет могут преобразовываться в хлоропласты. В побегах амилопласты, содержащие статоциты, во многих случаях ассоциируются с паренхимными клетками (паренхима обкладки сосудистых пучков, эндодерма), окружающими сосудистые ткани по всей длине стебля, в то время как в корнях они локализованы в корневом чехлике, как показано, например, на примере растений арабидопсиса [2]. При этом мутанты арабидопсиса со слабо развитым слоем эндодермы, лишенным амилопластов, и мутанты, которые не могут синтезировать крахмал в амилопластах, не формируют гравитропический ответ на изменение вектора силы тяжести [3].

Эндодерма представляет собой самый внутренний слой клеток первичной коры, которые очень плотно сомкнуты между собой и прилегают к центральному цилиндру осевых органов высших растений. В стеблях эндодерму зачастую называют крахмалоносным влагиалищем, поскольку она состоит обычно из крахмалосодержащих клеток [4].

С помощью электронной микроскопии было определено, что в восприятие гравитационного воздействия вовлечены мембраны эндоплазматического ретикулума, которые проявляют чувствительность к давлению, возникающему при перемещении амилопластов в клетке. Отпечатки осаждающихся амилопластов четко были заметны на поверхности мембран эндоплазматического ретикулума [5].

Восприятие гравитационного сигнала в основном изучается в корне и стебле растений. Знания о восприятии гравитационного воздействия листьями практически отсутствуют.

Целью данного исследования стала идентификация положения амилопластов в клетках черешков листьев томата (*Solanum lycopersicum* L.) в различные временные интервалы после действия одиночного гравистимула, гравистимула и предшественника этилена этефона, гравистимула и синтетического брассиностероида (БС) эпина, для того чтобы оценить чувствительность листьев к гравистимулу и наличие в них реакции седиментации статолитов, аналогичное тому, что происходит в стеблях и корнях, а также возможную роль фитогормонов этилена и БС в регуляции гравитропического ответа листьев растений.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали молодые верхушечные листья растений томата. Растения выращивали при 16-часовом световом дне (освещение полихроматическим белым светом, 40 Вт, 150 мкмоль м⁻²с⁻¹) при температуре 24 °С. Гравистимуляция проводилась путем поворота растений на 90° относительно гравитационного вектора Земли. Для исключения побочного эффекта условий освещенности и возможного развития дополнительной фототропической реакции после поворота растений горизонтально, гравистимуляцию проводили в темноте, предварительно поместив растения контрольных и экспериментальных групп в темноту на 24 ч для адаптации. После адаптации растения поворачивались на бок и выдерживались в горизонтальном положении в течение различных промежутков времени (от 15 мин до 24 ч). Часть опытных растений обрабатывалась (до переноса растений в темноту и гравистимуляции раствором этефона (Sigma, Германия) в концентрации 100 мг/л, либо рас-

твором (200 мкл/л) эпина (производство ИБОХ НАН Беларуси, ОАО «Белреахим»)) по одному разу в день в течение 8 дней.

Отбор растительной ткани контрольных и экспериментальных групп растений проводился на неактивном для фоторецепторов растений тусклом зеленом свете (лампа накаливания 15 Вт, стеклянный светофильтр с максимумом пропускания 470–605 нм, $0,45 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$).

Для микроскопических исследований базальную часть черешков верхушечных листьев растений фиксировали в смеси формалина, уксусной кислоты и этилового спирта в течение 2 ч. После фиксации листа промывали в 70 %-ном этаноле и помещали в 2 %-ный раствор йодида калия на 1 мин. Окрашенные черешки листьев очищали в растворе, содержащем 5 % глицерина и 50 % хлоральгидрата. Исследовали полученные препараты с помощью световой электронной микроскопии.

Результаты и их обсуждение. Микроскопические исследования срезов черешков верхушечных листьев 50-дневных растений томата позволили обнаружить группы амилопластов в нескольких слоях клеток оболочки пучка в базальной части черешков листьев (рис. 1, *a*, 1, *b*, 2, *a*, 2, *b*, 3, *a*, 3, *b*). Осаждение амилопластов при гравистимуляции происходило в соответствии с направлением силы тяжести. Седиментация амилопластов была обнаружена в препаратах уже через 15 мин после гравистимуляции (рис. 1, *c–j*). При обработке растений эпином, как и в случае действия одной гравистимуляции, через 15 мин воздействия гравистимула было обнаружено осаждение крахмальных зерен в сторону направления силы тяжести (рис. 2, *c–j*). Обработка источником экзогенного этилена этефоном значительно замедляла скорость седиментации амилопластов и их количество в черешках листьев по сравнению с контролем (рис. 3, *c–j*). Изменения положения амилопластов при предварительной обработке этефоном были обнаружены значительно позже – лишь через 1 ч гравистимуляции.

В результате проведенных экспериментов зафиксировано осаждение статолитов в эндодермальных клетках базальной части черешков листьев томата после гравистимуляции, сходное с тем, которое обычно описывается для клеток стебля или корня. Таким образом, эти клетки ведут себя как типичные статоциты, свойственные клеткам эндодермы стебля и корневого чехлика. Ранее нами была определена динамика движения верхушечных листьев томата при действии гравистимуляции, которые происходят одновременно с формированием угла изгиба стебля [6] и изменения уровня экспрессии многих генов, ассоциированных с транспортными, сигнальными и метаболическими процессами, что согласуется с наблюдаемой седиментацией амилопластов под действием гравистимула [7]. В данном исследовании этилен заметно замедлял процесс седиментации амилопластов в клетках черешков листьев, что согласуется с тем фактом, что этилен сильно ингибирует формирование угла изгиба растений томата [8].

Способность этилена влиять на характер осаждения амилопластов при гравистимуляции может быть обусловлена влиянием этого фитогормона на организацию цитоскелета клетки. Участие актиновых микрофиламентов цитоскелета в развитии гравитропического ответа у растений показано, например, в корнях арабидопсиса. Актиновый цитоскелет может выступать положительным регулятором гравитропизма, участвовать в поддержании везикулярного транспорта, регулировать расположение целлюлозосинтазных комплексов на плазмалемме, играть роль в формировании полярности клеток и распределении переносчиков ауксина в плазмалемме [9]. Также актиновый цитоскелет является неотъемлемым участником процесса роста клеток растяжением [10], посредством которого развивается гравитропический изгиб органа. При изменении ориентации корней растений арабидопсиса относительно вектора силы тяжести происходит перестройка актиновых микрофиламентов в зоне растяжения – уменьшается доля аксиально ориентированных и возрастает количество наклонно и поперечно ориентированных микрофиламентов [11]. Организация актинового цитоскелета у растений при гравистимуляции может зависеть от их гормонального статуса [12; 13]. Однако механизмы взаимодействия между динамикой содержания фитогормонов и изменениями в организации цитоскелета в гравитропической реакции растений изучены недостаточно [14], поэтому с уверенностью говорить, связаны ли наблюдаемые нами различия в реакции черешков листьев томата на гравистимул без или на фоне действия этефона, с участием цитоскелета, нельзя.

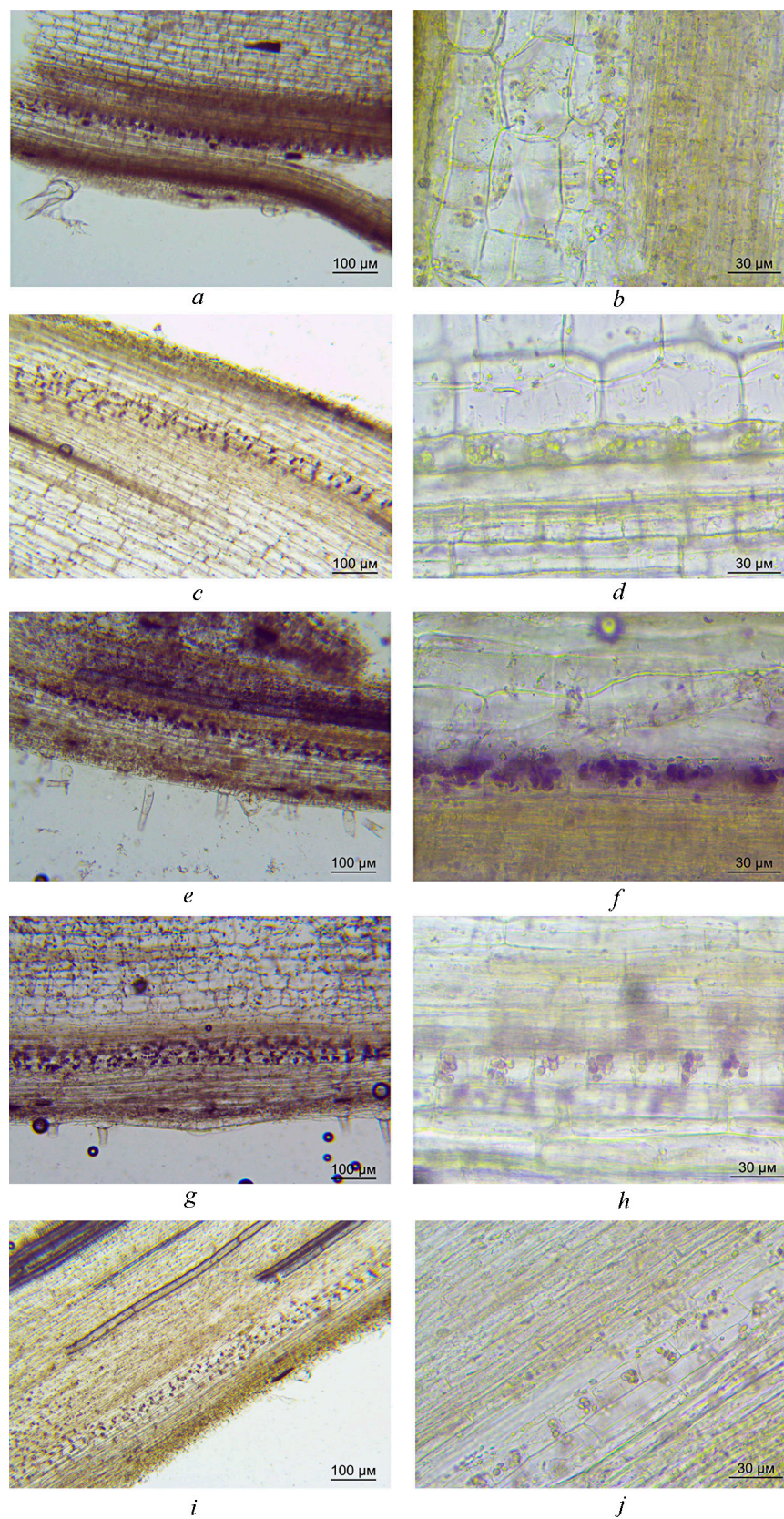


Рис. 1. Локализация амилопластов в эндодермальных клетках базальной части черешков листьев растений томата в зависимости от времени гравистимуляции: *a, b* – 0 мин (контроль); *c, d* – 15 мин; *e, f* – 30 мин; *g, h* – 1 ч; *i, j* – 3 ч

Fig. 1. Localization of amyloplasts in endodermal cells of the basal part of leaf petioles of tomato plants depending on the time of gravistimulation: *a, b* – 0 min (control); *c, d* – 15 min; *e, f* – 30 min; *g, h* – 1 h; *i, j* – 3 h

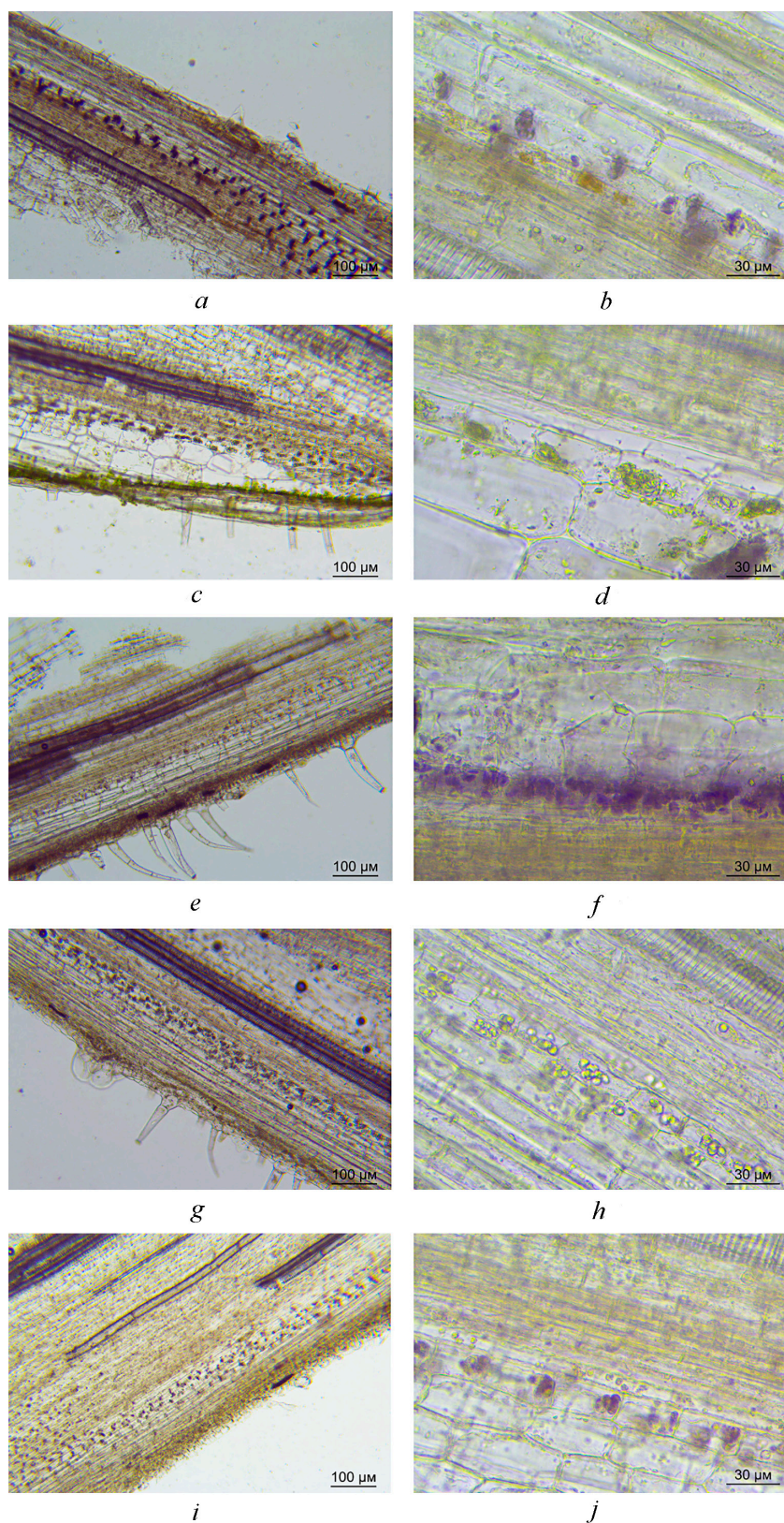


Рис. 2. Локализация амилопластов в эндодермальных клетках базальной части черешков листьев растений томата, предварительно обработанных эпином, в зависимости от времени гравистимуляции: *a, b* – 0 мин (контроль); *c, d* – 15 мин; *e, f* – 30 мин; *g, h* – 1 ч; *i, j* – 3 ч

Fig. 2. Localization of amyloplasts in the endodermal cells of the basal part of leaf petioles of tomato plants pre-treated with epine, depending on the time of gravistimulation: *a, b* – 0 min (control); *c, d* – 15 min; *e, f* – 30 min; *g, h* – 1 h; *i, j* – 3 h

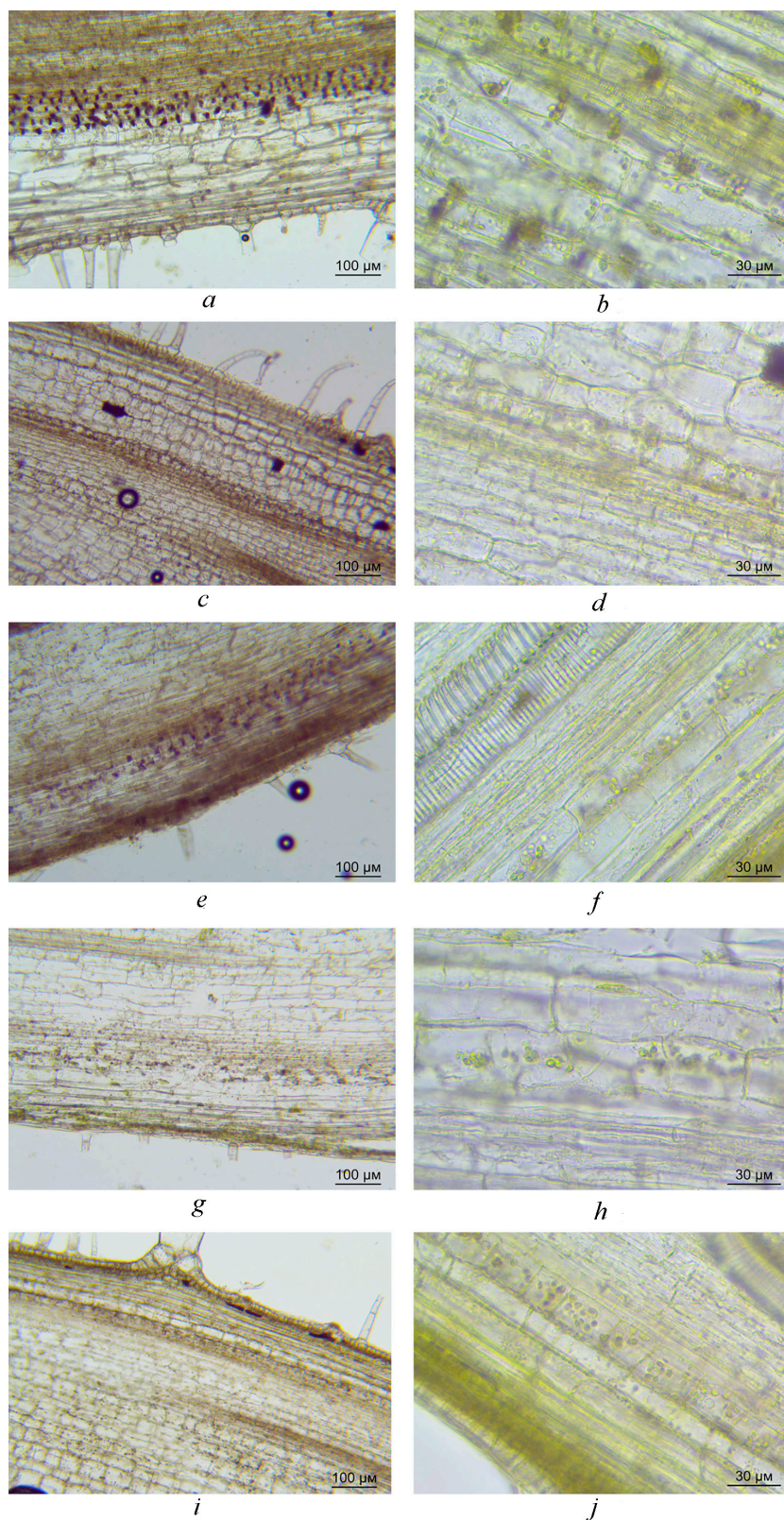


Рис. 3. Локализация амилопластов в эндодермальных клетках базальной части черешков листьев растений томата, предварительно обработанных этифоном, в зависимости от времени гравистимуляции: *a, b* – 0 мин (контроль); *c, d* – 15 мин; *e, f* – 30 мин; *g, h* – 1 ч; *i, j* – 3 ч

Fig. 3. Localization of amyloplasts in the endodermal cells of the basal part of leaf petioles of tomato plants previously treated with ethephon, depending on the time of gravistimulation: *a, b* – 0 min (control); *c, d* – 15 min; *e, f* – 30 min; *g, h* – 1 h; *i, j* – 3 h

В научной литературе также имеется информация о том, что амилопласты в эндодермальных клетках стеблей соцветий дикого типа арабидопсиса расположены в цитоплазме вблизи мембран крупных вакуолей. Белки SGR2 и ZIG, которые локализуются на мембранах вакуолей, а также других небольших органелл, участвуют в везикулярном транспорте. Экспрессия генов этих белков в эндодерме необходима для формирования гравитропического ответа растений, поскольку мутанты по этим белкам характеризуются аномальным гравитропизмом. В эндодермальных клетках мутанта *zig-1* амилопласты располагались не около вакуолей, как у растений дикого типа, а оказывались вблизи периферии клетки. Подобная аномальная локализация амилопластов, а также аномалии в распределении цитоплазмы и вакуолей наблюдались и в эндодермальных клетках мутанта *sgr2-1*. Эти наблюдения позволяют предположить, что определенное нарушение функции вакуолей может влиять на локализацию амилопластов. Оба мутанта арабидопсиса оказались не способны реагировать на гравитацию, предположительно в результате их неспособности чувствовать направление гравитации, так как амилопласты из-за неправильного распределения в клетке оказывались не способны оседать (седиментировать) в нужном направлении. С другой стороны, сама по себе аномальная локализация амилопластов может не быть первопричиной полного или частичного отсутствия гравитропической реакции. Вероятнее всего, мутанты могли утратить молекулярные механизмы, участвующие в формировании первичного сигнала и его передаче. Таким образом, функционирование вакуолей может быть вовлечено в раннюю стадию гравитропического ответа, происходящего в статочитах [15].

Наличие специализированных для восприятия гравитационного сигнала органелл амилопластов и их быстрая седиментация в ответ на гравистимул в черешках свидетельствует о чувствительности и важной роли верхушечных листьев в восприятии гравистимуляции растениями.

Заключение. Проведенное исследование можно отнести к одному из первых, посвященных структурно-функциональному анализу положения амилопластов в клетках черешков листьев томата при формировании первичного этапа ответа листьев на гравитационное воздействие. Полученные данные расширяют представление о формировании ответа на гравистимул у растения как на уровне целостного организма, так и его отдельных органов.

Список использованных источников

1. Molecular mechanisms of gravity perception and signal transduction in plants / Y. S. Kolesnikov [et al.] // *Protoplasma*. – 2016. – Vol. 253, N 4. – P. 987–1004. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0859-5>
2. Haswell, E. S. Gravity Perception: How Plants Stand up for Themselves / E. S. Haswell // *Current Biology*. – 2003. – Vol. 13, N 19. – P. 761–763. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.09.016>
3. An agravitropic mutant of arabidopsis, endodermal-amyloplast less 1, that lacks amyloplasts in hypocotyl endodermal cell layer / K. Fujihira [et al.] // *Plant Cell Physiol*. – 2000. – Vol. 41, N 11. – P. 1193–1199. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcd046>
4. Лотова, Л. И. Ботаника: Морфология и анатомия высших растений / Л. И. Лотова. – М., 2010. – 512 с.
5. Curvature in Arabidopsis inflorescence stems is limited to the region of amyloplast displacement / S. E. Weise [et al.] // *Plant Cell Physiol*. – 2000. – Vol. 41, N 6. – P. 702–709. <https://doi.org/10.1093/pcp/41.6.702>
6. Суховеева, С. В. Гравитропная и настическая двигательная активность в надземных органах растений томата / С. В. Суховеева, Е. М. Кабачевская, И. Д. Волоотовский // *Ботаника (исследования)*. – Минск, 2021. – Вып. 50. – С. 401–410.
7. Суховеева, С. В. О сопряжении экспрессии некоторых генов фосфолипидного, углеводного метаболизма и трансмембранного транспорта растений томата с их реакцией гравитропизма / С. В. Суховеева, Е. М. Кабачевская, И. Д. Волоотовский // *Молекулярная и прикладная генетика*. – 2021. – Т. 31. – С. 31–41.
8. Суховеева, С. В. Особенности развития гравитропического сигнала в надземных органах растений томата / С. В. Суховеева, Е. М. Кабачевская, И. Д. Волоотовский // *Вестн. Фонда фундамент. исслед.* – 2022. – № 1. – С. 94–101.
9. Generation of cell polarity in plants links endocytosis, auxin distribution and cell fate decisions / P. Dhonukshe [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 456, N 7224. – P. 962–966. <https://doi.org/10.1038/nature07409>
10. Gravitropism of *Arabidopsis thaliana* roots requires the polarization of PIN2 toward the root tip in meristematic cortical cells / A. Rahman [et al.] // *Plant Cell*. – 2010. – Vol. 22, N 6. – P. 1762–1776. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.075317>
11. Пожванов, Г. А. Перестройки актинового цитоскелета в ходе гравитропической реакции корней арабидопсиса / Г. А. Пожванов, Д. В. Суслов, С. С. Медведев // *Цитология*. – 2013. – Т. 55, № 1. – С. 28–35.
12. Nick, P. Auxin stimulates its own transport by shaping actin filaments / P. Nick, M. J. Han, G. An // *Plant Physiol*. – 2009. – Vol. 151, N 1. – P. 155–167. <https://doi.org/10.1104/pp.109.140111>
13. The plant-specific actin binding protein SCAB1 stabilizes actin filaments and regulates stomatal movement in *Arabidopsis* / Y. Zhao [et al.] // *Plant Cell*. – 2011. – Vol. 23, N 6. – P. 2314–2330. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.086546>
14. Blancaflor, E. B. Regulation of plant gravity sensing and signaling by the actin cytoskeleton / E. B. Blancaflor // *Am. J. Bot.* – 2013. – Vol. 100, N 1. – P. 143–152. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200283>

15. Involvement of the Vacuoles of the Endodermis in the Early Process of Shoot Gravitropism in Arabidopsis / M. T. Morita [et al.] // *Plant Cell*. – 2002. – Vol. 14, N 1. – P. 47–56. <https://doi.org/10.1105/tpc.010216>

References

1. Kolesnikov Y. S., Kretynin S. V., Volotovskiy I. D., Kordyum E. L., Ruelland E., Kravets V. S. Molecular mechanisms of gravity perception and signal transduction in plants. *Protoplasma*, 2016, vol. 253, no. 4, pp. 987–1004. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0859-5>
2. Haswell E. S. Gravity Perception: How Plants Stand up for Themselves. *Current Biology*, 2003, vol. 13, no. 19, pp. 761–763. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.09.016>
3. Fujihira K., Kurata T., Watahiki M. K., Karahara I., Yamamoto K. T. An agravitropic mutant of arabidopsis, endodermal-amyloplast less 1, that lacks amyloplasts in hypocotyl endodermal cell layer. *Plant and Cell Physiology*, 2000, vol. 41, no. 11, pp. 1193–1199. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcd046>
4. Lotova L. I. *Botany: Morphology and anatomy of higher plants*. Moscow, 2010. 512 p. (in Russian).
5. Weise S. E., Kuznetsov O. A., Hasenstein K. H., Kiss J. Z. Curvature in Arabidopsis inflorescence stems is limited to the region of amyloplast displacement. *Plant and Cell Physiology*, 2000, vol. 41, no. 6, pp. 702–709. <https://doi.org/10.1093/pcp/41.6.702>
6. Suhoveeva S. V., Kabachevskaya E. M., Volotovskiy I. D. Gravitropic and nastic movements in above-ground organs of tomato plants. *Botanika (issledovaniya)* [Botany (research)]. Minsk, 2021, vol. 50, pp. 401–410 (in Russian).
7. Sukhaveeva S. V., Kabachevskaya E. M., Volotovskiy I. D. On the coupling of expression of some key genes controlling phospholipid, carbohydrate metabolism and transmembrane transport in tomato plants with their gravitropic reaction. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* [Molecular and Applied Genetics], 2021, vol. 31, pp. 31–41 (in Russian).
8. Suhoveeva S. V., Kabachevskaya E. M., Volotovskiy I. D. Properties of the development of a gravitropic signal in over-ground organs of tomato plants. *Vestnik Fonda fundamental'nykh issledovaniy = Vestnik of the Foundation for Fundamental Research*, 2022, no. 1, pp. 94–101 (in Russian).
9. Dhonukshe P., Tanaka H., Goh T., Ebine K., Mahonen A. P., Prasad K., Blilou I., Geldner N., Xu J., Uemura T., Chory J., Ueda T., Nakano A., Scheres B., Friml J. Generation of cell polarity in plants links endocytosis, auxin distribution and cell fate decisions. *Nature*, 2008, vol. 456, no. 7224, pp. 962–966. <https://doi.org/10.1038/nature07409>
10. Rahman A., Takahashi M., Shibasaki K., Wu S., Inaba T., Tsurumi S., Baskin T. I. Gravitropism of *Arabidopsis thaliana* roots requires the polarization of PIN2 toward the root tip in meristematic cortical cells. *Plant Cell*, 2010, vol. 22, no. 6, pp. 1762–1776. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.075317>
11. Pozhvanov G. A., Suslov D. V., Medvedev S. S. Actin cytoskeleton rearrangements during the gravitropic response of Arabidopsis roots. *Cell and Tissue Biology*, 2013, vol. 7, no. 2, pp. 185–191. <https://doi.org/10.1134/s1990519x13020120>
12. Nick P., Han M. J., An G. Auxin stimulates its own transport by shaping actin filaments. *Plant Physiology*, 2009, vol. 151, no. 1, pp. 155–167. <https://doi.org/10.1104/pp.109.140111>
13. Zhao Y., Zhao S., Mao T., Qu X., Cao W., Zhang L., Zhang W., He L., Li S., Ren S., Zhao J., Zhu G., Huang S., Ye K., Yuan M., Guo Y. The plant-specific actin binding protein SCAB1 stabilizes actin filaments and regulates stomatal movement in Arabidopsis. *Plant Cell*, 2011, vol. 23, no. 6, pp. 2314–2330. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.086546>
14. Blancaflor E. B. Regulation of plant gravity sensing and signaling by the actin cytoskeleton. *American Journal of Botany*, 2013, vol. 100, no. 1, pp. 143–152. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200283>
15. Morita M. T., Kato T., Nagafusa K., Saito C., Ueda T., Nakano A., Tasaka M. Involvement of the Vacuoles of the Endodermis in the Early Process of Shoot Gravitropism in Arabidopsis. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, no. 1, pp. 47–56. <https://doi.org/10.1105/tpc.010216>

Информация об авторах

Суховеева Светлана Владимировна – науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: suhoveevalmbc@mail.ru.

Кабачевская Елена Михайловна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lmbc@ibp.ogr.by.

Кузнецова Татьяна Евгеньевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь).

Волотовский Игорь Дмитриевич – академик, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: volotovskiy@yahoo.com.

Information about the authors

Sukhaveyeva Sviatlana V. – Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: suhoveevalmbc@mail.ru.

Kabachevskaya Alena M. – Ph. D. (Biology), Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lmbc@ibp.ogr.by.

Kuznetsova Tatyana E. – Ph. D. (Biology), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Volotovskiy Igor D. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Chief Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volotovskiy@yahoo.com.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МЕДИЦИНА
MEDICINE

УДК 613.2.038:577.171.55:796.012.6
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-433-443>

Поступило в редакцию 18.05.2022
Received 18.05.2022

**Т. А. Митюкова, О. Е. Полулях, Е. Н. Чудиловская, А. А. Басалай, Ю. А. Рудниченко,
Т. А. Хрусталёва, член-корреспондент С. В. Губкин**

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**ВЛИЯНИЕ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ И ЕГО КОРРЕКЦИИ
НА УРОВЕНЬ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ И ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ
САМЦОВ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР**

Аннотация. Ожирение вызывает в организме широкий спектр патофизиологических последствий, затрагивающих сферу гормональной и психоэмоциональной регуляции. Цель исследования – изучить влияние высококалорийной диеты на развитие ожирения, уровень гормонов репродуктивного статуса и особенности поведения у крыс самцов линии Вистар, а также возможность нормализации выявленных сдвигов при немедикаментозных вариантах коррекции ожирения. Эксперименты выполнялись на 80 половозрелых крысах самцах линии Вистар в течение 16 недель и включали 6 групп животных с учетом диеты (стандартная диета вивария, высококалорийная диета и переход с высококалорийной диеты на стандартный рацион на 2 этапе эксперимента) с подключением или без умеренных физических нагрузок в виде бега на тредмиле на 2 этапе – последние 8 недель эксперимента. Длительная высококалорийная диета (16 недель) вызывала у самцов крыс линии Вистар висцеральное ожирение, повышение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов, резкое снижение уровня тестостерона и эстрадиола в сыворотке крови, а также проявление депрессивности в тесте Порсолта. Успешная коррекция ожирения, метаболических сдвигов и депрессивного поведения у крыс достигалась при переходе на сбалансированную диету в период последних 8 недель эксперимента. Нормализация содержания тестостерона и эстрадиола на фоне повышения уровня лютеинизирующего гормона в сыворотке крови происходила у крыс, получавших высококалорийную диету (16 недель) с подключением физических упражнений в период последних 8 недель эксперимента. Комплексная коррекция ожирения, включавшая переход на стандартную диету и физические упражнения в период последних 8 недель эксперимента, приводила к резкому 2-кратному повышению уровня тестостерона по сравнению с контролем и гиперактивному фенотипу у самцов крыс линии Вистар. Существует тесная взаимосвязь между развитием депрессивности и уровнем тестостерона при ожирении и его коррекции.

Ключевые слова: ожирение, физические нагрузки, половые гормоны, тест Порсолта

Для цитирования. Влияние диет-индуцированного ожирения и его коррекции на уровень половых гормонов и особенности поведения самцов крыс линии Вистар / Т. А. Митюкова [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 433–443. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-433-443>

**Tatyana A. Mityukova, Olga Y. Poluliakh, Katerina N. Chudilovskaya, Anastasia A. Basalai,
Yulia A. Rudnichenko, Tatyana A. Khrustaleva, Corresponding Member Siarhei V. Hubkin**

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**EFFECTS OF DIET-INDUCED OBESITY AND ITS CORRECTION ON SEX HORMONE LEVELS
AND THE BEHAVIORAL FEATURES OF MALE WISTAR RATS**

Abstract. Obesity causes a wide range of pathophysiological consequences in the body, affecting the sphere of hormonal and psycho-emotional regulation. The aim of the study is to investigate the effect of a high-calorie diet on the development of obesity, reproductive status hormone levels and behavioral features of male Wistar rats, as well as the possibility of normalizing the identified shifts with non-medicinal options for obesity correction. Experiments were performed on 80 sexually mature male Wistar rats for 16 weeks and included 6 groups of animals, taking into account the diet (standard vivarium diet, high-calorie diet and transition from a high-calorie diet to a standard diet at the 2nd stage of the experiment) with or without the moderate physical activity in the form of treadmill running at the 2nd stage – the last 8 weeks of the experiment. A long-

term high-caloric diet (16 weeks) caused visceral obesity, elevated glucose, cholesterol and triglyceride levels, dramatically decreased serum testosterone and estradiol levels, and depression manifestations in the Porsolt test in male Wistar rats. Successful correction of obesity, metabolic shifts and depressive behavior in rats was achieved by switching to a balanced diet during the last 8 weeks of the experiment. Normalization of testosterone and estradiol levels against the background of an increased serum luteinizing hormone level occurred in rats receiving a high-calorie diet (16 weeks) with the connection of physical exercise during the last 8 weeks of the experiment. Complex correction of obesity, which included the transition to a standard diet and exercise during the last 8 weeks of the experiment, led to a dramatic 2-fold increase in testosterone levels compared to control and a hyperactive phenotype in male Wistar rats. There is a close relationship between the depression development and testosterone levels in obesity and its correction.

Keywords: obesity, exercise, sex hormones, Porsolt test

For citation. Mityukova T. A., Poluliakh O. Y., Chudilovskaya K. N., Basalai A. A., Rudnichenko Yu. A., Khrustaleva T. A., Hubkin S. V. Effects of diet-induced obesity and its correction on sex hormone levels and behavioral features of male Wistar rats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 433–443 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-433-443>

Введение. Растущая распространенность ожирения является серьезной проблемой здравоохранения. Люди с ожирением имеют более высокий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта, остеоартрита, диабета 2 типа и репродуктивных расстройств. У мужчин с ожирением регистрируется состояние гипогонадизма, которое характеризуется снижением уровня тестостерона, лютеинизирующего гормона (ЛГ) и сексгормонсвязывающего глобулина [1]. Клинические наблюдения подтверждаются также целым рядом экспериментальных исследований. Например, показано, что диет-индуцированное ожирение вызывает нарушения сперматогенеза и повреждение генетического материала сперматозоидов у самцов белых крыс, у мышей C57BL/6J с ожирением выявлено снижение уровня ЛГ, тестостерона и количества сперматозоидов [1; 2]. Интересно, что связанное с ожирением уменьшение уровня тестостерона сопровождается снижением уровня ЛГ, тогда как обусловленное возрастом снижение тестостерона коррелирует с повышением ЛГ [1]. Эти данные указывают на сохранение отрицательной обратной связи в системе гипоталамус–гипофиз–гонады при старении и на нарушение этой связи при ожирении, что заслуживает особого внимания. В литературе существует информация о том, что ожирение затрагивает не только метаболизм и гормональную регуляцию на периферии, но также связано с изменениями центральных механизмов регуляции. Рассматривается вопрос о формировании коморбидности ожирения и депрессии [3]. Исходя из этого, целесообразно выяснить связь между уровнем тестостерона в крови и проявлениями депрессивности у крыс на фоне ожирения и его коррекции, поскольку известно, что тестостерон обладает антидепрессивным эффектом. Очевидно, что в развитии ожирения важную роль играет избыточное высококалорийное питание, однако существуют и другие факторы, к которым относится малоподвижный образ жизни. Актуальной задачей является разработка немедикаментозных подходов для коррекции ожирения, либо минимизация фармакологических вмешательств за счет подключения адекватных физических нагрузок, которые нормализуют липидный обмен и снижают депонирование жира в висцеральной жировой ткани, т. е. по существу являются оздоровительными программами [4; 5].

Для изучения влияния физических нагрузок на крыс в эксперименте наиболее физиологичным вариантом является дозированный бег с умеренной скоростью и продолжительностью [6]. Умеренные физические нагрузки, как правило, оказывают положительное влияние на коррекцию или профилактику ожирения за счет снижения веса, повышения чувствительности к инсулину, улучшения энергетического обмена и нормализации ряда сигнальных путей, измененных в процессе ожирения [6]. Учитывая, что сигнальные пути, связанные с ожирением, могут затрагивать как периферические, так и центральные механизмы регуляции, представляет интерес выяснить влияние диет-индуцированного ожирения и вариантов его коррекции не только на репродуктивный статус, но и на особенности поведенческих реакций крыс в тесте Порсолта, применяемого для исследования проявлений депрессивности у грызунов.

Цель исследования – изучить влияние высококалорийной диеты на развитие ожирения, уровень гормонов репродуктивного статуса и особенности поведения у самцов крыс линии Вистар, а также возможность нормализации выявленных сдвигов при немедикаментозных вариантах коррекции ожирения.

Материалы и методы исследования. Все работы с экспериментальными животными проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), и принципов, утвержденных комиссией по биоэтике Института физиологии Национальной академии наук Беларуси (протокол № 1 от 22 января 2021 г.). Опыты проводились на половозрелых крысах самцах линии Вистар, которых вводили в эксперимент в возрасте двух месяцев, масса тела составляла 180–200 г., общее количество животных – 80 голов. Эксперимент состоял из двух этапов. На первом этапе в течение 8 недель группа контроля получала стандартную диету (СтД), а экспериментальная группа получала высококалорийную диету (ВКД). На втором этапе (следующие 8 недель) контрольная группа была разделена случайным образом на две подгруппы («СтД (Контроль)», «СтД + бег») и крысы второй подгруппы начали тренироваться на тредмиле. Группа ВКД также была разделена на две части – первая осталась на ВКД («ВКД»), а вторая перешла на стандартную диету («ВКД/СтД»). Каждая из этих частей была разделена еще на 2 подгруппы таким образом, чтобы половина крыс тренировалась на тредмиле («ВКД + бег», «ВКД/СтД + бег» соответственно). Каждая экспериментальная группа включала по 13–14 животных. Эксперимент был построен таким образом, чтобы можно было оценить влияние умеренной физической нагрузки на крыс, содержащихся на СтД, на ВКД и при переходе с ВКД на СтД. Модель «ВКД» включала введение в стандартный рацион вивария дополнительного количества жиров животного происхождения – свиного сала (45 % от суточной калорийности пищи) и углеводов (питьевая вода замещалась на 10 %-ный раствор фруктозы со свободным доступом к поилкам) [7]. Умеренная физическая нагрузка осуществлялась в виде бега на тредмиле в течение 20 мин со скоростью 15 м/мин в утреннее время с 9:00 до 12:00 натошак 5 дней в неделю [6]. Общая продолжительность тренировок составляла 8 недель. Тест Порсолта для оценки депрессивности проводился на заключительном этапе эксперимента (с 9:00 до 12:00). Каждую крысу помещали на 6 мин в сосуд, заполненный водой до отметки на высоте 30 см, температура воды составляла 24–25 °С. Фиксировали длительность первого акта активного плавания, количество и длительность «замираний» (отсутствие плавательных движений). Отказ от активного плавания характеризует состояние «отчаяния», т. е. является признаком депрессивности [8]. Выведение из эксперимента осуществляли под тиопенталовым наркозом, проводили диссекцию висцерального жира, забор крови и отделение сыворотки. Массу тела крыс измеряли на весах Saturn (Китай), массу висцерального жира – на лабораторных весах Scout Pro (Китай).

В сыворотке крови крыс определяли содержание общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ) и глюкозы с использованием коммерческих наборов Диасенс (Республика Беларусь) на биохимическом автоматическом анализаторе BS-200 (Mindray, Китай) с программным обеспечением BS-330. Определение гормонов в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА). Содержание тестостерона, эстрадиола, ЛГ определяли с использованием коммерческих наборов «ХЕМА» (Россия), концентрацию кортизола в сыворотке крови – на наборах «Диагностические системы» (Россия) в соответствии с инструкциями производителя.

Экспериментальные данные были обработаны с помощью ППП Statistica 10.0. При условии нормальности распределения значений показателей (по критерию Шапиро–Уилка) использовали параметрические методы статистики: данные были представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SEM$), статистическая значимость отличий была оценена на основании t -критерия Стьюдента. При ненормальном распределении данных применялись непараметрические методы статистики: результаты были представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей ($Me [25; 75]$), статистическая значимость отличий рассчитывалась по U -критерию Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Отличия между группами считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У крыс, получавших стандартный рацион вивария, в группах «СтД» и «СтД + бег» масса тела не отличалась между собой и составляла в среднем $433,46 \pm 13,42$ и $434,38 \pm 14,71$ г соответственно. При содержании животных на высококалорийной диете в группе «ВКД» наблюдалась тенденция к нарастанию массы тела ($471,14 \pm 25,15$ г) по сравнению с группой контроля, однако она не достигала статистической значимости. При переходе от высокока-

лорийной диеты к стандартному рациону в сочетании с бегом на тредмиле у животных группы «ВКД/СтД + бег» было обнаружено достоверное снижение массы тела на 13,1 % по сравнению с группой «ВКД».

У крыс в группах «СтД» и «СтД + бег» масса висцерального жира была практически одинаковой (в среднем $7,99 \pm 0,73$ и $6,68 \pm 0,77$ г соответственно). Содержание животных на высококалорийной диете вне зависимости от физических нагрузок привело к существенному достоверному увеличению массы висцеральной жировой ткани: в группе «ВКД» в 2,9, а в группе «ВКД + бег» в 3,6 раза по сравнению с группами «СтД (Контроль)» и «СтД + бег» соответственно. При коррекции ожирения с переходом на стандартную диету независимо от физических нагрузок масса висцеральной жировой ткани достоверно снижалась относительно групп «ВКД» и «ВКД + бег», достигая уровня контрольных значений.

Содержание глюкозы в сыворотке крови после окончания эксперимента было достоверно увеличено только в группе «ВКД» на 29,8 % относительно контроля (табл. 1). У животных группы «ВКД + бег» уровень глюкозы был достоверно ниже на 10,2 %, чем в группе «ВКД», и не давал отличий от контроля. После перехода на стандартную диету не зависимо от физических нагрузок содержание глюкозы в крови возвращалось к норме. Показатели липидного обмена – ОХ и ТГ были достоверно увеличены в группах высококалорийного питания вне зависимости от физических нагрузок. Так, уровень ОХ у крыс групп «ВКД» и «ВКД + бег» достоверно превышал данный показатель на 31,5 и 30,1 % по отношению к контролю, а уровень ТГ был выше на 34,1 и 110,2 % соответственно (табл. 1). У животных из групп коррекции ожирения «ВКД/СтД» и «ВКД/СтД + бег» уровни ОХ и ТГ были равнозначны контрольным значениям.

Т а б л и ц а 1. Биохимические показатели сыворотки крови самцов крыс при высококалорийной диете и различных вариантах коррекции ожирения

Table 1. Biochemical parameters of blood serum of male rats on high-caloric diet and different variants of obesity correction

Группа Group	Показатель Index		
	Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	ОХ, ммоль/л Total Cholesterol, mmol/l	ТГ, ммоль/л Triglycerides, mmol/l
<i>Без физических нагрузок</i>			
СтД (Контроль)	5,81 [5,61; 7,37]	1,43 [1,23; 1,61]	0,88 [0,63; 1,18]
ВКД	7,54*# [7,10; 8,21]	1,88*# [1,50; 1,95]	1,18* [0,94; 2,21]
ВКД/СтД	6,45^ [5,73; 7,29]	1,25^& [1,12; 1,37]	0,88^& [0,76; 1,03]
<i>С физическими нагрузками</i>			
СтД + бег	5,87 [5,61; 6,63]	1,38 [1,15; 1,53]	1,06 [0,63; 1,23]
ВКД + бег	6,77^# [6,46; 7,41]	1,86*# [1,60; 1,94]	1,85*# [1,34; 2,30]
ВКД/СтД + бег	6,06^& [5,96; 6,30]	1,19^& [1,10; 1,39]	1,00& [0,72; 1,20]

П р и м е ч а н и я. Данные представлены в виде Ме [25; 75]. Достоверные отличия при $p \leq 0,05$ (U -критерий Манна–Уитни): * – от группы «СтД (Контроль)», ^ – от группы «ВКД», # – от группы «СтД + бег», & – от группы «ВКД + бег».

N o t e s. Data are presented as Me [25; 75]. Significant differences at $p \leq 0.05$ (Mann–Whitney U -criterion): * – from the «StD (Control)» group, ^ – from the «HCD» group, # – from the «StD + running» group, & – from the «HCD + running» group.

Полученные результаты указывают на нормализацию показателей липидного обмена (ОХ, ТГ) и уровня глюкозы в сыворотке крови крыс после коррекции ожирения путем перехода к стандартному питанию как с физическими нагрузками, так и без таковых. Однако, что касается пока-

зателей липидного обмена, то подключение бега не давало дополнительного нормализующего эффекта по сравнению с переходом на стандартную диету.

Как видно из табл. 2, содержание кортизола в сыворотке крови животных, не подвергавшихся физическим нагрузкам, колебалось в пределах, близких к контролю. У крыс группы «ВКД» отмечалась слабая тенденция к повышению уровня показателя, однако на фоне физических нагрузок при высококалорийном питании («ВКД + бег») было зарегистрировано значимое повышение содержания кортизола в сыворотке крови на 42,9 и 92,9 % относительно групп «СтД (Контроль)» и «СтД + бег» соответственно. При комплексной коррекции ожирения («ВКД/СтД + бег») наблюдалось достоверное снижение показателя по сравнению с группами «ВКД» и «ВКД + бег», при этом содержание кортизола в крови не отличалось от контроля.

Т а б л и ц а 2. Уровень кортизола и гормонов репродуктивного статуса в сыворотке крови самцов крыс при высококалорийной диете и различных вариантах коррекции ожирения

Table 2. Serum levels of cortisol and reproductive status hormones in male rats on a high-caloric diet and different variants of obesity correction

Группа Group	Показатель Index			
	Кортизол, нмоль/л Cortisol, nmol/l	Тестостерон, моль/л Testosterone, mol/l	Эстрадиол, моль/л Estradiol, mol/l	ЛГ, МЕ/л Luteinizing hormone, IU/l
<i>Без физических нагрузок</i>				
СтД (Контроль)	79,90 [57,00; 112,90]	7,78 [5,35; 24,70]	0,65 [0,50; 0,76]	0,30 [0,09; 0,73]
ВКД	92,60 [61,00; 163,40]	2,73* [2,11; 5,22]	0,43* [0,19; 0,62]	0,70 [0,27; 4,15]
ВКД/СтД	77,40& [27,40; 98,20]	3,46\$ [1,83; 8,90]	0,52 [0,43; 0,78]	1,40 [0,21; 5,27]
<i>С физическими нагрузками</i>				
СтД + бег	59,20 [22,80; 71,60]	7,79 [3,29; 9,62]	0,73 [0,52; 0,87]	0,55 [0,15; 0,73]
ВКД + бег	114,20*# [97,10; 200,80]	7,19 [2,67; 18,03]	0,56 [0,52; 0,64]	2,65* [0,64; 3,90]
ВКД/СтД + бег	52,10^& [32,40; 66,20]	13,94^ [6,19; 22,54]	0,65^ [0,47; 0,81]	0,18& [0,09; 1,37]

П р и м е ч а н и я. Данные представлены в виде Me [25; 75]. Достоверные отличия при $p \leq 0,05$ (U -критерий Манна–Уитни): * – от группы «СтД (Контроль)», ^ – от группы «ВКД», # – от группы «СтД + бег», & – от группы «ВКД + бег», \$ – между группами «ВКД/СтД» и «ВКД/СтД + бег».

N o t e s. Data are presented as Me [25; 75]. Significant differences at $p \leq 0.05$ (Mann–Whitney U -criterion): * – from the «StD (Control)» group, ^ – from the «HCD» group, # – from the «StD + running» group, & – from the «HCD + running» group, \$ – between the «HCD/StD» and «HCD/StD + running» groups.

Длительное содержание крыс на высококалорийной диете (16 недель) привело к резкому 3-кратному снижению уровня тестостерона в сыворотке крови, а также к снижению уровня эстрадиола в 1,5 раза по сравнению с контролем (табл. 2). Переход на стандартную диету после 8-недельного избыточного питания («ВКД/СтД») не обеспечил нормализацию уровня тестостерона, хотя содержание эстрадиола приблизилось к норме. Интересно, что физические нагрузки не влияли на содержание этих гормонов в крови крыс при стандартной диете, т. е. показатели оставались практически идентичными как в группе «СтД (Контроль)», так и в группе «СтД + бег». Использование физических нагрузок на фоне ВКД привело к полной нормализации уровня тестостерона и эстрадиола («ВКД + бег»). В группе комплексной коррекции при сочетании перехода на стандартную диету и бега («ВКД/СтД + бег») отмечался резко повышенный уровень тестостерона, в 2 раза превосходящий уровень контроля, и уровень эстрадиола, близкий к контрольным значениям (табл. 2).

Как видно из табл. 2, при стандартном питании уровень ЛГ не зависит от наличия физических нагрузок, т. е. срединные значения в группах «СтД (Контроль)» и «СтД + бег» являются

сопоставимыми. У крыс, получавших высококалорийное питание в течение 16 либо 8 недель («ВКД» и «ВКД/СтД»), когда содержание тестостерона резко снижалось, уровень ЛГ проявлял тенденцию к повышению, но она не достигала статистической значимости. Достоверное повышение уровня ЛГ отмечалось только на фоне физических нагрузок в группе высококалорийного питания («ВКД + бег»), что сочеталось с нормализацией содержания тестостерона и эстрадиола. Возможно, повышение уровня ЛГ у бегающих крыс с ожирением было триггером для стимуляции продукции тестостерона. При комплексной коррекции ожирения («ВКД/СтД + бег»), когда уровень тестостерона был резко повышен и в 2 раза превосходил норму, отмечено снижение ЛГ по сравнению с группой «ВКД + бег», что соответствует механизму обратной связи (табл. 2).

Таким образом, высококалорийное питание приводило к достоверному снижению уровней тестостерона и эстрадиола в крови при отсутствии достоверных сдвигов ЛГ. Нормализация гормональной функции гонад наблюдалась у животных с висцеральным ожирением, подвергавшихся умеренному бегу на тредмиле («ВКД + бег»). При комплексной коррекции ожирения («ВКД/СтД + бег») содержание тестостерона резко повышалось и значительно превосходило значение контроля.

Учитывая, что влияние высококалорийного питания на организм носит системный характер и затрагивает центральную нервную систему, представляло интерес изучить особенности поведения животных при висцеральном ожирении и вариантах его коррекции. Поведение оценивали в тесте Порсолта, который используется для оценки депрессивности животных.

Как видно из табл. 3, физические нагрузки не влияли на изучаемые поведенческие характеристики у крыс, содержащихся на стандартной диете вивария. Характеристики активного и пассивного поведения при вынужденном плавании у крыс групп «СтД (Контроль)» и «СтД + бег» являлись практически идентичными.

Т а б л и ц а 3. Показатели теста Порсолта у крыс самцов при высококалорийной диете и различных вариантах коррекции ожирения

T a b l e 3. Porsolt test values in male rats on a high-caloric diet and different variants of obesity correction

Группа Group	Показатель Index		
	Длительность первого акта плавания, с Duration of the first swimming act, s	Количество замираний Number of fades	Время замираний, с Fading time, s
<i>Без физических нагрузок</i>			
СтД (Контроль)	258,00 [203,00; 320,00]	6,00 [3,00; 11,00]	10,00 [4,00; 13,00]
ВКД	137,50* [85,00; 240,00]	13,00* [9,00; 18,00]	34,50*# [13,00; 61,00]
ВКД/СтД	217,00^& [186,00; 331,0]	6,00 [3,00; 13,00]	10,00^& [3,00; 23,00]
<i>С физическими нагрузками</i>			
СтД + бег	240,00 [173,00; 277,00]	9,00 [6,00; 11,00]	11,00 [7,00; 19,00]
ВКД + бег	129,00*# [82,00; 192,00]	13,00* [8,00; 15,00]	21,00# [16,00; 31,00]
ВКД/СтД + бег	360,00^& [181,00; 360,00]	0,00^& [0,00; 11,00]	0,00^& [0,00; 19,00]

П р и м е ч а н и я. Данные представлены в виде Me [25; 75]. Достоверные отличия при $p \leq 0,05$ (U -критерий Манна–Уитни): * – от группы «СтД (Контроль)», ^ – от группы «ВКД», # – от группы «СтД + бег», & – от группы «ВКД + бег».

N o t e s. Data are presented as Me [25; 75]. Significant differences at $p \leq 0.05$ (Mann–Whitney U -criterion): * – from the «StD (Control)» group, ^ – from the «HCD» group, # – from the «StD + running» group, & – from the «HCD + running» group.

У крыс группы «ВКД» отмечалось почти 2-кратное снижение времени активного плавания в сочетании с нарастанием количества и длительности замираний в 2 и 3,5 раза соответственно. Эти результаты свидетельствуют о развитии депрессивности при длительном высококалорийном питании. При переходе от ВКД к стандартной диете отмечалась полная нормализация всех отклонений, которые были характерны для избыточного питания. Коррекция последствий ожирения с использованием физических нагрузок у крыс группы «ВКД + бег» не приводила к нормализации отклонений, которые были выявлены в группе «ВКД» (табл. 3). Комплексная коррекция, включающая переход на стандартную диету и физические нагрузки, вызывала резкое повышение активности животных, при этом длительность первого акта плавания нарастала в 1,4 раза по сравнению с контролем. У животных, подвергавшихся комплексной коррекции («ВКД/СтД + бег»), активное плавание продолжалось 360 с (в течение времени всего эксперимента) практически без замираний, что представляло собой уникальную картину гиперактивного фенотипа.

Таким образом, высококалорийная диета вызывала у самцов крыс линии Вистар нарастание признаков депрессивности в тесте Порсолта, а переход от высококалорийной диеты на стандартный рацион питания обеспечивал нормализацию поведенческих показателей до уровня контроля. Вариант коррекции с подключением бега, но с сохранением избыточного питания не компенсировал признаков депрессивности, которые оставались на уровне, присущем ВКД. Комплексный вариант коррекции с переходом на стандартную диету в сочетании с бегом приводил к развитию гиперактивного фенотипа у животных.

Далее был проведен корреляционный анализ. В группе контроля отмечались только естественные реципрокные связи между временем активного плавания и временем/количеством замираний с коэффициентами корреляций $r = -0,74$ и $r = -0,84$ ($p \leq 0,05$) соответственно. Такого рода корреляции повторялись во всех экспериментальных группах, кроме «ВКД/СтД + бег». В группе «ВКД» была выявлена достоверная отрицательная корреляция между временем замираний и уровнем эстрадиола ($r = -0,53$, $p \leq 0,05$), т. е. длительность замираний была связана с низким содержанием этого гормона в крови. В группе комплексной коррекции ожирения «ВКД/СтД + бег», когда отмечались рекордно высокие показатели тестостерона и максимально возможные сроки активного плавания, была зарегистрирована высокая степень положительной корреляции между этими показателями ($r = 0,94$, $p \leq 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительная высококалорийная диета (16 недель) приводит к развитию висцерального ожирения, сопровождающегося соответствующими метаболическими сдвигами – повышением уровня глюкозы, ОХ и ТГ в сыворотке крови, что подтверждается данными литературы [5–7]. Результаты изучения гормональных показателей репродуктивного статуса у самцов крыс линии Вистар согласуются с материалами клинических и экспериментальных наблюдений, свидетельствующих о том, что ожирение связано с гипогонадизмом у мужчин и дисрегуляцией в системе гипоталамус–гипофиз–гонады у экспериментальных животных [1; 2]. Что касается глюкокортикоидов, то их роль при ожирении неоднозначна. Выброс глюкокортикоидов в результате острой реакции на стресс способствует мобилизации запасов энергии, но, с другой стороны – хроническое воздействие этих гормонов имеет противоположный эффект, способствуя накоплению энергии в виде жира и преимущественно в брюшной полости. Хроническое воздействие глюкокортикоидов увеличивает экспрессию и активность липопротеиновой липазы в депо жировой ткани, облегчая накопление жира, и этот процесс преобладает в висцеральной жировой ткани [9]. Определение уровня кортизола в нашей работе не выявило существенного изменения уровня гормона ни при высококалорийной диете, ни при физических нагрузках у крыс, получавших стандартную диету, однако содержание гормона было достоверно повышено при сочетании ВКД и бега. Последнее свидетельствует о том, что для животных с ожирением умеренная физическая нагрузка является фактором стресса и приводит к гиперкортицизму. Повышение уровня кортизола проявляется в сочетании с нарастанием триглицеридов и холестерина в крови у крыс группы «ВКД + бег». Комплексный вариант коррекции ожирения («ВКД/СтД + бег») не только нормализует массу висцеральной жировой ткани, но также и уровень кортизола, холестерина и триглицеридов в крови.

Известно, что физические упражнения повышают концентрацию тестостерона в плазме крови у мужчин, но этот процесс зависит от различных факторов, в том числе от интенсивности и характера физических нагрузок. Интригующим является вопрос о механизме влияния физических упражнений на регуляцию продукции тестостерона мужскими гонадами. В [10] высказано предположение о том, что в этом процессе важную роль играет лактат, поскольку инкубация срезов медиобазального гипоталамуса крыс с лактатом повышает уровень гонадотропин-рилизинг-гормона в среде. Было обнаружено, что введение лактата в среду инкубации клеток Лейдига дозозависимо увеличивает базальную выработку тестостерона на 63–187 % [10]. Однако далее показано, что кортикостерон, в свою очередь, может влиять на эффекты лактата и ограничивать стимулируемую им выработку тестостерона в клетках Лейдига у крыс.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению связи между энергетическим балансом организма и репродуктивной функцией, в которой участвует гипоталамический белок кисспептин. Современные представления о регуляции репродуктивной функции связаны с влиянием лептина, подавляющего экспрессию кисспептина/GPR54 в гипоталамусе, что вызывает снижение секреции гонадолиберина и, соответственно, вторичный гипогонадизм у мужчин с ожирением [11]. В опытах на мышах показано, что физические упражнения с умеренной нагрузкой оказывают противовоспалительное действие, сопровождающееся увеличением экспрессии мРНК и белка kiss и гонадотропинрилизингом гормона в гипоталамусе, повышением уровня фолликулостимулирующего гормона, ЛГ и тестостерона в сыворотке крови и улучшением качества спермы [12]. Эти данные согласуются и с нашими результатами, подтверждая, что компенсация сниженной на фоне ВКД продукции тестостерона достигается за счет активации оси гипоталамус–гипофиз–гонады в результате стимулов, которые дает физическая нагрузка. В [13] проведены эксперименты на крысах OLETF, генетически склонных к гиперфагии и ожирению. Эти животные подвергались принудительному бегу в течение 8 недель с высокой нагрузкой (60 мин со скоростью 25 м/мин, 5 дней в неделю). В результате масса тела крыс в группе упражнений была значительно ниже, а уровень тестостерона в крови и яичках был значительно выше, чем в контрольной группе. Можно предположить, что при уменьшении массы депонированного жира стимулирующий эффект физических упражнений усиливается, поскольку снижается уровень лептина и, соответственно, его ингибирующее влияние на экспрессию кисспептина/GPR54 в гипоталамусе.

Следующим важным вопросом является механизм развития гиперактивного поведения крыс в условиях комплексной коррекции ожирения, т. е. при переходе от высококалорийной к стандартной диете в сочетании с физической нагрузкой. Наличие достоверной положительной корреляционной связи между уровнем тестостерона и длительностью активного плавания крыс позволяет предположить участие тестостерона в активации двигательной активности животных и/или антидепрессивном эффекте. Данные литературы свидетельствуют о том, что при депрессивных расстройствах со сниженным либидо и низким уровнем тестостерона заместительная гормональная терапия андрогенами является столь же эффективной, как транспортеры обратного захвата серотонина, причем показано, что тестостерон может модулировать серотонинэргическую передачу [14]. Антидепрессивный эффект тестостерона является положительным у пациентов, страдающих гипогонадизмом. Известно, что низкий уровень тестостерона у мужчин, особенно его свободной фракции, связан с потерей энергии. В соответствии с этим орхидэктомия у грызунов приводит к снижению физической активности. Тем не менее, механизмы, с помощью которых тестостерон стимулирует физическую активность, остаются пока неясными. Показано, что свободная фракция тестостерона, как через андроген-рецепторы, так и косвенно через ароматизацию в эстрогены, стимулирует физическую активность у самцов мышей, воздействуя на центральные пути дофамина. «Центральная гипотеза» воздействия тестостерона была проверена как с применением агониста амфетамина, так и антагонистов дофаминовых рецепторов и нашла подтверждение в плане влияния на физическую активность путем активации дофаминэргической системы мозга [15]. Эти представления в целом согласуются с нашими данными и объясняют феномен гиперактивности у крыс самцов линии Вистар при переходе от ВКД к сбалансированной диете в сочетании с бегом, когда отмечается максимально высокий уровень тестостерона.

Однако следует учитывать, что воздействие физических нагрузок на организм крайне многогранно и его нельзя свести к какому-то одному механизму. Современные исследования свидетельствуют о том, что физические упражнения могут использоваться при лечении депрессии, деменции, болезни Паркинсона и др., поскольку модулируют сигнальные пути нейротрансмиттеров ЦНС, таких как норадреналин, дофамин и серотонин, выделение опиоидов и эндорфинов, а также целого ряда нейротрофических факторов. Недавно было обнаружено, что сокращение мышц может индуцировать секрецию молекул, называемых миокинами и оказывающих благотворное воздействие на уровне всего тела. В наших экспериментах подтверждается положительное влияние умеренных физических упражнений на состояние репродуктивной системы при ожирении, причем это влияние превосходит действие сбалансированной диеты. Что касается депрессивного поведения, вызванного ожирением, то его нормализация достигалась только при переходе на стандартную диету, а физические упражнения усиливали этот эффект и вызывали у животных гиперактивное состояние.

В заключение следует отметить, что немедикаментозные способы коррекции ожирения с учетом метаболических последствий и развивающейся депрессивности требуют перехода на сбалансированную диету, тогда как нормализация репродуктивного статуса предусматривает подключение умеренных физических нагрузок у самцов крыс линии Вистар. Существует тесная связь между развитием депрессивности и уровнем тестостерона при ожирении и его коррекции.

Выводы

1. Длительная высококалорийная диета (16 недель) вызывает у самцов крыс линии Вистар висцеральное ожирение, повышение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов, резкое снижение уровней тестостерона и эстрадиола в сыворотке крови, а также проявления депрессивности в тесте Порсолта.

2. Успешная коррекция ожирения, метаболических сдвигов и депрессивного поведения у крыс достигается при переходе на сбалансированную диету в период последних 8 недель эксперимента.

3. Нормализация содержания тестостерона и эстрадиола на фоне повышения уровня лютеинизирующего гормона в сыворотке крови происходит на фоне продолжающейся высококалорийной диеты (16 недель) с подключением физических упражнений в период последних 8 недель эксперимента.

4. Сочетанная коррекция ожирения, включающая переход на стандартную диету и физические упражнения в период последних 8 недель эксперимента, приводит к резкому 2-кратному повышению уровня тестостерона по сравнению с контролем и гиперактивному фенотипу у самцов крыс линии Вистар.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Список использованных источников

1. Lainez, N. M. Obesity, neuroinflammation, and reproductive function / N. M. Lainez, D. Coss // *Endocrinology*. – 2019. – Vol. 160, N 11. – P. 2719–2736. <https://doi.org/10.1210/en.2019-00487>
2. Ожирение как фактор нарушения сперматогенеза (экспериментальное исследование) / А. А. Артамонов [и др.] // *Андрология и генитальная хирургия*. – 2020. – Т. 21, № 2. – С. 36–43. <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2020-21-2-36-43>
3. Мазо, Г. Э. Механизмы формирования коморбидности депрессии и ожирения / Г. Э. Мазо, А. О. Кибитов // *Обзор психиатрии и медицинской психологии*. – 2018. – № 1. – С. 65–78.
4. Exercício físico e obesidade mórbida: uma revisão sistemática / S. J. Fonseca-Junior [et al.] // *Arq. Bras. Cir. Dig.* – 2013. – Vol. 26, N 1. – P. 67–73. <https://doi.org/10.1590/S0102-67202013000600015>
5. Exercise decreases lipogenic gene expression in adipose tissue and alters adipocyte cellularity during weight regain after weight loss / E. D. Giles [et al.] // *Front. Physiol.* – 2016. – Vol. 7. – Art. 32. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00032>
6. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats / R. Wang [et al.] // *J. Sport Health Sci.* – 2020. – Vol. 9, N 3. – P. 211–227. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.09.008>
7. Experimental models of metabolic syndrome in rats / S. Gancheva [et al.] // *Scripta Scientifica Medica*. – 2015. – Vol. 47, N 2. – P. 14–21. <https://doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>
8. Castagne, V. Behavioral assessment of antidepressant activity in rodents / V. Castagne, P. Moser, R. D. Porsolt // *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience* / ed. J. J. Buccafusco. – 2nd ed. – Boca Raton, 2009. – Ch. 6.

9. Scott, K. A. Effects of chronic social stress on obesity / K. A. Scott, S. J. Melhorn, R. R. Sakai // *Curr. Obes. Rep.* – 2012. – Vol. 1, N 1. – P. 16–25. <https://doi.org/10.1007/s13679-011-0006-3>
10. Stimulatory effect of lactate on testosterone production by rat Leydig cells / H. Lin [et al.] // *J. Cell. Biochem.* – 2001. – Vol. 83, N 1. – P. 147–154. <https://doi.org/10.1002/jcb.1213>
11. Downregulation of leptin receptor and kisspeptin/GPR54 in the murine hypothalamus contributes to male hypogonadism caused by high-fat diet-induced obesity / L. Zhai [et al.] // *Endocrine.* – 2018. – Vol. 62, N 1. – P. 195–206. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1646-9>
12. Leptin and inflammatory factors play a synergistic role in the regulation of reproduction in male mice through hypothalamic kisspeptin-mediated energy balance / B. Chang [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 19, N 12. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12958-021-00698-0>
13. Aerobic exercise training increases testosterone production in the testis in OLETF rats / H. Kumagai [et al.] // *FASEB J.* – 2016. – Vol. 30, N S1. – P. 1288.10.
14. Celec, P. On the effects of testosterone on brain behavioral functions / P. Celec, D. Ostatnikova, J. Hodosy // *Front. Neurosci.* – 2015. – Vol. 9. – Art. 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00012>
15. Testosterone boosts physical activity in male mice via dopaminergic pathways / F. Jardí [et al.] // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8, N 1. – Art. 957. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-19104-0>

References

1. Lainez N. M., Coss D. Obesity, neuroinflammation, and reproductive function. *Endocrinology*, 2019, vol. 160, no. 11, pp. 2719–2736. <https://doi.org/10.1210/en.2019-00487>
2. Artamonov A. A., Bogolyubov S. V., Eliseeva T. I., Pozdnyakov O. B., Astakhova A. V. Obesity as a factor in spermatogenesis disorders (experimental study). *Andrology and Genital Surgery*, 2020, vol. 21, no. 2, pp. 36–43 (in Russian). <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2020-21-2-36-43>
3. Mazo G. E., Kibitov A. O. Mechanisms of formation of comorbidity depression and obesity. *Obozrenie psikhiiatrii i meditsinskoi psikhologii = Review of Psychiatry and Medical Psychology*, 2018, no. 1, pp. 65–78 (in Russian).
4. Fonseca-Junior S. J., Sá C. G. A. B., Rodrigues P. A. F., Oliveira A. J., Fernandes-Filho J. Exercício físico e obesidade mórbida: uma revisão sistemática. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 2013, vol. 26, no. 1, pp. 67–73 (in Portuguese). <https://doi.org/10.1590/s0102-67202013000600015>
5. Giles E. D., Steig A. J., Jackman M. R., Higgins J. A., Johnson G. C., Lindstrom R. C., MacLean P. S. Exercise decreases lipogenic gene expression in adipose tissue and alters adipocyte cellularity during weight regain after weight loss. *Frontiers in Physiology*, 2016, vol. 7, art. 32. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00032>
6. Wang R., Tian H., Guo D., Tian Q., Yao T., Kong X. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats. *Journal of Sport and Health Science*, 2020, vol. 9, no. 3, pp. 211–227. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.09.008>
7. Gancheva S., Zhelyazkova-Savova M., Galunska B., Chervenkov T. Experimental models of metabolic syndrome in rats. *Scripta Scientifica Medica*, 2015, vol. 47, no. 2, pp. 14–21. <https://doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>
8. Castagné V., Moser P., Porsolt R. D. Behavioral assessment of antidepressant activity in rodents. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2nd ed.* Boca Raton, 2009, ch. 6.
9. Scott K. A., Melhorn S. J., Sakai R. R. Effects of chronic social stress on obesity. *Current Obesity Reports*, 2012, vol. 1, no. 1, pp. 16–25. <https://doi.org/10.1007/s13679-011-0006-3>
10. Lin H., Wang S. W., Wang R. Y., Wang P. S. Stimulatory effect of lactate on testosterone production by rat Leydig cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2001, vol. 83, no. 1, pp. 147–154. <https://doi.org/10.1002/jcb.1213>
11. Zhai L., Zhao J., Zhu Y., Liu Q., Niu W., Liu C., Wang Y. Downregulation of leptin receptor and kisspeptin/GPR54 in the murine hypothalamus contributes to male hypogonadism caused by high-fat diet-induced obesity. *Endocrine*, 2018, vol. 62, no. 1, pp. 195–206. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1646-9>
12. Chang B., Song C., Gao H., Ma T., Li T., Ma Q., Yao T., Wang M., Li J., Yi X., Tang D., Cao S. Leptin and inflammatory factors play a synergistic role in the regulation of reproduction in male mice through hypothalamic kisspeptin-mediated energy balance. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2021, vol. 19, no. 1, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12958-021-00698-0>
13. Kumagai H., Zempo-Miyaki A., Myoenzono K., Maeda S. Aerobic exercise training increases testosterone production in the testis in OLETF rats. *FASEB Journal*, 2016, vol. 30, pp. 1288.10.
14. Celec P., Ostatniková D., Hodosy J. On the effects of testosterone on brain behavioral functions. *Frontiers in Neuroscience*, 2015, vol. 9, art. 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00012>
15. Jardí F., Laurent M. R., Kim N., Khalil R., De Bundel D., van Eeckhaut A., van Helleputte L., Deboel L., Dubois V., Schollaert D., Decallonne B., Carmeliet G., van den Bosch L., D’Hooge R., Claessens F., Vanderschueren D. Testosterone boosts physical activity in male mice via dopaminergic pathways. *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, no. 1, art. 957. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-19104-0>

Информация об авторах

Митюкова Татьяна Алексеевна – канд. биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mityukovat@gmail.com.

Полулях Ольга Евгеньевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: reanzy@yandex.ru.

Чудиловская Екатерина Николаевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com.

Басалай Анастасия Александровна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com.

Рудниченко Юлия Анатольевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: link060619@list.ru.

Хрусталёва Татьяна Александровна – канд. биол. наук, ученый секретарь. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanissia.lir@gmail.com.

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru.

Information about the authors

Mityukova Tatyana A. – Ph. D. (Biology), Chief Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mityukovat@gmail.com.

Poluliakh Olga Y. – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: reanzy@yandex.ru.

Chudilovskaya Katerina N. – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com.

Basalai Anastasia A. – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com.

Rudnichenko Yulia A. – Ph. D. (Biology), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: link060619@list.ru.

Khrustaleva Tatyana A. – Ph. D. (Biology), Scientific Secretary. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanissia.lir@gmail.com.

Hubkin Sjarhei V. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru.

НАУКИ О ЗЕМЛЕ**EARTH SCIENCES**

УДК 631.432:[519.22+519.65]

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-444-453>

Поступило в редакцию 15.04.2022

Received 15.04.2022

А. Н. Червань¹, В. И. Мельник², В. М. Яцухно¹¹*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*²*Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ОЦЕНКА И ВНУТРИРЕГИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ УЯЗВИМОСТИ ПОЧВ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ
К ЗАСУХАМ В УСЛОВИЯХ ПОТЕПЛЕНИЯ КЛИМАТА***(Представлено академиком В. Ф. Логиновым)*

Аннотация. На основе наиболее полной, по сравнению с другими исследованиями этого вопроса, агрометеорологической информации впервые представлена количественная оценка площадей уязвимых почв к засухам и составлена серия карт, позволяющих выделить почвы сельскохозяйственных земель в зоне наиболее выраженного риска. Представлены результаты оценки уязвимости (предрасположенности или восприимчивости) почв сельскохозяйственных земель региона Белорусского Полесья к засухам. Для определения степени ее проявления предлагается использовать такие почвенно-гидрологические константы влагообеспеченности почв, как предельно полевая влагемкость (ППВ), влажность разрыва капилляров (ВРК) и динамику изменения их показателей в течение вегетационного периода (апрель–октябрь) за 30-летний период (1989–2018 гг.). С применением ГИС-технологий составлена серия цифровых карт уязвимости почв аграрного землепользования к засухам на уровне региона, административных районов и отдельных сельскохозяйственных организаций. Выполнена группировка административных районов Белорусского Полесья по соотношению площадей сельскохозяйственных земель с разной степенью уязвимости почв к засухам для разработки территориально дифференцированных мероприятий по адаптации и смягчению их негативного влияния на агроэкосистемы. Полученные результаты исследований нашли практическое применение при разработке мероприятий по смягчению негативного влияния почвенных засух на сельскохозяйственное производство.

Ключевые слова: влагообеспеченность, почвенная засуха, пространственная оценка, уязвимость почв, ГИС-технологии

Для цитирования. Червань, А. Н. Оценка и внутрирегиональные различия уязвимости почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья к засухам в условиях потепления климата / А. Н. Червань, В. И. Мельник, В. М. Яцухно // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 444–453. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-444-453>

Aliaksandr N. Chervan¹, Viktor I. Melnik², Valyantim M. Yatsukhno¹¹*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*²*Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***ASSESSMENT AND INTRA-REGIONAL DIFFERENCES IN THE SOIL VULNERABILITY
OF THE AGRICULTURAL LANDS OF BELARUSIAN POLESYE TO DROUGHTS UNDER
WARMING CLIMATE***(Communicated by Academician Vladimir F. Loginov)*

Abstract. A quantitative assessment of the areas of vulnerable soils to droughts was presented for the first time and a series of maps was compiled to identify soils of agricultural lands in the zone of the most pronounced risk on the basis of the most complete agrometeorological information in comparison with other studies. The article presents the results of assessing the soil vulnerability (predisposition or susceptibility) of agricultural lands to droughts in the region of Belarusian

Polesye. To determine the degree of its manifestation, it is proposed to use such soil-hydrological constants of soil moisture availability as maximum field capacity moisture, rupture of capillary bonds and dynamics of change in their indicators during the growing season (April–October) over a 30-year period (1989–2018). The series of digital maps of the vulnerability of agricultural land use soils to droughts at the level of the region, administrative districts and individual agricultural organizations was compiled using the GIS technologies. The grouping of the administrative regions of Belarusian Polesye according to the ratio of agricultural land areas with varying degrees of soil vulnerability to droughts was carried out in order to develop territorially differentiated measures for adaptation and mitigation of their negative impact on agroecosystems. The obtained research results have found practical application in the development of measures to mitigate the negative impact of soil droughts on agricultural production. It is concluded that in the context of an increase in the number and duration of atmospheric droughts in the region, the need to apply the results of assessing the vulnerability of soils to their adverse effects is mandatory when substantiating and applying measures to adapt agricultural activities to mitigate the negative effects of droughts.

Keywords: moisture availability, soil drought, spatial assessment, soil vulnerability, GIS technologies

For citation. Chervan A. N., Melnik V. I., Yatsukhno V. M. Assessment and intra-regional differences in the soil vulnerability of the agricultural lands of Belarussian Polesye to droughts under warming climate. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 444–453 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-444-453>

Введение. Наблюдаемое в последние несколько десятилетий на территории Беларуси изменение климата, сопровождающееся ростом температур воздуха и увеличением продолжительности периода потепления, оказывает существенное влияние на наиболее погодозависимый сектор экономики – сельское хозяйство, в частности растениеводство [1]. Существенный экономический ущерб сельскохозяйственному производству в Беларуси, обусловленный климатическими изменениями, наносят засухи, все чаще проявляющиеся и охватывающие значительную территорию [2]. Наиболее остро данная проблема проявляется в регионе Белорусского Полесья, где произошедшие в 1992–1996 гг. серии засух, а также последующие в 1999, 2000, 2006, 2009, 2010, 2012–2016, 2018, 2019, 2021 гг. засухи особенно негативно отразились на эффективности сельскохозяйственного производства. За период потепления повторяемость засух увеличилась почти вдвое по сравнению с предшествующим периодом в 50–70-е годы XX в. [3]. Так, повторяемость засух с площадью не менее 30 % территории административных областей республики составляет в Гомельской области 1 раз в 2 года, в Брестской – 1 раз в 2–3 года. За последний 75-летний период метеорологических наблюдений произошла трансформация частоты засух. Если в первой половине этого периода был характерен 4–5-летний цикл их колебаний, то в последние два десятилетия он сменился на 2–3-летний [4]. Усиление в регионе потепления, вызванного климатическими изменениями, способствовало выделению здесь новой (четвертой) агроклиматической области, в состав которой вошла значительная часть территории Брестской и Гомельской административных областей республики [1]. В среднем в указанной агроклиматической области сумма температур выше 10 °C за период активной вегетации колеблется от 2607 °C в ее северной части до 2740 °C – в южной. За этот период в новой агроклиматической области отмечены наименьшие значения гидротермического коэффициента увлажнения (ГТК) для территории Беларуси, который изменяется от 0,9 до 1,3, а в период засух опускается и до более низких величин. В отдельные годы (1992, 2002, 2010, 2013, 2015) значения ГТК по некоторым пунктам наблюдений в южных областях в августе не превышали 0,02–0,3, что характеризует условия увлажнения как сухие и очень сухие [3].

До настоящего времени за рубежом и в странах СНГ основное внимание уделялось изучению факторов, механизмов и закономерностей развития атмосферных (метеорологических) засух. Проявление же почвенной засухи во многом зависит от имеющихся влагозапасов в каждой почвенной разновидности, формирование и динамика водного режима которых зависит не только от климатических условий, но также определяется рельефом местности, гранулометрическим составом почв и содержанием в них гумуса, генетическими особенностями почвообразования и др. Почва в зависимости от ее водно-физических характеристик обладает свойством смягчения засух и вызываемых ими засушливых явлений. Выполнение подобной функции зависит от степени уязвимости почв к засухам, рассматриваемой как склонность и предрасположенность к этому неблагоприятному климатическому явлению и тем самым позволяет выявить степень их подвер-

женности последствиям изменения климата¹. Оценка уязвимости почв сельскохозяйственных земель к засухам является начальным и наиболее важным этапом научного обоснования и разработки организационно-территориальных и агротехнологических мер по адаптации аграрного землепользования к климатическим изменениям и смягчению их негативных последствий². О важности и необходимости учета почвенного фактора в познании механизмов влияния климатических изменений на агроэкосистемы, а также при разработке мер адаптационного и защитного характера по смягчению их последствий свидетельствует недавно принятая ФАО ООН обновленная Всемирная хартия о почвах. В частности, в преамбуле хартии подчеркивается, что «рациональное использование почв является одним из неотъемлемых элементов устойчивого сельского хозяйства, а также представляет собой ценный инструмент регулирования климата и путь сохранения экосистемных услуг и биоразнообразия»³. Оценка уязвимости почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья в данном исследовании является важным методическим и инновационным шагом для принятия необходимых мер по адаптации к почвенным засухам в условиях современного изменения климата. В данной работе на основе наиболее полной, по сравнению с другими исследованиями этого вопроса, агрометеорологической информации впервые представлена количественная оценка площадей уязвимых почв к засухам и составлена серия цифровых разномасштабных карт, позволяющих выделить почвы сельскохозяйственных земель в зоне наиболее выраженного риска. Полученные результаты исследований нашли практическое применение при разработке мероприятий по смягчению влияния почвенных засух на сельскохозяйственное производство.

Материалы и методы исследования. Объектом выполненного исследования являлись почвы сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья площадью свыше 2,9 млн га, представленные более чем 230 почвенными разновидностями, различающиеся по степени гидроморфизма, – от автоморфных до глееватых и глеевых, гранулометрическим составом почвообразующих пород – от рыхлых песчаных до суглинистых и осушенных торфяных почв, а также охватывающие все распространенные на территории Беларуси генетические типы почвообразования [5]. В качестве ключевых показателей для определения степени уязвимости почв к засухам предлагается использовать величины их влагозапасов, отражающие агрегированную оценку количества доступной влаги, обусловленной балансом осадков, почвенной влаги, испарения и различных видов водного стока. Условия гумидного климата, которые характерны для Беларуси, отличаются разновременным и частым чередованием засушливых и переувлажненных явлений, что и было использовано для оценки влагообеспеченности почв с применением их агрогидрологических констант [6–11].

Для оценки влагозапасов почв Белорусского Полесья анализировались подекадные результаты запасов продуктивной влаги в слое 0–20 см на наблюдательных полевых участках 17 метеостанций Брестской и Гомельской областей за вегетационные периоды (апрель–октябрь) в течение 1989–2018 гг. Проведение работ осуществлялось в соответствии с ТКП 17.10-09-2008 (02120) «Охрана окружающей среды и природопользование. Гидрометеорология. Правила организации агрометеорологических наблюдений и работ». Как известно, запасы продуктивной влаги в почве могут изменяться от избыточных (запасы влаги выше предельной полевой влагоемкости – ППВ) до полного отсутствия продуктивной влаги (влажность завядания – ВЗ). Верхним пределом оптимального содержания влаги в почве принимается ППВ – влага, удерживаемая сорбционными и капиллярными силами, а нижним – интервал влаги, равный 0,6–0,8 ППВ⁴, что соответствует влажности разрыва капилляров (ВРК) [11; 12].

¹ Drought impact and vulnerability assessment. A rapid review of practices and policy recommendations. – Bonn (Germany), 2019. – 65 p.

² Drought resilience, adaptation and management policy framework: supporting technical guidelines. – Bonn (Germany), 2019. – 48 p.; Drought risk assessment and management: a conceptual framework / European Commission. – Publications Office, 2018. – 66 p.; Climate change adaption in the agricultural sector in Europe. Luxemburg, 2019. – 110 p.

³ Revised World Soil Charter, FAO UN. – Rome, 2015. – 8 p.

⁴ Методические указания по аналитической оценке почвенно-гидрологических констант в эколого-мелиоративных целях. – Брест, 1996. – 31 с.

Последняя категория влаги в почве отражает величину влажности, при которой подвешенная влага в процессе испарения теряет склонность и перестает передвигаться к испаряющей поверхности и является нижним пределом доступной растениям влаги.

Таким образом, для параметризации влагообеспеченности почв выбран диапазон между величинами двух почвенно-гидрологических констант: ППВ и ВРК.

Наиболее информативным с точки зрения количественной оценки влагообеспеченности почв разного генезиса и гранулометрического состава является верхний слой почвы 0–20 см, как наиболее активный, содержащий основную массу корней растений и запасов гумуса, а главное, как слой, в котором всегда можно определить ППВ, тогда как в слое 0–50 см в некоторых почвах (при близком уровне почвенно-грунтовых вод) она неотделима от полной влагоемкости. В качестве меры (оценки) влагообеспеченности почвы определенного генезиса, гидроморфизма и гранулометрического состава было принято число дней за год или за вегетационный период, в течение которых содержание влаги в слое 0–20 см превышает ППВ и ниже ВРК. Последняя агрогидрологическая константа означает начальную степень повреждения сельскохозяйственных культур из-за засух и служит ключевым индикатором, определяющим степень уязвимости почв к рассматриваемому климатическому явлению. Обобщение обширной базы данных влагозапасов почв за 30-летний период позволило количественно определить дифференциацию их состояния по данному критерию. Так, к наиболее уязвимым к засухам отнесены почвы с показателем ниже ВРК, находящиеся в течение вегетационного периода более 130 дней, 91–130 – сильноуязвимым, 50–90 – среднеуязвимым, менее 50 дней – слабоуязвимым. Полученные данные были использованы при составлении электронного и бумажного вариантов карты степени уязвимости к засухам почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья масштаба 1 : 200 000, а также подобных карт Калинковичского и Пинского административных районов (масштаб 1 : 50 000) и сельскохозяйственных организаций (масштаб 1 : 10 000). Учитывая, что в балансе влагообеспеченности почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья заметную роль (40–60 %) играет величина латерального стока почвенно-грунтовых вод, было учтено их территориальное положение в составе определенной почвенной комбинации. Методика идентификации и картографирования последних базировалась на определении единства и близости групп почвенных таксонов разной степени гидроморфизма, литологических условий и размещения их в рельефе [13].

Результаты и их обсуждение. Отличительной особенностью климатических изменений на территории Белорусского Полесья за последние 30 лет является устойчивое повышение температуры воздуха, которое наиболее выражено в зимний (декабрь–февраль), весенний (март–апрель) и летний (июнь–август) сезоны. Как показали исследования, годовая температура воздуха в регионе за 1989–2018 гг. увеличилась на 1,3 °С по сравнению с климатической нормой (1961–1990 гг.) [14]. Это обусловило аномально ранние переходы температуры воздуха через 0 °С весной (в среднем на 8–13 дней раньше многолетних сроков). Переходы температуры через 5 °С и 10 °С весной также происходили раньше многолетних дат (на 7–10 и 2–7 дней соответственно). Увеличились суммы температур воздуха выше 0; 5; 10 и 15 °С и продолжительность периодов с пороговыми значениями указанных температур. На большей части Белорусского Полесья число жарких и сухих дней за период активной вегетации (май–август) в среднем по региону увеличилось на 2,5 дня. Наблюдается тенденция увеличения количества сухих дней в сочетании с максимальной температурой воздуха +25 °С и выше, особенно в июле–августе, что является неблагоприятным фактором для условий произрастания ряда сельскохозяйственных культур, и в первую очередь, зерновых, картофеля, льна, трав второго укоса. Рост числа засух, засушливых явлений становится важнейшей угрозой для растениеводческой отрасли Белорусского Полесья. Так, по данным Минсельхозпрода, в результате проявления засух за вегетационный период (май–июнь 2018 г.) в регионе погибли посевы сельхозкультур на площади 141,0 тыс. га, повреждены – на 368,0 тыс. га. Негативное влияние засух на растениеводческую отрасль во многом обусловлено преобладанием в структуре сельскохозяйственных земель легких песчаных и рыхлых супесчаных (66,7 %) и осушенных торфяных, в том числе деградированных (12,5 %) почв [5].

Оценка влагообеспеченности почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья выполнена по иерархическому принципу с учетом таксономического уровня классификации почвенного покрова в порядке: тип – подтип – род – вид. Генетическая дифференциация почв Беларуси по степени гидроморфизма (автоморфные, временно избыточно увлажненные, глееватые и глеевые) способствовала определению межгруппового разграничения значений агрогидрологических констант (ВРК и ППВ). Аллювиальные почвы в силу сложного водного режима, обусловленного паводковыми водами, а следовательно, соответствующим режимом водных объектов, в анализе влагообеспеченности не участвовали, и составили группу слабоуязвимых почв к засухам.

Внутригрупповая дифференциация числа дней вегетационного периода (апрель–октябрь) с содержанием влаги в пахотном слое почвы ниже ВРК для определения степени уязвимости к засухам проводилась на основе гранулометрического состава почв по видам с учетом наличия водоупора в подпахотном горизонте оцениваемых таксонов. Наличие водоупора было определено по содержанию физической глины в подпахотном горизонте почвы по отношению к гранулометрическому составу вышележащего горизонта. Кроме того, почвы в каждой группе были изначально распределены в порядке утяжеления гранулометрического состава: от рыхлых песков до легких и средних суглинков.

Наличие водоупора в отдельных видах почв служило обоснованием изменения группы по степени уязвимости: наиболее уязвимых на сильноуязвимые в оглеенных внизу почвах, сильноуязвимых на среднеуязвимые во временно избыточно увлажненных почвах, среднеуязвимых на слабоуязвимые в подтипе глееватых почв. Отсутствие водоупора, напротив, обуславливало принадлежность рассматриваемых видов почв к группе более уязвимых к засухам. Так, рыхлосупесчаные и связнопесчаные временно избыточно увлажненные почвы, сменяющиеся рыхлыми песками с глубины менее 1,0 м, были отнесены к группе сильноуязвимых почв к засухам, что дополнительно подтверждается зафиксированным максимальным числом дней – 170 – с влажностью почв в слое 0–20 см ниже ВРК.

На водоудерживающую способность почв, определяющую степень уязвимости их к засухам, существенное влияние оказывает дисперсность почв, которая детерминируется гранулометрическим составом. Однако для более полного объяснения причин различного содержания влаги в одинаковых по гранулометрическому составу почвах требуются более длительные исследования, направленные на выделение зависимости между содержанием влаги в почвах и их коллоидно-дисперсных тел через установление эффективной удельной поверхности твердой фазы таких почв [15].

Полученные результаты группировки почв сельскохозяйственных земель региона по показателям влагообеспеченности и их степени уязвимости к засухам отражены в таблице. Как следует из представленных данных, среднемноголетнее количество дней за вегетационный период с показателями влаги ниже ВРК, в зависимости от генетико-морфологического строения и гидрологических свойств почв региона, изменяется в широком диапазоне – от 24 до 152. Установлено, что общая площадь сельскохозяйственных земель с наиболее уязвимыми и сильноуязвимыми почвами к засухам составляет 393,2 тыс. га, или 13,6 % территории, среднеуязвимыми – 844,2 тыс. га, или 29,1 %, слабоуязвимыми – 1164,7 тыс. га, или 40,1 %. Окончательная степень уязвимости почв сельскохозяйственных земель к засухам определялась по принадлежности к идентифицированной по структуре почвенного покрова почвенной комбинации [13], границы которой определяют пространственное перераспределение запасов почвенной влаги в более крупных территориальных единицах и служат дополнительным критерием при оценке риска проявления почвенной засухи. Следует отметить, что почвенные комбинации типологически характеризуют геоморфологические, орографические и литологические условия почвообразования и землепользования, что предопределяет условия влагообеспеченности почвенного покрова и внутрипочвенного движения влаги.

Полученные данные свидетельствуют, что большая часть сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья находится в зоне риска, обусловленного высокой вероятностью подверженности засухам. Составленная в рамках проведенного исследования карта территориального распространения почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья разной степени

Группировка почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья по степени уязвимости к засухам
Grouping of agricultural land soils of Belarusian Polesye in terms of their vulnerability to drought

Степень гидроморфизма Hydromorphism degree	Гранулометрический состав почв и особенности подстилаяния/сменяемости почвообразующих пород Granulometric composition of soils and features of bedding/changeability of native rocks	Среднегодовое количество дней вегетационного периода (апрель–октябрь) с содержанием влаги в слое 0–20 см почвы Long-term average number of days of the growing season (April–October) with a moisture content in the 0–20 cm soil layer		Группа Group
		ниже ВРК	выше ППВ	
<i>Дерново-подзолистые, дерновые и дерново-карбонатные автоморфные</i>				
Автоморфные, оглеенные внизу и на контакте с подстилающей породой	Рыхло- и связнопесчаные, подстилаемые песками, реже на глубине 0,6–0,9 м более связными породами, иногда с их прослойками	152	45	1
	Рыхлосупесчаные, подстилаемые связными породами и гравийно-хрящеватые песчаные	144	46	1
	Рыхлосупесчаные, переходящие в связносупесчаные, реже подстилаемые с глубины 0,8 м более связными породами	133	46	1
	Рыхлосупесчаные, подстилаемые моренными песками и супесями	125	47	2
	Рыхло-, реже связносупесчаные с прослойкой на глубине легкими и средними суглинками	117	48	2
	Связно-, реже рыхлосупесчаные, сменяемые рыхлыми песками	103	49	2
	Связносупесчаные, реже легкосуглинистые, иногда подстилаемые моренными суглинками	95	50	2
	Легко- и среднесуглинистые, подстилаемые песками, реже моренными суглинками	87	50	3
<i>Дерново-подзолистые и дерновые полугидроморфные</i>				
Временно избыточно увлажненные	Легкосуглинистые на пылеватых суглинках, подстилаемые рыхлыми песками, иногда связными породами	87	50	3
	Рыхлосупесчаные и связнопесчаные, сменяющиеся рыхлыми песками	97	40	2
	Связносупесчаные, подстилаемые песками, реже моренными суглинками	93	43	2
	Связно- и рыхлосупесчаные, подстилаемые с глубины моренными супесями, реже суглинками	89	46	3
	Рыхлосупесчаные и связнопесчаные, сменяющиеся связными песками или подстилаемые на глубине супесями	85	45	3
<i>Дерново-подзолистые, дерновые и дерново-карбонатные заболоченные</i>				
Глееватые и глеевые	Рыхлосупесчаные, сменяющиеся рыхлыми песками, и рыхлосупесчаные мощные, иногда подстилаемые связными породами	57	47	3
	Связносупесчаные, сменяющиеся рыхлыми песками и рыхлосупесчаные мощные, реже подстилаемые моренными суглинками	55	50	3
	Рыхлосупесчаные и связнопесчаные, сменяющиеся рыхлыми песками, иногда с прослойкой суглинка, подстилаемые связными породами	52	40	3
	Связно- и рыхлосупесчаные, часто иллювиально-гумусные, иногда подстилаемые моренными суглинками	48	30	4
	Связно- и рыхлосупесчаные, песчаные с близким стоянием уровня грунтовых вод	45	10	4
	Легкосуглинистые и связносупесчаные, часто с намытым верхом, иногда подстилаемые рыхлыми песками	38	16	4
	Легко- и среднесуглинистые, реже связносупесчаные, подстилаемые моренными суглинками	34	15	4
<i>Торфяно-болотные переходные и низинные</i>				
Осушенные	Торфянисто- и торфяно-глеевые мало- и среднемощные	24	12	4
	Деградированные сильноминерализованные торфяные	42	18	4

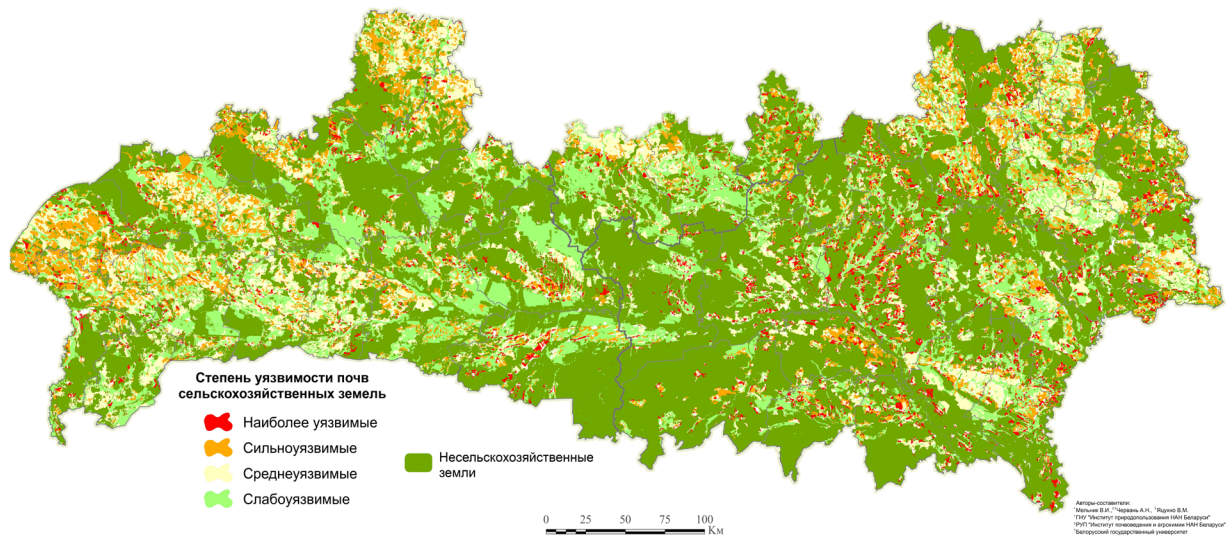


Рис. 1. Карта уязвимости почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья к засухам
 Fig. 1. Map of the soil vulnerability of agricultural lands of the Belarusian Polesye to droughts

уязвимости к засухам свидетельствует о выраженном внутрирегиональном различии их проявления (рис. 1).

С целью определения масштабов, интенсивности и вероятности возможного проявления почвенных засух на уровне аграрного землепользования административных районов Белорусского Полесья, определения первоочередных мер по их минимизации, а также предоставления преференций по предотвращению их негативного воздействия все 40 административных районов объединены в три группы. В первую группу вошли 22 административных района, в которых более 25 % площади сельскохозяйственных земель сложены почвами наиболее уязвимыми и сильноуязвимыми к засухам. К этой группе относятся в Брестской области – Брестский, Жабинковский, Пружанский, Ляховичский, Ивацевичский, Пинский районы; в Гомельской области – Лельчицкий, Ельский, Наровлянский, Мозырский, Калинковичский, Речицкий, Лоевский, Добрушский, Гомельский, Буда-Кошелевский, Ветковский, Светлогорский, Жлобинский, Рогачевский, Кормянский, Чечерский районы. Вторая группа включает 8 административных районов, где в почвенном покрове сельскохозяйственных земель до 40 % их площади занимают почвы, сильноуязвимые к засухам, и менее 10 % – наиболее уязвимые. В указанную группу вошли Каменецкий, Барановичский, Столинский, Житковичский, Петриковский, Хойникский, Брагинский и Глуский районы. В третью группу вошли 10 административных районов, где более 60 % сельскохозяйственных земель составляют средне- и слабоуязвимые к засухам почвы (Малоритский, Кобринский, Дрогичинский, Ивановский, Березовский, Ганцевичский, Лунинецкий, Солигорский, Любанский и Октябрьский районы).

Для научного обоснования и разработки практико-ориентированных мероприятий по адаптации системы земледелия к засухам и смягчению их негативных последствий необходимо базироваться на данных по уязвимости почв сельскохозяйственных земель, полученных в результате крупномасштабного ее картографирования на уровне отдельных административных районов и конкретных сельскохозяйственных организаций. В качестве такого примера может служить составленная цифровая карта, иллюстрирующая территориальное распространение разной степени уязвимости почв сельскохозяйственных земель Пинского района Брестской области (рис. 2). Отличительной чертой сельскохозяйственного земельного фонда Пинского района является наличие осушенных земель в пахотных и улучшенных луговых землях, главным образом, торфяно-болотных почв разной мощности торфяной залежи. Это существенно отразилось на соотношении площадей почв по степени уязвимости к засухам. Так, из общей площади сельскохозяйственных земель района, составляющих 134,3 тыс. га, 57,5 % занимают слабоуязвимые почвы к засухам, как правило, слагающие сельскохозяйственные земли, которые были подвергнуты осушению

в 60–80-х годах XX в. В большинстве их водный режим регулируется в результате сохранения и функционирования осушительно-увлажнительных систем. Около 22 % сельскохозяйственных земель, площадью свыше 29 тыс. га сложены наиболее уязвимыми и сильноуязвимыми к засухам почвами. Они приурочены к невысоким водораздельным пространствам, где преобладают автоморфные и оглеенные внизу легкие песчаные и реже супесчаные почвы, подстилаемые рыхлыми и связными песками. Высокой степенью уязвимости отмечаются также деградированные торфяно-минеральные почвы, образовавшиеся после интенсивного их использования и сработки торфяного слоя. Из общей площади органомогенных (торфяно-болотных) почв, используемых в сельскохозяйственных целях (34,3 тыс. га), дегроторфяные почвы занимают 13,4 тыс. га, на которых заметно возросла вероятность проявления засух [16]. Непромывной водный режим указанных почв объясняется заметным снижением уровня почвенно-грунтовых вод, обуславливающего разрыв капиллярной каймы на глубине ниже пахотного горизонта, что приводит к быстрому его иссушению во время проявления атмосферных засух.

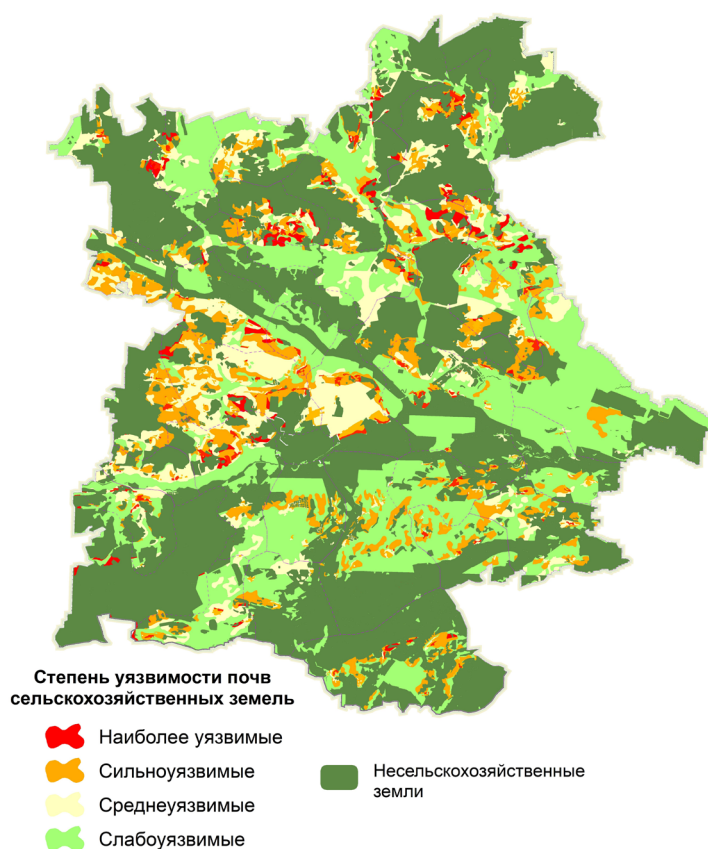


Рис. 2. Карта уязвимости почв сельскохозяйственных земель к засухам Пинского района Брестской области
Fig. 2. Map of soil vulnerability of agricultural lands to droughts in the Pinsk district of Brest region

Заключение. В данной работе на основе наиболее полной, по сравнению с другими исследованиями этого вопроса, агрометеорологической информации впервые представлена количественная оценка площадей уязвимых почв к засухам и составлена серия цифровых разномасштабных карт, позволяющих выделить почвы сельскохозяйственных земель в зоне наиболее выраженного риска. В условиях изменения климата и роста повторяемости почвенных засух полученные оценки уязвимости почв сельскохозяйственных земель Белорусского Полесья к засухам являются основой для принятия необходимых мер по адаптации к почвенным засухам. Интенсивность негативного воздействия засух на продуктивность сельскохозяйственных культур и размеры экономического ущерба во многом определяются степенью уязвимости культивируемых почв к засухам, обусловленной многолетней внутрисезонной и территориальной изменчивостью влагозапасов в них. В качестве показателя для дифференциации почв сельскохозяйствен-

ных земель по степени их устойчивости к засухам использована почвенно-гидрологическая константа – влажность разрыва капилляров и продолжительность дней вегетационного периода (апрель–май), в которых она отмечена. Так, к наиболее уязвимым к засухам отнесены почвы, которые с показателем ниже ВРК находятся более 130 дней, к сильноуязвимым – 91–130, среднеуязвимым – 50–90, слабоуязвимым – менее 50 дней. Установлено, что общая площадь наиболее и сильноуязвимых почв сельскохозяйственных земель к засухам составляет 393,2 тыс. га, или 30,8 %, среднеуязвимых – 844,2 тыс. га, или 29,2 %, для которых необходимы первоочередные меры по адаптации систем земледелия к проявлению засух. Впервые составлена серия цифровых разномасштабных карт уязвимости почв сельскохозяйственных земель на уровне региона Белорусского Полесья (масштаб 1 : 20 000), ключевых административных районов (масштаб 1 : 50 000), отдельных сельскохозяйственных организаций (масштаб 1 : 10 000). Установлено, что в 22 из 40 административных районов Белорусского Полесья почвы сельскохозяйственных земель находятся в зоне выраженного риска, обусловленного высокой вероятностью подверженности засухам и проявления на них засушливых явлений. Полученные результаты исследований нашли практическое применение при разработке мероприятий по смягчению влияния почвенных засух на сельскохозяйственное производство.

Список использованных источников

1. Логинов, В. Ф. Изменение климата Беларуси: причины, последствия, возможности регулирования. 2-е изд. доп. / В. Ф. Логинов, С. А. Лысенко, В. И. Мельник. – Минск, 2020. – 217 с.
2. Бровка, Ю. А. Изменение гидротермического коэффициента и повторяемости экстремальных условий увлажнения на территории Беларуси в период потепления климата / Ю. А. Бровка, И. В. Бужак // Природопользование. – 2020. – № 2. – С. 5–18.
3. Пространственно-временные изменения почвенных засух на территории Белорусского Полесья в условиях современного изменения климата / В. И. Мельник [и др.] // Природные ресурсы. – 2021. – № 1. – С. 15–21.
4. Вихров, В. И. Ретроспективные расчеты и пространственно-временная изменчивость сезонных показателей водного режима почв на территории Беларуси / В. И. Вихров. – Горки, 2019. – 176 с.
5. Почвы Республики Беларусь / под ред. В. В. Лапы. – Минск, 2019. – 632 с.
6. Романова, Т. А. Водный режим почв Беларуси / Т. А. Романова. – Минск, 2015. – 144 с.
7. Роде, А. А. Основы учения о почвенной влаге / А. А. Роде. – Л., 1965. – 242 с.
8. Вериго, С. А. Почвенная влага (применительно к сельскому и лесному хозяйству) / С. А. Вериго, Л. А. Разумова. – Л., 1973. – 328 с.
9. Реут, И. Б. Физика почв / И. Б. Реут. – М., 1972. – 368 с.
10. Муромцев, Н. М. Мелиоративная гидрофизика почв / Н. М. Муромцев. – Л., 1991. – 272 с.
11. Лихацевич, А. П. Оценка факторов, формирующих неустойчивую влагообеспеченность почв сельскохозяйственных культур в гумидной зоне / А. П. Лихацевич, Е. А. Стельмах. – Минск, 2002. – 212 с.
12. Долгов, С. И. Исследование подвижности почвенной влажности и ее доступности для растений / С. И. Долгов. – М., 1988. – 325 с.
13. Theoretical basis and practical significance of investigations into soil cover patterns / Т. А. Ramanava [et al.] // *Eurasian Soil Science*. – 2011. – Vol. 44, N 3. – P. 272–280. <https://doi.org/10.1134/s106422931101011x>
14. Данилович, И. С. Современные изменения климата Белорусского Полесья: причины, следствия, прогнозы / И. С. Данилович, В. И. Мельник, Б. Гейер // Журн. Белорусского гос. ун-та. География, геология. – 2020. – № 1. – С. 3–13. <https://doi.org/10.33581/2521-6740-2020-1-3-13>
15. Смагин, А. В. К термодинамической теории водоудерживающей способности и дисперсности почв / А. В. Смагин // Почвоведение. – 2018. – № 7. – С. 836–851.
16. Осушенные торфяные и дерготорфяные почвы в составе сельскохозяйственных земель Республики Беларусь / под ред. В. В. Лапы. – Минск, 2018. – 215 с.

References

1. Loginov V. F., Lysenko S. A., Melnik V. I. *Climate change in Belarus: causes, consequences, regulation possibilities*, 2nd ed. Minsk, 2020. 264 p. (in Russian).
2. Bровка Yu. A., Buyakov I. V. Changes in the hydrothermal coefficient and in the frequency of extreme humidifications conditions on the territory of Belarus during climate warming. *Prirodopol'zovanie* [Nature Management], 2020, no. 2, pp. 5–18 (in Russian).
3. Melnik V. I., Piskunovich N. G., Buyakov I. V., Yatsukhno V. M., Shumskaya T. G. The spatio-temporal pattern of soil droughts on the territory of the Belarusian Polesia in accordance with current climate change. *Prirodnye resursy = Natural Resources*, 2021, no. 1, pp. 15–21 (in Russian).

4. Vikhrov V. I. *Retrospective calculations and spatial and temporal variability of seasonal indicators of soil water regime in Belarus*. Gorki, 2019. 176 p. (in Russian).
5. Lapa V. V., ed. *Soils of Republic of Belarus*. Minsk, 2019. 632 p. (in Russian).
6. Romanova T. A. *Water regime of soils in Belarus*. Minsk, 2015. 144 p. (in Russian).
7. Rode A. A. *Fundamentals of the doctrine of soil moisture*. Leningrad, 1965. 245 p. (in Russian).
8. Verigo S. A., Razomova L. A. *Soil moisture (applicable to agriculture and forestry)*. Leningrad, 1973. 328 p. (in Russian).
9. Reut I. B. *Physics of soils*. Moscow, 1972. 368 p. (in Russian).
10. Muromtsev N. M. *Meliorative hydrophysics of soils*. Leningrad, 1991. 272 p. (in Russian).
11. Likhatchevich A. P., Stel'makh E. A. *Assessment of the factors that form the unstable moisture supply of soils of agricultural crops in the humid zone*. Minsk, 2002. 212 p. (in Russian).
12. Dolgov S. I. *Study of soil moisture mobility and its availability for plants*. Moscow, 1988. 325 p. (in Russian).
13. Romanova T. A., Chervan A. N., Andreeva V. L. Theoretical basis and practical significance of investigations into soil cover patterns. *Eurasian Soil Science*, 2011, vol. 44, no. 3, pp. 272–280. <https://doi.org/10.1134/s106422931101011x>
14. Danilovich I. S., Melnik V. I., Geyer B. The current climate changes of Belarusian Polesje region: factors, consequences, projections. *Journal of the Balarusian State University. Geography and Geology*, 2020, no. 1, pp. 3–13 (in Russian). <https://doi.org/10.33581/2521-6740-2020-1-3-13>
15. Smagin A. V. About thermodynamic theory of water retention capacity and dispersity of soils. *Eurasian Soil Science*, 2018, vol. 51, no. 7, pp. 782–796. <https://doi.org/10.1134/s1064229318070098>
16. Lapa V. V., ed. *Drained peat and degropeat soils in the composition of agricultural lands of the Republic of Belarus*. Minsk, 2018. 215 p. (in Russian).

Информация об авторах

Червань Александр Николаевич – канд. с.-х. наук, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 16, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: chervan@bsu.by.

Мельник Виктор Иванович – канд. географ. наук, ст. науч. сотрудник. Институт природопользования НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 10, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.melnik2016@mail.ru.

Яцухно Валентин Минович – канд. с.-х. наук, вед. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 16, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yatsukhno@bsu.by.

Information about authors

Chervan Aliaksandr M. – Ph. D. (Agrarian), Head of the Department. Belarusian State University (16, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: chervan@bsu.by.

Melnik Viktor I. – Ph. D. (Geography), Senior Researcher. Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus (10, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.melnik2016@mail.ru.

Yatsukhno Valyantyn M. – Ph. D. (Agrarian), Leading Researcher. Belarusian State University (16, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yatsukhno@bsu.by.

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

TECHICAL SCIENCES

УДК 544.478+544.227+615.281.9

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-454-459>

Поступило в редакцию 15.07.2021

Received 15.07.2021

Е. Б. Чубенко¹, А. В. Баглов^{1,4}, О. А. Емельянова², Н. В. Дудчик², Е. В. Дроздова², В. Е. Борисенко^{1,3}¹Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,
Минск, Республика Беларусь²Научно-практический центр гигиены, Минск, Республика Беларусь³Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Российская Федерация⁴Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь**ФОРМИРОВАНИЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА
ГРАФИТОПОДОБНОГО НИТРИДА УГЛЕРОДА**

(Представлено академиком В. А. Лабуновым)

Аннотация. Графитоподобный нитрид углерода ($g\text{-C}_3\text{N}_4$) синтезировали путем пиролиза тиокарбамида с последующей полимеризацией его продуктов при 500 °С. После измельчения синтезированного материала из него были приготовлены водные суспензии с концентрацией частиц 100–300 мкг/мл. Антибактериальная активность синтезированного материала в условиях облучения содержащей его суспензии излучением видимого диапазона светодиодного источника в течение 60–120 мин подтверждена на примере *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Ключевые слова: графитоподобный нитрид углерода, антибактериальная активность, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*

Для цитирования. Формирование и антибактериальные свойства графитоподобного нитрида углерода / Е. Б. Чубенко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 454–459. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-454-459>

**Eugene B. Chubenko¹, Aleksey V. Baglov^{1,4}, Olga A. Emeliyanova², Natalia V. Dudchik²,
Alena V. Drozdova², Victor E. Borisenko^{1,3}**¹Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, Republic of Belarus²Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Republic of Belarus³National Research Nuclear University “MEPhI”, Moscow, Russian Federation⁴Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus**FORMATION AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF GRAPHITIC CARBON NITRIDE**

(Communicated by Academician Vladimir A. Labunov)

Abstract. Graphitic carbon nitride ($g\text{-C}_3\text{N}_4$) was synthesized by pyrolysis of thiocarbamide and a subsequent polymerization of its products at 500 °C. After grinding the synthesized material, aqueous suspensions with the concentrations of the particles of 100–300 µg/ml were prepared from it. The antibacterial activity of the material under irradiation with the LED’s visible light for 60–120 min was confirmed for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: graphitic carbon nitride, antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

For citation. Chubenko E. B., Baglov A. V., Emeliyanova O. A., Dudchik N. V., Drozdova A. V., Borisenko V. E. Formation and antibacterial properties of graphitic carbon nitride. *Doklady Natsional’noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 454–459 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-454-459>

Введение. Графитоподобный нитрид углерода ($g\text{-C}_3\text{N}_4$) привлекает внимание исследователей сочетанием выраженных фотокаталитических и фотолюминесцентных свойств, перспективных для практического применения [1–4]. Сегодня конкурирующие с ним фотокаталитически активные материалы, такие как диоксид титана и оксид цинка, в наноструктурированном виде

широко применяются для фоторазложения органических загрязнителей воды и воздуха в условиях активации УФ-излучением ближнего диапазона (300–400 нм), что связано с достаточно большой шириной запрещенной зоны в этих полупроводниковых оксидах. Известно, что они демонстрируют и антибактериальную активность в отношении различных патогенных микроорганизмов через повреждение их мембран свободными радикалами, образующимися за счет взаимодействия фотогенерированных носителей заряда в материале с ионами и молекулами жидкой или газовой среды на границе раздела фаз.

Слоистая структура объемного $g\text{-C}_3\text{N}_4$ сходна с графитом, а его отдельные монослои по своей структуре близки к графену. В связи с этим можно ожидать схожего механизма воздействия $g\text{-C}_3\text{N}_4$ на патогенные микроорганизмы, когда антибактериальный эффект достигается как за счет физического, так и химического взаимодействия [5–8]. Непосредственный контакт наночастиц или отдельных монослоев $g\text{-C}_3\text{N}_4$ с мембраной микроорганизма, как и в случае графена, должен приводить к механическому повреждению последней и инактивации вследствие утечки внутриклеточного матрикса. Кроме того, окислительный стресс может повреждать ДНК и вызывать митохондриальную дисфункцию, что приводит к ингибированию размножения и роста бактерий [9; 10]. Однако такого рода антибактериальные свойства $g\text{-C}_3\text{N}_4$ остаются неизученными. В связи с этим целью нашей работы явилось исследование антибактериальной активности $g\text{-C}_3\text{N}_4$ в отношении кишечной палочки, золотистого стафилококка и синегнойной палочки.

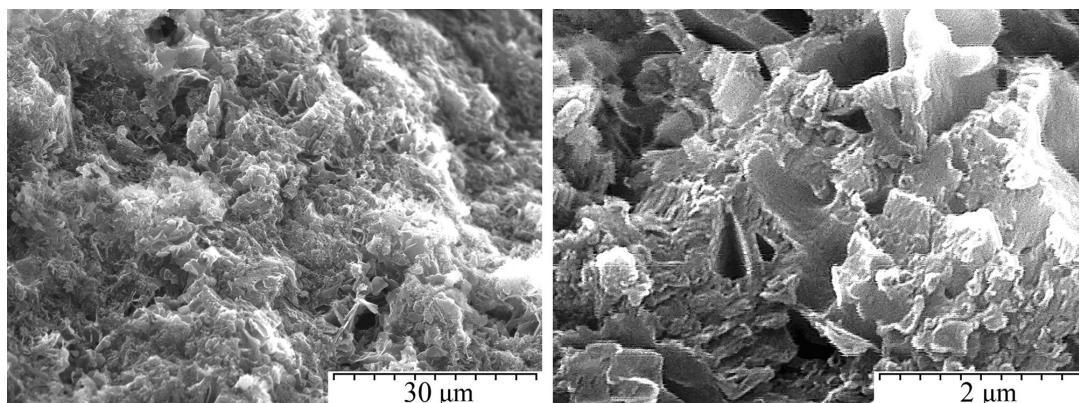
Материалы и методы исследования. Графитоподобный нитрид углерода синтезировали путем пиролизического разложения прекурсора – тиокарбамида, с последующей полимеризацией продуктов разложения в загерметизированном тигле при 500 °С в течение 30 мин, как детально описано в [11]. Исследование полученного материала методами рентгеновской дифракции и инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье подтверждает формирование $g\text{-C}_3\text{N}_4$ [11]. Морфологию полученного материала изучали с помощью растровой электронной микроскопии. Механически измельченный в ступке синтезированный материал смешивали с дистиллированной водой для получения суспензий с концентрациями частиц 25, 50, 100 и 300 мкг/мл. Эти суспензии использовали для оценки антибактериальной активности $g\text{-C}_3\text{N}_4$ в отношении тест-культур кишечной палочки *Escherichia coli* (*E. coli*), золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) и синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Выбранные штаммы микроорганизмов являются репрезентативными представителями различных групп микроорганизмов, отличающихся друг от друга по строению клеточной стенки и защитным механизмам. Все исходные тест-штаммы микроорганизмов обладали типичными морфологическими, культуральными и физиолого-биохимическими признаками, а также хорошими ростовыми свойствами.

Модельные эксперименты по оценке антибактериального эффекта проводили модифицированным суспензионным методом¹ [12]. Для этого суспензии из микроорганизмов в физиологическом растворе, предварительно выращенных в питательной среде на основе агара, разливали по 3 мл в стерильные чашки Петри диаметром 40 мм. Затем в часть из них добавляли по 300 мкл водной суспензии с $g\text{-C}_3\text{N}_4$, а в другую часть, выполняющую роль контрольных образцов, добавляли 300 мкл дистиллированной воды. Чашки Петри помещали на платформу перемешивающего устройства Loip LS 220 и устанавливали режим перемешивания 330 об/мин. Перемешивание исследуемых и контрольных суспензий осуществляли как под действием излучения видимого диапазона светодиодной лампы EL-PL10PW мощностью 10 Вт (цветовая температура 4000 К), так и без него.

Из суспензий микроорганизмов и частиц $g\text{-C}_3\text{N}_4$ при времени экспозиции, равном 0, 30, 60, 90 и 120 мин отбирали 100 мкл жидкости и делали высев поверхностным методом на плотную питательную среду. Также отбирали дополнительные 100 мкл жидкости и готовили 2 последовательных десятикратных разведения в 900 мкл физиологического раствора и высевали на поверхность среды. Посевы инкубировали при температуре 36 ± 1 °С в течение 48 ч. После инкубирования оценивали сформированные колонии и проводили подсчет колоний, имеющих типичные морфологические признаки [13]. Результаты учитывали по количеству сформированных колоний микроорганизмов с последующим пересчетом колониеобразующих единиц на 1 мл (КОЕ/мл).

¹ Инструкция по методам проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств: утв. гл. госуд. сан. врачом Респ. Беларусь 22.12.2003 (№ 11-20-204-2003). – Минск, 2003. – 41 с.

Результаты и их обсуждение. Морфология синтезированного материала до измельчения показана на рисунке. Термическая обработка тиокарбамида при 500 °С приводит к образованию спеченного материала, состоящего из произвольно ориентированных пластинок $g\text{-C}_3\text{N}_4$ толщиной от 100 до 300 нм, с пустотами сравнимого размера. Механическое измельчение приводит к расслоению материала до отдельных пластинок и мелких частиц из них, сохраняющих неоднородную структуру. Учитывая слоистую структуру $g\text{-C}_3\text{N}_4$, можно также ожидать отслоения тонких двумерных листов, особенно в жидкой среде после диспергирования.



Морфология $g\text{-C}_3\text{N}_4$, синтезированного при 500 °С, при различном увеличении
Morphology of the $g\text{-C}_3\text{N}_4$ synthesized at 500 °С, with different magnification

Оценку антимикробной эффективности водных суспензий $g\text{-C}_3\text{N}_4$ проводили по величине коэффициента ингибирования роста тест-культур микроорганизмов, который рассчитывали по формуле

$$I = \frac{A_0 - A_x}{A_0} 100,$$

где I – показатель ингибирования; A_0 – исходная микробная нагрузка; A_x – микробная нагрузка после экспозиции x минут в водной суспензии $g\text{-C}_3\text{N}_4$.

Были введены следующие критерии:

100 % $\geq I > 90$ % – выраженное антимикробное действие;

89 % $\geq I > 50$ % – среднее антимикробное действие;

49 % $\geq I > 30$ % – незначительное антимикробное действие;

$I \leq 30$ % – отсутствие антимикробного действия.

Результаты оценки антимикробного действия $g\text{-C}_3\text{N}_4$ при активации излучением представлены в таблице.

Как видно из данных, приведенных в таблице, концентрации частиц 25–50 мкг/мл, а также время обработки 30 мин оказались неэффективны для инактивации бактерий – только для штамма *S. aureus* отмечался незначительный антимикробный эффект, максимальное значение коэффициента I составляло 33,7 %. В ряду концентраций антимикробный эффект в отношении данного микроорганизма был установлен для суспензий $g\text{-C}_3\text{N}_4$ в концентрации 100 мкг/мл при времени экспозиции 60 мин и более при концентрации частиц 300 мкг/мл. В случае *P. aeruginosa* при данных условиях экспозиции отмечалось как среднее, так и выраженное антимикробное действие, значение коэффициента I колебалось от 45,2 до 95,0 %. Наименьшей восприимчивостью к антимикробному воздействию характеризовался грамотрицательный штамм *E. coli* ATCC 11229 – экспозиция с частицами концентрацией 300 мкг/мл в течение 120 мин приводила к гибели 62,5 % микробных клеток, незначительное антимикробное действие отмечалось только после 60 мин воздействия в максимальной концентрации.

Предложенная клеточная скрининговая тест-модель и критерии оценки антимикробной активности по интегральному показателю I позволили дать количественную и достоверную оценку

Антибактериальная активность графитоподобного нитрида углерода в водных суспензиях

Antibacterial activity of graphitic carbon nitride in water suspensions

Микроорганизм Microorganism	Концентрация наночастиц, кг/мл Concentration of nanoparticles, kg/ml	Коэффициент ингибирования роста тест-культур микроорганизмов (I), % Coefficient of growth inhibition of test cultures of microorganisms (I), %				
		0 мин 0 min	30 мин 30 min	60 мин 60 min	90 мин 90 min	120 мин 120 min
<i>P. aeruginosa</i>	25	0,0	0,0	7,1	2,4	4,8
	50		4,8	7,1	19,0	23,8
	100		4,8	45,2	59,5	81,2
	300		16,7	82,1	86,0	95,0
<i>E. coli</i>	25	0,0	15,6	0,0	6,2	0,0
	50		0,0	0,0	9,4	3,1
	100		3,1	6,2	12,5	18,7
	300		6,2	34,4	37,5	62,5
<i>S. aureus</i>	25	0,0	2,1	6,3	2,1	0,0
	50		1,1	3,2	7,4	16,8
	100		15,8	21,1	57,9	70,5
	300		33,7	49,5	89,5	92,5

использованных частиц, что в дальнейшем обеспечит отбор наиболее эффективных продуктов нанотехнологий [14].

Заключение. Показано, что водные суспензии на основе механически измельченного графитоподобного нитрида углерода в диапазоне концентраций частиц 100–300 мкг/мл, полученного путем пиролизного разложения тиокарбамида с последующей полимеризацией его продуктов при 500 °С, приводят к снижению концентрации выживших бактерий при экспонировании излучением видимого диапазона в течение 60–120 мин. Снижение количества КОЕ носит нелинейный характер и может объясняться комбинированным воздействием частиц $g-C_3N_4$ на микроорганизмы. Наибольшую активность продемонстрировали суспензии с концентрацией частиц 300 мкг/мл. Устойчивость *E. coli* к воздействию частиц оказалась выше, чем у *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Полученные результаты позволяют рекомендовать порошки графитоподобного нитрида углерода как опытные образцы для дальнейших углубленных исследований их антибактериальных свойств с целью оценки безопасности для здоровья человека при практическом использовании в системах фотокаталитической очистки воды и воздуха от патогенных и условно-патогенных бактерий.

Благодарности. Работа выполнена в рамках ГПНИ «Материаловедение, новые материалы и технологии», задание 1.4. Авторы выражают благодарность Д. В. Жигулину за анализ образцов методом растровой электронной микроскопии.

Acknowledgement. The work is supported by the SPSI “Materials science, new materials and technologies”, project 1.4. We are grateful to D. V. Zhygulin for analysis of the samples with scanning electron microscopy.

Список использованных источников

1. A review on $g-C_3N_4$ -based photocatalysts / J. Wen [et al.] // Applied Surface Science. – 2017. – Vol. 391, part B. – P. 72–123. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.07.030>
2. Das, D. Temperature-Dependent Photoluminescence of $g-C_3N_4$: Implication for Temperature Sensing / D. Das, S. L. Shinde, K. K. Nanda // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2016. – Vol. 8, N 3. – P. 2181–2186. <https://doi.org/10.1021/acsaami.5b10770>
3. Synthesis of Graphitic Carbon Nitride in Porous Silica Glass / E. B. Chubenko [et al.] // International Journal of Nanoscience. – 2019. – Vol. 18, N 03–04. – P. 1940042-1–1940042-4. <https://doi.org/10.1142/s0219581x19400428>
4. Recovery Behavior of the Luminescence Peak from Graphitic Carbon Nitride as a Function of the Synthesis Temperature / E. B. Chubenko [et al.] // Crystal Research and Technology. – 2020. – Vol. 55, N 3. – P. 1900163-1–1900163-6. <https://doi.org/10.1002/crat.201900163>
5. Akhavan, O. Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria / O. Akhavan, E. Ghaderi // ACS Nano. – 2010. – Vol. 4, N 10. – P. 5731–5736. <https://doi.org/10.1021/nn101390x>
6. Toxicology of graphene oxide nanosheets against paecilomycescatenulatus / X. Li [et al.] // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2015. – Vol. 95, N 1. – P. 25–30. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1499-3>

7. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: Membrane and oxidative stress / S. Liu [et al.] // *ACS Nano*. – 2011. – Vol. 5, N 9. – P. 6971–6980. <https://doi.org/10.1021/nn202451x>
8. Wang, X. Evaluation of antibacterial effects of carbon nanomaterials against copper-resistant *Ralstonia solanacearum* / X. Wang, X. Liu, H. Han // *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. – 2013. – Vol. 103. – P. 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.09.044>
9. Toxizität von Graphenoxid: Endoperoxide als Ursache / H. Pieper [et al.] // *Angew. Chem*. – 2016. – Vol. 128. – P. 413–416. <https://doi.org/10.1002/ange.201507070>
10. Graphene in the aquatic environment: Adsorption, dispersion, toxicity and transformation / J. Zhao [et al.] // *Environ. Sci. Technol*. – 2014. – Vol. 48, N 17. – P. 9995–10009. <https://doi.org/10.1021/es5022679>
11. Structural and Photoluminescence Properties of Graphite-Like Carbon Nitride / A. V. Baglov [et al.] // *Semiconductors*. – 2020. – Vol. 54, N 2. – P. 228–232. <https://doi.org/10.1134/s1063782620020049>
12. Дудчик, Н. В. Прокариотические тест-модели для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов окружающей среды / Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков // *Современные методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования факторов окружающей среды, влияющих на здоровье человека, 15–16 дек. 2016 г.: материалы конф. / Науч. совет РФ по экологии человека и гигиене окружающей среды; редкол.: Ю. А. Ракманин (гл. ред.) [и др.]*. – М., 2016. – С. 187–189.
13. McLean, D. T. IQ-motif peptides as novel anti-microbial agents / D. T. McLean, F. T. Lundy, D. J. Timson // *Biochimie*. – 2013. – Vol. 95, N 4. – P. 875–880. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.12.004>
14. Дудчик, Н. В. Изучение свойств консорциума почвенных микроорганизмов как тест-объектов для оценки интегральной токсичности / Н. В. Дудчик // *Гигиена и санитария*. – 2012. – Т. 91, № 5. – С. 82–84.

References

1. Wen J., Xie J., Chen X., Li X. A review on $g\text{-C}_3\text{N}_4$ -based photocatalysts. *Applied Surface Science*, 2017, vol. 391, part B, pp. 72–123. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.07.030>
2. Das D., Shinde S. L., Nanda K. K. Temperature-Dependent Photoluminescence of $g\text{-C}_3\text{N}_4$: Implication for Temperature Sensing. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2016, vol. 8, no. 3, pp. 2181–2186. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b10770>
3. Chubenko E. B., Baglov A. V., Lisimova E. S., Borisenko V. E. Synthesis of Graphitic Carbon Nitride in Porous Silica Glass. *International Journal of Nanoscience*, 2019, vol. 18, no. 03–04, pp. 1940042-1–1940042-4. <https://doi.org/10.1142/s0219581x19400428>
4. Chubenko E. B., Denisov N. M., Baglov A. V., Bondarenko V. P., Uglov V. V., Borisenko V. E. Recovery Behavior of the Luminescence Peak from Graphitic Carbon Nitride as a Function of the Synthesis Temperature. *Crystal Research and Technology*, 2020, vol. 55, no. 3, pp. 1900163-1–1900163-6. <https://doi.org/10.1002/crat.201900163>
5. Akhavan O., Ghaderi E. Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria. *ACS Nano*, 2010, vol. 4, no. 10, pp. 5731–5736. <https://doi.org/10.1021/nn101390x>
6. Li X., Li F., Gao Z., Fang L. Toxicology of graphene oxide nanosheets against *Paecilomyces catenulannulus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, vol. 95, no. 1, pp. 25–30. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1499-3>
7. Liu S., Zeng T. H., Hofmann M., Burcombe E., Wei J., Jiang R., Kong J., Chen Y. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: Membrane and oxidative stress. *ACS Nano*, 2011, vol. 5, no. 9, pp. 6971–6980. <https://doi.org/10.1021/nn202451x>
8. Wang X., Liu X., Han H. Evaluation of antibacterial effects of carbon nanomaterials against copper-resistant *Ralstonia solanacearum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, vol. 103, pp. 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.09.044>
9. Pieper H., Chercheja S., Eigler S., Halbig C. E., Filipovic M. R., Mokhir A. Toxizität von Graphenoxid: Endoperoxide als Ursache. *Angewandte Chemie*, 2016, vol. 128, no. 1, pp. 413–416. <https://doi.org/10.1002/ange.201507070>
10. Zhao J., Wang Z., White J. C., Xing B. Graphene in the aquatic environment: Adsorption, dispersion, toxicity and transformation. *Environmental Science and Technology*, 2014, vol. 48, no. 17, pp. 9995–10009. <https://doi.org/10.1021/es5022679>
11. Baglov A. V., Chubenko E. B., Hnitsko A. A., Borisenko V. E., Malashevich A. A., Uglov V. V. Structural and Photoluminescence Properties of Graphite-Like Carbon Nitride. *Semiconductors*, 2020, vol. 54, no. 2, pp. 228–232. <https://doi.org/10.1134/s1063782620020049>
12. Dudchik N. V., Shevlyakov V. V. Prokaryotic test models for assessing the biological effect and hygienic regulation of environmental factors. *Sovremennye metodologicheskie problemy izucheniya, otsenki i reglamentirovaniya faktorov okruzhayushchei sredy, vliyayushchikh na zdorov'e cheloveka, 15–16 dekabrya 2016 g.: materialy konferencii / Nauch. sovet RF po ekologii cheloveka i gigiyene okruzhayushchei sredy; redkol.: Yu. A. Rakhmanin, glavnyi redaktor* [Rakhmanin Yu. A., ed. Modern methodological problems of the study, assessment and regulation of environmental factors affecting human health, December 15–16, 2016: materials conference]. Moscow, 2016, pp. 187–189 (in Russian).
13. McLean D. T., Lundy F. T., Timson D. J. IQ-motif peptides as novel anti-microbial agents. *Biochimie*, 2013, vol. 95, no. 4, pp. 875–880. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.12.004>
14. Dudchik N. V. Investigation of the properties of the soil microbial consortium as a test objects for estimation of integral toxicity. *Gigiyena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation], 2012, vol. 91, no. 5, pp. 82–84 (in Russian).

Информация об авторах

Чубенко Евгений Борисович – канд. техн. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники (ул. П. Бровки, 6, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: eugene.chubenko@bsuir.by.

Баглов Алексей Викторович – науч. сотрудник. Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники (ул. П. Бровки, 6, 220013, Минск, Республика Беларусь); науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр-т Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: baglov@bsuir.by.

Емельянова Ольга Андреевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. НПЦ гигиены Министерства здравоохранения Республики Беларусь (ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lee616@ya.ru.

Дудчик Наталья Владимировна – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. НПЦ гигиены Министерства здравоохранения Республики Беларусь (ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n_dudchik@tut.by.

Дроздова Елена Валентиновна – канд. мед. наук, доцент, заместитель директора по научной работе. НПЦ гигиены Министерства здравоохранения Республики Беларусь (ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: drozdovaev@mail.ru.

Борисенко Виктор Евгеньевич – д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники (ул. П. Бровки, 6, 220013, Минск, Республика Беларусь); приглашенный профессор. Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (Каширское шоссе, 31, 115409, Москва, Российская Федерация). E-mail: borisenko@bsuir.by.

Information about the authors

Chubenko Eugene B. – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Leading Researcher. Belarusian State University Informatics and Radioelectronics (6, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: eugene.chubenko@bsuir.by.

Baglov Aleksey V. – Researcher. Belarusian State University Informatics and Radioelectronics (6, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); Researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: baglov@bsuir.by.

Emeljanova Olga A. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Scientific Practical Center of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lee616@ya.ru.

Dudchik Natalia V. – D. Sc. (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory. Scientific Practical Center of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n_dudchik@tut.by.

Drazdova Alena V. – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Vice director. Scientific Practical Center of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drozdovaev@mail.ru.

Borisenko Victor E. – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Department. Belarusian State University Informatics and Radioelectronics (6, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); Invited Professor. National Research Nuclear University «MEPhI» (31, Kashirskoe Shosse, 115409, Moscow, Russian Federation). E-mail: borisenko@bsuir.by.

АГРАРНЫЕ НАУКИ**AGRARIAN SCIENCES**

УДК 636.237.23.082(476)

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-460-472>

Поступило в редакцию 24.06.2022

Received 24.06.2022

**Академик В. Г. Гусаков¹, академик И. П. Шейко²,
член-корреспондент В. Н. Тимошенко², Д. М. Богданович², Н. В. Климец², Н. И. Песоцкий²,
И. Н. Коронец², А. А. Музыка², В. Н. Рогач², Р. В. Березовик³**

¹Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству,
Жодино, Республика Беларусь

³Белорусское государственное объединение по племенному животноводству «Беллемживобъединение»,
Минск, Республика Беларусь

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОГРАММЫ РАЗВЕДЕНИЯ КРАСНОГО МОЛОЧНОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Аннотация. В странах с развитым молочным скотоводством в настоящее время рассматривается вопрос о возрастающей роли разведения и селекции скота красных молочных пород в производстве высококачественного молока-сырья. Разработанная на основе полученных данных программа целенаправленной селекционной работы с красными молочными породами определяет основные направления создания отечественной породы красного молочного скота как для чистопородного разведения, так и получения кроссированных животных, сочетающих высокую молочную продуктивность, хорошие воспроизводительные качества, продуктивное долголетие, а также высокие качественные показатели молока. Создание отечественной породы этого скота с генотипом по бета-казеину A2A2 позволит получать молоко, имеющее существенные отличительные свойства, используемое как антиаллергенное, более легко усвояемое в организме людьми пожилого возраста и максимально пригодное для детского питания. Экономический эффект от использования животных красной молочной породы обеспечивается за счет производства молока с содержанием жира не менее 4,0 % и белка не менее 3,4 %. Животные красных молочных пород характеризовались более низким содержанием соматических клеток в молоке (200 тыс/мл). Доля тяжелых отелов у них составляет ниже на 16 % по сравнению с чистопородными коровами голштинской породы. Непроизводительное выбытие первотелок из стада сократится на не менее чем 8,5 %.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, красная молочная порода, селекция, бета-казеин A2A2

Для цитирования. Научное обоснование программы разведения красного молочного скота в Республике Беларусь / В. Г. Гусаков [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 460–472. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-460-472>

Academician Vladimir G. Gusakov¹, Academician Ivan P. Sheiko²,

**Corresponding Member Uladzimir N. Tsimoshanka², Dzmitry M. Bagdanovich², Natalia V. Klimets²,
Nikolai I. Pesotski², Ivan N. Koronets², Andrei A. Muzyka², Victoria N. Rogach², Ruslan V. Berezovik³**

¹Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding,
Zhodino, Republic of Belarus

³Belarusian State Association of Livestock Breeding “Belplemzhivobedinenie”, Minsk, Republic of Belarus

SCIENTIFIC JUSTIFICATION OF THE BREEDING PROGRAM OF RED DAIRY CATTLE IN THE REPUBLIC OF BELARUS

Abstract. A scientific substantiation of the main directions of the program for creating a domestic breed of red dairy cattle has been developed, which provides for pure breeding and various cross-breeding options to obtain high-producing animals with good reproductive performance and productive longevity.

Keywords: cattle, red dairy breed, breeding, beta-casein A2A2

For citation. Gusakov V. G., Sheiko I. P., Tsimoshanka U. N., Bagdanovich D. M., Klimets N. V., Pesotski N. I., Koronets I. N., Muzyka A. A., Rogach V. N., Beresovik R. V. Scientific justification of the breeding program of red dairy cattle in the Republic of Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 460–472 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-460-472>

Введение. Среди пород молочного направления продуктивности первое место практически во всех странах мира занимает голштинская порода. Генетический потенциал молочной продуктивности этой породы превышает 10 тыс. кг молока за 305 дней лактации. Наряду с высокой молочной продуктивностью эта порода характеризуется крупным размером туловища и угловатостью форм экстерьера. Все эти показатели имеют отрицательную корреляцию с воспроизводительными качествами, здоровьем и продуктивным долголетием скота. Попытки селекции по указанным признакам не увенчались ожидаемым успехом по причине их низкой наследуемости, а также их отрицательной связи с признаками молочной продуктивности.

Использование геномной селекции в странах с развитым молочным скотоводством за последние 10 лет значительно ускорило ежегодное увеличение среднего инбридинга маточного поголовья главным образом потому, что интервал между поколениями сократился вдвое. Например, средний коэффициент инбридинга для маточного поголовья США, родившегося в начале 2019 г., вырос до 8,02 %. Особенно опасное ускорение принял инбридинг в последние 4 года: +0,35 % ежегодно. Такая ситуация с родственным разведением в молочном скотоводстве может приводить к гибели эмбрионов на ранних стадиях развития, низкой устойчивости к заболеваниям и увеличению непроизводительного выбытия скота из стада [1].

В странах с развитым молочным скотоводством в настоящее время рассматривается вопрос о возрастающей роли разведения и селекции скота красных молочных пород в производстве высококачественного молока-сырья. Это обусловлено тем, что в племенной работе с популяциями скота красных молочных пород наряду с молочной продуктивностью особое внимание всегда уделялось содержанию белка в молоке, показателям воспроизводства, здоровья и продуктивному долголетию [2].

В Беларуси целенаправленная племенная работа с отечественной популяцией красного скота проводилась со второй половины XIX в. по двум главным направлениям: внутривидовое разведение и прилитие крови родственных пород (ангельнская, красная датская, красная польская и др.). В 1911 г. в Гродненской губернии была издана первая племенная книга красного белорусского скота, запись в которую проводилась на ежегодных выводках лучших животных.

С целью улучшения работы по разведению красного белорусского скота в ряде уездов Гродненской и Минской губерний в 1913–1914 гг. были созданы контрольные союзы, которые через контроль-ассистентов вели учет использования быков-производителей, контролировали удой и кормление коров, мечение, выращивание и развитие телят.

В 20–30-е годы XX в. красный белорусский скот разводился на всей территории современной Беларуси, а в западных и центральных районах его численность составляла 36–48 % от общего поголовья молочного скота [3].

Центром племенной работы по совершенствованию красного белорусского скота в западных областях Беларуси была Свислочская опытная станция, организованная в 1927 г., а в послевоенный период (с 1947 г.) вновь организованная Васишишковская опытная станция животноводства. В 1954 г. средняя продуктивность коров ($n = 55$) этого стада составила 3680 кг молока жирностью 4,0 %. Молочная продуктивность лучших коров достигла 5–5,2 тыс. кг молока жирностью 4,8–5,1 % за 305 дней лактации.

В 1960 г. в Беларуси в результате многолетней селекционной работы в колхозах, совхозах и хозяйствах колхозников создана и официально утверждена качественно новая породная группа красного белорусского скота молочного направления, поголовье которой превысило 30 тыс. В лучших хозяйствах годовые удои коров достигали 3,7–4,0 тыс. кг молока жирностью 4,0 % и более, средняя живая масса коров составляла 500–550 кг [4].

К середине 1970-х годов в мире произошло резкое уменьшение численности локальных пород с.-х. животных, обладающих целым рядом ценных хозяйственно полезных качеств, но не отличающихся высокой продуктивностью. Исчезло около 30 пород крупного рогатого скота.

В этот же период начался процесс резкого сокращения и породной группы красного белорусского скота, которая наряду с другими 12 аборигенными породами стран бывшего СССР оказалась на грани исчезновения.

В начале 2000-х годов на государственном уровне было принято решение о сохранении генофонда и создании стада красного белорусского скота на базе УСП «Новый Двор-Агро» Свислочского р-на Гродненской обл. [5].

В настоящее время научными сотрудниками РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» разработана система заказных спариваний быков красного белорусского скота и родственных ему групп. Изучена генеалогическая структура маточного поголовья красного белорусского скота, представленная потомками выдающихся быков-производителей импортной селекции, которые аккумулировали в себе лучшие качества скота следующих красных молочных пород: датской, англеской, айширской, шведской и норвежской.

В результате проведенной научно-исследовательской работы в 2020 г. сформирована популяция красного белорусского скота в количестве 260 голов, в том числе 106 коров со средними показателями продуктивности за 305 дней наивысшей лактации: удой – 6236 кг с содержанием жира 4,29 %, белка – 3,52 % [6]. По состоянию на январь 2022 г. средняя продуктивность данной популяции за 305 дней последней законченной лактации составила: удой – 7011 кг с содержанием жира 4,36 %, белка – 3,46 %.

Молоко от коров красного белорусского скота более ценное по белковомолочности и качеству белка, количеству кальция, что способствует большему выходу сыра за счет повышенной концентрации каппа-казеина с аллелями АВ, ВВ, а повышенное содержание лактозы улучшает вкусовые качества продукции. Установлено, что для производства 1 кг сыра из молока коров красного белорусского скота необходимо 7,5 кг молока, коров черно-пестрой породы – 9,0 кг. Поэтому для сыроделия рекомендуется разведение коров красных и красно-пестрых пород, дающих молоко с содержанием белка 3,2–3,5 % и выше, а также большим диаметром и массой казеиновых мицелл, и количеством кальция – 123–135 мг% и более, для сравнения: содержание белка в молоке черно-пестрого скота составляет 3,03–3,35 %, количество кальция – 117 мг%. Химический состав молочного жира коров красных пород отличается более высоким содержанием олеиновой и полиненасыщенных жирных кислот в молочном жире, что повышает его биологическую ценность и позволяет получать масло более высокого качества [7; 8].

Цель работы – разработка научно обоснованной программы разведения молочного скота красной породы, адаптированной к промышленной технологии производства молока в Республике Беларусь.

Материалы и методы исследований. Объектом исследований были чистопородные быки-производители и коровы-первотелки голштинской, красных молочных пород в ГП «Жодино-АгроПлемЭлита» Смолевичского р-на Минской обл. Данное сельскохозяйственное предприятие является базовым племенным хозяйством по разведению скота молочных пород. Ежегодно в расчете на 1 корову за год здесь заготавливается 50–60 ц к. е., доля концентратов в годовом рационе составляет 28–36 %. Условия выращивания и ветеринарного ухода за изучаемым поголовьем соответствуют действующим в Республике Беларусь регламентам производства молока и говядины.

Для обоснования системы разведения молочного скота, адаптированной к промышленной технологии, изучен опыт работы в этом направлении в странах с развитым молочным скотоводством. Для выполнения этой части работы использована информация научно-теоретических и научно-практических сайтов: The American Dairy Science Association®, Journal of Dairy Science® (JDS), Geno Global LTD, Nordic Cattle Genetic Evaluation © 2019, Big Bear Genetics LTD и др.

При изучении генеалогической структуры молочного скота черно-пестрой и красных молочных пород учитывали его принадлежность к определенной отцовской генеалогической линии. При разработке планов индивидуального закрепления использовался как внутрелинейный подбор, так и подбор кросс линий.

Племенная ценность быков красных молочных пород изучена на основании официальной ежеквартальной информации, опубликованной на сайтах системы Интербул: VIKINGGENETICS и GENO GLOBAL.

Количество надоенного молока определялось путем проведения контрольного доения подопытных коров путем измерения разовых объемов молока на весах с пределом взвешивания 20 кг и с погрешностью взвешивания не более 0,2 кг, измерения молокомером или учета приборами типа «Милкоскоп» индивидуально от каждой коровы не реже одного раза в месяц за полный день лактации. В день контроля применены такие же методы доения и режимы работы, как и в другие дни. Первый контрольный удой проведен не ранее 6 и не позднее 60 дней после отела или аборта животного. Первым днем контрольного периода (начала лактации) считается второй день после отела коровы, последним днем контрольного периода (последний день лактации) считается первый день одноразового доения при запуске.

Количество молока в день контроля определяли суммированием разовых удоев. При измерении удоев объемным способом в литрах (молокомером) переводили его в килограммы путем умножения количества литров на коэффициент 1,03 (средняя плотность молока).

Качественные показатели сборного молока коров разных пород проводили в аккредитованной производственно-испытательной лаборатории Института мясо-молочной промышленности НПЦ НАН Беларуси по продовольствию.

Качественные показатели молока контрольных доек проведены в аккредитованной молочной лаборатории РУСП «Минское племпредприятие» на оборудовании датской компании FOSS Analytical и голландской Delta Instrumental.

Оценка животных разных генотипов по продуктивным, воспроизводительным качествам осуществлялась в соответствии с «Зоотехническими правилами о порядке определения продуктивности племенных животных, племенных стад, оценки фенотипических и генотипических признаков племенных животных», утвержденными постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 3 сентября 2013 г. № 44 [9].

Биометрическая обработка цифрового материала, полученного в экспериментальных исследованиях, проводилась по методике П. Ф. Рокицкого [10] с использованием ЭВМ.

Результаты и их обсуждение. В целях исключения вероятности наличия наследственных аномалий у животных, планируемых для формирования чистопородного стада красного молочного скота и используемых для получения помесей, проведена оценка носительства генов в молочном скотоводстве в скандинавских странах (табл. 1). Установлено носительство 13 рецессивных генов у красных молочных пород и 5 общих для всех пород молочного скота.

Т а б л и ц а 1. Носительство наследственных аномалий у красных пород молочного скота
T a b l e 1. Carriage of hereditary anomalies in red breeds of dairy cattle

Генетическая аномалия Genetic anomaly	Аллель наследственных аномалий Allele of hereditary anomalies		
	отсутствует not available	один one	два two
Спинальная демиелинизация	SDF	SDC	SDS
Триметиламинурия	FMF	FMC	FMS
Синдром Уивера	WEF	WEC	WES
Спинальная мышечная атрофия	SMF	SMC	SMS
Врожденный множественный артрогрипоз	A2F	A2C	(A2S)
PIRM (AH1)	PIF	PIC	(PIS)
Айрширский гаплотип 2 (AH2)	AH2F	AH2C	(AH2S)
Гаплотипы автосомы 12	B12F	B12C	(B12S)
Гаплотипы автосомы 23	B23F	B23C	(B23S)
Дефект хвоста сперматозоида (TSD)	TSDF	TSDC	TSDS
Хондродисплазия рецессивная	B4F	B4C	B4S

На основании анализа данных о количестве аллелей наследственных аномалий определены дополнительные требования к документам, удостоверяющим происхождение быков-производителей, от которых получена используемая в экспериментах сперма, предписывающие обязательное наличие в генетическом паспорте ДНК-маркеров или групп крови животного и предков.

С учетом планируемого создания племенного «Нуклеуса» по разведению высокоценных животных красных молочных пород к потенциальным быкам-производителям также сформулированы следующие требования: комплексный индекс племенной ценности GLPI не ниже 2850 единиц значения соответственно; GTPI не ниже 2150 единиц значения соответственно; GRZG не ниже 120 единиц значения соответственно; GNM не ниже 20 единиц значения соответственно; HGI не ниже 1000 единиц значения соответственно; GNTM не ниже 110 единиц значения соответственно в пересчете на индексы Республики Беларусь.

Удой матери определен на уровне не менее 10000 кг молока жирностью 3,6 % и выше, содержанием белка 3,1 % и выше (либо в пересчете по выходу жира, белка, кг), или геномная оценка с индексом не ниже 120 единиц. Содержание протеина в молоке дочерей и матери должно быть указано в Crude Protein (True Protein +0,19 %).

Проведен анализ показателей молочной продуктивности коров красных молочных пород, разводимых в разных странах мира (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Показатели молочной продуктивности коров красных молочных пород

T a b l e 2. Indicators of milk productivity of red dairy cows

Порода Breed	Учетные дни Accounting days	Удой, кг Milk yield, kg	Жир, % Fat, %	Белок, % Protein, %
Красная датская	365	9621	4,34	3,62
Айширская	305	8730	4,31	3,49
Норвежская красная	305	7486	4,25	3,42
Красная шведская	365	9153	4,36	3,62
Красная эстонская	305	8776	4,01	3,41

Данные табл. 2 свидетельствуют, что коровы изученных красных молочных пород отличаются высокими показателями удоя, содержания жира и белка и могут быть использованы в системе разведения молочного скота.

По результатам оценки племенной ценности быков-производителей объединенной популяции красного скандинавского скота VikingRed в 2020 г. для использования в Республике Беларусь предварительно отобрано 11 производителей с наиболее сбалансированной оценкой по 90 показателям, основными из которых являются: продуктивность, воспроизводство, экстерьер и здоровье (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Комплексная оценка быков-производителей объединенной популяции красного скандинавского скота

T a b l e 3. Comprehensive assessment of bulls-producers of the combined population of red Scandinavian cattle

Бык-производитель Stud bull		Значение комплексного индекса NTM The value of the complex NTM index	Отец быка-производителя The father of the sire		Особенности замороженной спермы Features of frozen sperm
Кличка и номер Nickname and number	Дата рождения Date of Birth		Кличка и номер Nickname and number	Дата рождения Date of Birth	
VR Thiago 37535	01.10.2013	35	VR Tuomi 46003	28.09.2010	Разделенная по полу
VR Violin 99891	30.10.2017	29	VR Viljar 47674	15.01.2016	Разделенная по полу
VR Usva 48089	02.05.2018	30	VR Utu 47730	16.04.2016	Разделенная по полу
VR Vilperi 48035	10.12.2017	30	VR Viljar 47674	15.01.2016	Разделенная по полу
VR Vimo 38094	12.12.2017	30	VR Viljar 47674	15.01.2016	Разделенная по полу
VR Vario 48180	16.07.2018	31	VR Viljar 47674	15.01.2016	–
VR Farnam 38142	29.06.2018	29	VR Filur 37887	17.03.2016	Разделенная по полу
VR Azer 38091	27.12.2017	28	VR Abraham 37850	28.12.2015	–
VR Futari 47607	19.09.2015	26	VR Faabeli 46980	04.06.2013	–
VR Hello 48128	01.07.2018	24	VR Hashtag 47818	04.09.2016	Разделенная по полу
VR Vigil P 38100	22.02.2018	22	VR Viktor 37888	30.03.2016	Разделенная по полу

Генерационный интервал между отцами и сыновьями по отобраным быкам производителям объединенной популяции красного скандинавского скота VikingRed составил 2,13 года, по быкам норвежской селекции – 4,1 года. Такие различия в генерационном интервале объясняются большим количеством в Норвегии быков-производителей, оцененных классическим методом по качеству потомства в отличие от объединенной популяции красного скандинавского скота VikingRed, где широко применяется ускоренный метод геномной оценки племенной ценности.

Использование опыта ускоренной оценки племенной ценности быков-производителей в объединенной популяции красного скандинавского скота VikingRed и самих животных указанного происхождения позволит ускорить получение отечественной племенной продукции, сочетающей в себе ценные генотипы по воспроизводительным качествам, здоровью, продолжительности хозяйственного использования и темпераменту с носительством желательных аллелей каппа-казеина и бета-казеина молока и комолости.

Для дальнейшего разведения завезенных нетелей красных молочных пород в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» все поголовье было распределено на 3 генеалогические группы (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Характеристика быков красных молочных пород, закрепленных за маточным поголовьем в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита»

T a b l e 4. Characteristics of bulls of red dairy breeds assigned to the breeding stock in the State Enterprise “ZhodinoAgroPlemElita”

Кличка и номер быка-производителя Name and number of the sire	Продуктивность матери по наивысшей лактации Maternal productivity by highest lactation			Индекс племенной ценности NTM Breeding value index NTM	Генеалогическая группа Genealogical group
	удой, кг milk yield, kg	жир, % fat, %	белок, % protein, %		
Fanof P 38050	11166	4,19	3,73	32	A
Filur 37887	13583	4,80	3,64	25	A
Usva 48089	–	–	–	30	A
Wild 38049	9735	4,49	3,90	31	B
Hans 38169	–	–	–	28	B
Vario 48180	–	–	–	31	C
Vilperi 48035	7387	5,1	4,0	30	C

Для осеменения коров данных генеалогических групп подобраны семь быков-производителей VikingRed. Схема закрепления быков-производителей за чистопородным маточным поголовьем представлена в табл. 5.

Т а б л и ц а 5. Схема закрепления быков-производителей за чистопородным маточным поголовьем VikingRed

T a b l e 5. Scheme of securing breeding bulls for pure-bred breeding stock VikingRed

Генеалогический комплекс Genealogical complex	Кличка и номер родоначальника родственных групп Name and number of the ancestor of related groups	Количество коров Number of cows	Кличка и номер закрепленных быков-производителей Name and number of assigned sires
A	Facet 36324	25	Usva 48089/750965
	Mainio 36455	7	Fanof P 38050/750962
	Foske 92483	38	Filur 37887/750963
B	Brolin 91804	26	Hans 38169/750966 Wild 38049/750965
	Haslev 36558	60	
	Leroy 92912	52	
	Haltia 46691	6	
C	I Elvebakken 3633	1	Vario 48180/750961 Vilperi 48035/75 0960
	Lento 19120	3	
	R Alfa 37780	2	
	Sorby 1716	5	
	Stensio 93319	41	
	N.Ynnä 33066	34	

Для осеменения маточного поголовья генеалогического комплекса А подобраны три производителя:

VR Usva 48089/750965 (продуктивность матери: удой 9857 кг молока с содержанием жира 4,8 % и белка 3,8 %. Племенная ценность производителя составляет: по выходу молочного жира 119 %, молочного белка 113 %, эффективности конверсии корма 114 %, легкости отела по отцу 107 %, продолжительности хозяйственного использования 109 %. Генотип по β -казеину A2A2 и каппа-казеину AA. Бык используется для получения спермы, разделенной по полу);

Fanof P 38050/750962 (продуктивность матери: удой 11166 кг молока с содержанием жира 4,12 % и белка 3,73 %. Племенная ценность производителя составляет: по выходу молочного жира 109 %, молочного белка 114 %, эффективности конверсии корма 107 %, легкости отела по отцу 110 %, продолжительности хозяйственного использования 117 %. Генотип по β -казеину A2A2, каппа-казеину AB);

Filur 37887/750963 (продуктивность матери: удой 13583 кг молока с содержанием жира 4,8 % и белка 3,64 %. Племенная ценность производителя составляет: по выходу молочного жира 125 %, молочного белка 112 %, легкости отела по отцу 106 %, продолжительности хозяйственного использования 112 %, выживаемости молодняка 111 %. Генотип производителя по β -казеину A2A2, каппа-казеину BB).

В генеалогическом комплексе В использованы быки:

Hans 38169/750966 (продуктивность матери: 71415 кг молока с содержанием жира 4,73 % и белка 3,65 %. Племенная ценность производителя составляет: по выходу молочного жира 118 %, молочного белка 108 %, продолжительности хозяйственного использования 116 % и стрессоустойчивости 107 %. Генотип быка по β -казеину A2A2, каппа-казеину AA);

Wild 38049/750965 (продуктивность матери: удой 9735 кг молока с содержанием жира 4,49 % и белка 3,9 %. Согласно данным геномной оценки производитель является улучшателем по выходу молочного жира, молочного белка, легкости отела по отцу, продолжительности хозяйственного использования и скорости молокоотдачи. Генотип быка по β -казеину A2A2, каппа-казеину AB).

Для осеменения маточного поголовья генеалогического комплекса С подобраны два производителя:

Vario 48180/750961 (матерью быка является племенная первотелка Vanha-Uotilan Nätti FI000011902402-9, у которой при геномной оценке индекс племенной ценности NTM составил 24 единицы. Согласно данным геномной оценки производитель является улучшателем по выходу молочного жира, молочного белка, легкости отела по матери, продолжительности хозяйственного использования и скорости молокоотдачи. Генотип быка по β -казеину A2A2, каппа-казеину AB);

Vilperi 48035/750960 (продуктивность матери: удой 7387 кг молока с содержанием жира 5,1 % и белка 4,0 %. Согласно данным геномной оценки производитель является улучшателем по выходу молочного жира, молочного белка, легкости отела по матери и продолжительности хозяйственного использования. Генотип быка по β -казеину A2A2, каппа-казеину AB. Производитель подходит для укрепления общего здоровья и копыт, приспособленности к роботизированному доению, повышению воспроизводительных качеств и для экологического молочного скотоводства).

Таким образом, все отобранные производители характеризуются высокой племенной ценностью по основным хозяйственно полезным признакам, пригодны для ускоренного создания стад маточного поголовья и являются свободными от генетических мутаций, характерных для красного молочного скота.

Проведен анализ показателей молочной продуктивности 289 голов импортных первотелок красных молочных пород и 312 голов чистопородных сверстниц голштинской породы отечественной селекции за первые 305 дней лактации. Отелы подопытных животных проходили в период с 18 мая по 1 декабря 2020 г. (рис. 1).

Установлено, максимальный раздой завезенных из Дании первотелок был достигнут на втором месяце лактации и составил 697 кг, первотелок голштинской породы отечественной селекции – также на втором месяце лактации и составил 819 кг молока. Первотелки красных молочных пород несколько уступают по уровню удоев сверстницам голштинской породы, но характеризуются большей устойчивостью лактации. Всего за 305 дней первой лактации от первотелок красных

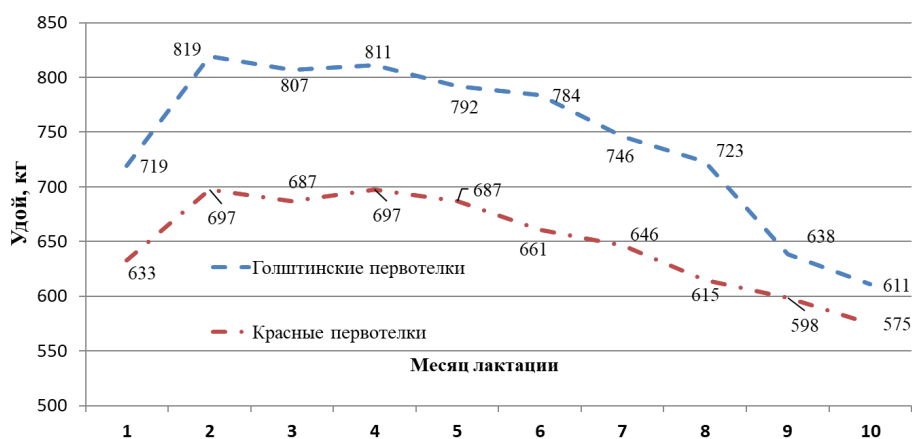


Рис. 1. Динамика показателей удоя за 305 дней лактации коров-первотелок различных генотипов

Fig. 1. Dynamics of milk yield indicators for 305 days of lactation of first-calf cows of various gene types

молочных пород получено 6496 кг молока, что на 955 кг меньше, чем от их сверстниц голштинской породы. Первотелки красных молочных пород характеризовались большим показателем индекса постоянства лактации (93 %) по сравнению со сверстницами голштинской породы (90 %).

По содержанию жира в молоке импортные первотелки превосходили своих сверстниц. Разница между животными разных генотипов на протяжении всей лактации составила 0,37–0,75 % в пользу красных молочных первотелок (рис. 2).

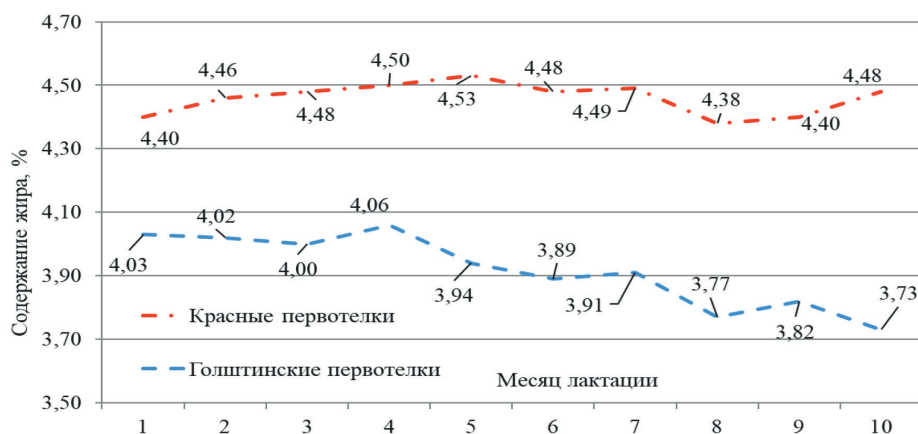


Рис. 2. Содержание жира по месяцам лактации у коров-первотелок различных генотипов

Fig. 2. Fat content by months of lactation in first-calf cows of various genotypes

На рис. 3 приведена динамика показателей удоя за 305 дней лактации коров-первотелок различных генотипов в переводе на базисную норму массовой доли жира.

В переводе на базисную жирность за 305 дней лактации удой на корову-первотелку голштинской породы составил 8103 кг молока, или на 157 кг выше, чем у красных сверстниц. Следует отметить, что при переводе на базисную жирность удой коров-первотелок красного скота увеличился на 1450 кг, а сверстниц голштинской породы на 652 кг.

Содержание белка в молоке у коров обоих генотипов в первые 2 месяца было на одном уровне. Начиная с 3 месяца лактации, превосходство красных первотелок по содержанию белка в молоке над голштинскими увеличилось с 0,08 до 0,6 % к концу лактации (рис. 4).

По выходу молочного жира и белка лучшими показателями в период с 1 по 8 месяцы лактации характеризуются первотелки голштинской породы, что связано с более высокими их удоями. В конце лактации лучшие показатели по выходу молочного жира и белка имели первотелки красных молочных пород.

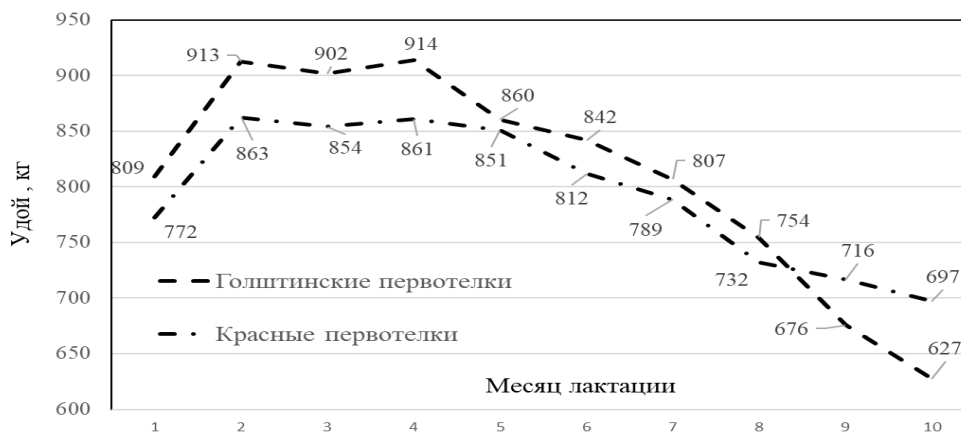


Рис. 3. Динамика показателей удоя за 305 дней лактации коров-первотелок различных генотипов в переводе на базисную норму массовой доли жира

Fig. 3. Dynamics of milk yield indicators for 305 days of lactation of first-calf cows of various genotypes in translation to the basic norm of the mass fraction of fat

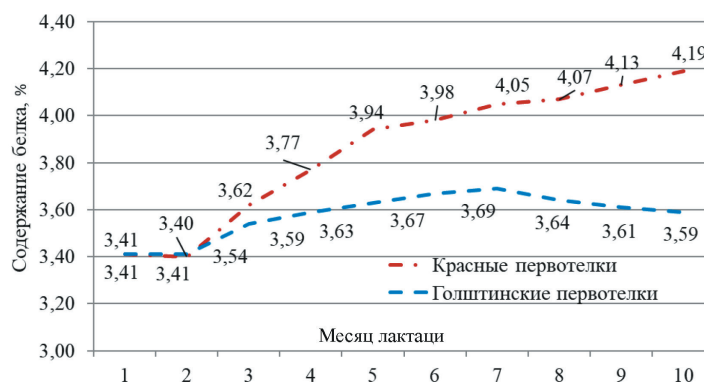


Рис. 4. Содержание белка по месяцам лактации у коров-первотелок различных генотипов

Fig. 4. Protein content by months of lactation in first-calf cows of various genotypes

Изучены физико-химические показатели молока первотелок красных молочных и голштинской пород. Исследования проведены в аккредитованной лаборатории Института мясо-молочной промышленности в разрезе трех сезонов 2021 г. Результаты исследований представлены в табл. 6.

Анализ полученных результатов показывает, что по основным качественным показателям молоко-сырье коров красных молочных пород превосходило аналогичный показатель голштинской породы во все три сезона: по массовой доле жира на 0,8–1,0 %, содержанию сухих веществ – 1,2–1,6 %, белка – 0,38–0,54 %, казеина – 0,40–0,59 %. Молоко-сырье животных двух исследуемых генотипов по термоустойчивости и сычужно-броидильной пробе соответствовало требованиям 1 группы и 1 класса соответственно.

Проведен анализ молока, полученного от исследуемого поголовья первотелок красных молочных и голштинской пород на его соответствие требованиям государственного стандарта СТБ 1598–2006 «Молоко коровье. Требования при закупках».

Установлено, что от коров-первотелок красных молочных пород за лактацию получено 94 % молока сорта «экстра», от их сверстниц голштинской породы 78 % соответственно (табл. 7). Всего за первую лактацию от коров-первотелок красных молочных пород получено 97 % продукции, соответствующей требованиям СТБ 1598–2006, что на 11 % больше, чем от их сверстниц.

На основе полученных данных разработана программа целенаправленной селекционной работы с красными молочными породами, целью которой является создание отечественной красной молочной породы как для чистопородного разведения, так и получения кроссированных животных, сочетающих высокую молочную продуктивность с высокими качественными показателями молока.

Т а б л и ц а 6. Физико-химические показатели молока-сырья первотелок красных молочных и голштинской пород

T a b l e 6. Physico-chemical parameters of raw milk of the first heifers of red dairy and Holstein breeds

Показатель Index	15.01.2021		15.04.2021		15.07.2021	
	красные породы red rocks	голштинская порода Holstein breed	красные породы red rocks	голштинская порода Holstein breed	красные породы red rocks	голштинская порода Holstein breed
Массовая доля, %:						
жира	4,3	3,5	4,4	3,3	3,8	2,8
сухих веществ	13,7	12,5	13,8	12,2	13,0	11,6
белка	3,82	3,44	4,30	3,76	4,13	3,71
казеина	3,10	2,70	3,54	2,95	3,32	2,89
сывороточных белков	0,54 ± 0,10	0,57 ± 0,10	0,62 ± 0,11	0,68 ± 0,12	0,43	0,35
лактозы	3,73	4,02	4,41	4,49	4,98	4,59
небелкового азота	0,024 ± 0,003	0,022 ± 0,003	0,025 ± 0,003	0,024 ± 0,003	0,051	0,069
истинного белка	3,67	3,30	4,14	3,61	3,80	3,27
Кислотность, °Т	17,71	17,71	17,91	17,21	16,60	17,20
Плотность, кг/м ³	1030,5 ± 0,5	1030,2 ± 0,5	1030,5 ± 0,5	1030,2 ± 0,5	1031,4	1030,3
Массовая доля мочевины, мг%	16,66	17,85	25,44 ± 0,4	11,81 ± 0,4	30,57 ± 0,4	23,69 ± 0,4
Термоустойчивость по алкогольной пробе, группа	I	I	I	I	I	I
Сычужно-бродильная проба, класс	I	I	I	I	I	I

Т а б л и ц а 7. Сортность произведенного молока коров-первотелок различных генотипов

T a b l e 7. The grade of the produced milk of first-calf cows of various genotypes

Сорт молока Milk grade	Голштинская порода Holstein breed		Красные молочные породы Red dairy breeds	
	тонн tons	%	тонн tons	%
Экстра	1427	78	1588	94
Высший	93	5	27	2
Первый	53	3	18	1

Согласно плану мероприятий по реализации программы определены сельскохозяйственные организации по разведению красных молочных пород: ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского р-на; УСП «Новый Двор-Агро» Свислочского р-на; РПУП «Устье НАН Беларуси» Оршанского р-на.

После реализации инновационного проекта «Строительство инновационного роботизированного племенного комплекса на 1000 коров в РУП «Шипяны-АСК» Смолевичского района» еще 1000 племенных коров красных молочных пород будут содержаться в этой сельскохозяйственной организации.

В настоящее время в республике насчитывается 1325 голов маточного поголовья красных пород, в том числе УСП «Новый Двор Агро» Свислочского р-на 358 голов, ГП «ЖодиноАгро-ПлемЭлита» Смолевичского р-на – 462 головы, РПУП «Устье» Оршанского р-на – 505 голов (ожидается 1800 голов). С 2022 г. будет проводиться селекционная работа с 2100 головами молочного скота красных пород. В последующие годы численность маточного поголовья прогнозируется около 4–5 тыс. голов, для которых требуется 12–15 тыс. доз спермы ежегодно. Для получения такого количества спермопродукции с учетом двухгодичного запаса требуется 5–6 бычков. Для их получения в соответствии с принятой методикой требуется 500 быкопроизводящих коров, осеменяемых 10–15 геномно оцененными быками, от которых на первом этапе будет отобрано 60 бычков. В последующем после геномной оценки их останется 5–6 голов, которые будут ежегодно поставляться для дальнейшего выращивания на республиканский элеватор в Оршанском р-не. При положительной оценке их по секционированным признакам бычки в дальнейшем по 2 головы будут поступать на Минское, Витебское и Гродненское госплемпредприятия.

Схема этапов программы разведения красного молочного скота представлена на рис. 5.



Рис. 5. Схема этапов программы разведения красного молочного скота

Fig. 5. Diagram of the stages of the red dairy cattle breeding program

Реализация программы позволит решить следующие задачи:

создать и определить племенные сельскохозяйственные организации по разведению красного молочного скота;

сформировать генеалогическую структуру популяции;

увеличить поголовье коров красного молочного скота к 2025 г. до 3500–4000 голов;

в племенных стадах с высоким генетическим потенциалом продуктивности выделить быкопроизводящее стадо около 500 голов;

ежегодно отбирать около 50–60 бычков для геномного анализа;

использовать бычков с геномным индексом не менее 120 единиц;

использовать сперму быков с высоким индексом племенной ценности для получения кроссированных животных в некоторой части товарных хозяйств для улучшения хозяйственно полезных признаков получаемого скота и улучшения качества молочной продукции;

создание популяции молочного скота красных пород с генотипом по β -казеину A2A2 для получения молока, имеющего значительные отличительные свойства и используемого как антиаллергенное;

в ближайшей перспективе создание белорусской породы красного скота молочного направления продуктивности.

Создание отечественной породы этого скота с генотипом по β -казеину A2A2 позволит получать молоко, имеющее существенные отличительные свойства, используемое как антиаллергенное, более легко усвояемое в организме людьми пожилого возраста и максимально пригодное для детского питания.

Более высокий уровень содержания каппа-казеина у этих животных с аллелями АВ и ВВ способствует большому выходу сыра, а повышенное содержание лактозы улучшает вкусовые качества продукции. Расчеты показывают, что для производства 1 кг сыра из молока от коров красных молочных пород необходимо 7,5 кг молока, а от коров голштинской породы 9,0 кг.

Заключение. На протяжении первой лактации коровы красных молочных пород превосходили своих сверстниц голштинской породы по содержанию жира в молоке на 0,37–0,75 %, содержанию белка – на 0,08–0,60 %. От коров-первотелок красных молочных пород за лактацию получено 94 % молока сорта «Экстра», от их сверстниц голштинской породы – 78 %.

Разработанная на основе полученных данных программа целенаправленной селекционной работы с красными молочными породами определяет основные направления создания отечественной породы красного молочного скота как для чистопородного разведения, так и получе-

ния кроссированных животных, сочетающих высокую молочную продуктивность, хорошие воспроизводительные качества, продуктивное долголетие, а также высокие качественные показатели молока.

Экономический эффект от использования животных будет обеспечиваться за счет производства молока с содержанием жира не менее 4,0 % и белка не менее 3,4 %. Животные красных молочных пород будут характеризоваться более низким содержанием соматических клеток в молоке (200 тыс./мл). Доля тяжелых отелов у них составит ниже на 16 % по сравнению с чистопородными коровами голштинской породы. Непроизводительное выбытие первотелок из стада сократится на не менее чем 8,5 %.

Список использованных источников

1. Hazel, A. ProCROSS crossbreds were more profitable than their Holstein herdmates in a 10-year study with high-performance Minnesota dairy herds [Electronic resource] / A. Hazel, B. Heins, L. Hansen. – 2020. – Mode of access: https://www.betterdairy.com/wp-content/uploads/2020/01/procross_10-year_study_results_kg_new.pdf. – Date of access: 20.06.2022.
2. Корректирующий подбор быков-производителей красных и красно-пестрых пород к маточному поголовью / И. Н. Коронец [и др.] // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сб. науч. ст. по материалам XXI Междунар. науч.-практ. конф. (Гродно, 18 мая 2018 г.): ветеринария, зоотехния. – Гродно, 2018. – С. 157–159.
3. Гайко, А. А. Красный белорусский скот / А. А. Гайко, С. И. Тузов, М. П. Гринь. – Минск, 1968. – 143 с.
4. Гайко, А. А. Основные итоги работы по совершенствованию красного белорусского скота / А. А. Гайко, М. П. Гринь, С. И. Тузов // Научные основы разведения, кормления и содержания с.-х. животных: тез. докл. науч.-практ. конф. – Жодино, 1970. – С. 14–16.
5. Сохранение генофонда красного белорусского скота / И. Н. Коронец [и др.] // Научные основы повышения продуктивности с.-х. животных: сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – Краснодар, 2008. – Ч. 1. – С. 24–25.
6. Формирование популяций красного белорусского скота и скота симментальской породы в Республике Беларусь / И. Н. Коронец [и др.] // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр. – Гродно, 2021. – Т. 52: Зоотехния. – С. 55–63.
7. Тепел, А. Химия и физика молока / А. Тепел. – СПб., 2012. – 571 с.
8. Остроумова, Т. А. Влияние пород скота на состав молока и производство сыра / Т. А. Остроумова, И. В. Иванов // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 3. – С. 71–74.

References

1. Hazel A., Heins B., Hansen L. ProCROSS crossbreds were more profitable than their Holstein herdmates in a 10-year study with high-performance Minnesota dairy herds. 2020. Available at: https://www.betterdairy.com/wp-content/uploads/2020/01/procross_10-year_study_results_kg_new.pdf (accessed 20 June 2022).
2. Koronets I. N., Klimets N. V., Shemetovets Zh. I., Pavlova T. V., Vishnevets A. V. Corrective selection of bulls-producers of red and red-mottled breeds to the breeding stock. *Sovremennye tekhnologii sel'skokhozyaystvennogo proizvodstva: sbornik nauchnykh statei po materialam XXI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Grodno, 18 maya 2018 g.): veterinariya, zootekhniya* [Modern technologies of agricultural production: collection of scientific articles based on the materials of the XXI International Scientific and Practical Conference (Grodno, May 18, 2018): Veterinary medicine, animal science]. Grodno, 2018, pp. 157–159 (in Russian).
3. Gaiko A. A., Tuzov S. I., Grin M. P. *Red Belarusian cattle*. Minsk, 1968. 143 p. (in Russian).
4. Gaiko A. A., Grin M. P., Tuzov S. I. The main results of the work on improving the red Belarusian cattle. *Nauchnye osnovy razvedeniya, kormleniya i sodержaniya sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: tezisy dokladov nauchno-prakticheskoi konferentsii* [Scientific foundations of breeding, feeding and keeping of farm animals: abstracts of the scientific-practical conference]. Zhodino, 1970, pp. 14–16 (in Russian).
5. Koronets I. N., Dashkevich M. A., Klimets N. V., Pesotsky N. I., Antonovich N. V. Preservation of the gene pool of red Belarusian cattle. *Nauchnye osnovy povysheniya produktivnosti sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: sbornik nauchnykh trudov mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii. Chast' I* [Scientific foundations of increasing productivity of farm animals: collection of scientific papers of the international scientific-practical conference. Part 1]. Krasnodar, 2008, pp. 24–25 (in Russian).
6. Koronets I. N., Klimets N. V., Pesotsky N. I., Shemetovets Zh. I., Rogach V. N., Korobko A. V., Yatsyna O. A., Concordeva E. E. Formation of populations of red Belarusian cattle and Simmental cattle in the Republic of Belarus. *Sel'skoe khozyaystvo – problemy i perspektivy: sbornik nauchnykh trudov, tom 52: Zootehniya* [Agriculture – problems and prospects: a collection of scientific papers, vol. 52: Zootechnics]. Grodno, 2021, pp. 55–63 (in Russian).
7. Tepel A. *Chemistry and physics of milk*. Saint Petersburg, 2012. 571 p. (in Russian).
8. Ostroumova T. A., Ivanov I. V. Influence of breed of cattle on structure of milk and manufacture of cheese. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*, 2009, no. 3, pp. 71–74 (in Russian).

Информация об авторах

Гусаков Владимир Григорьевич – академик, д-р экон. наук, профессор, председатель Президиума Национальная академия наук Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nasb@presidium.bas-net.by.

Шейко Иван Павлович – академик, д-р с.-х. наук, профессор, первый заместитель генерального директора. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Тимошенко Владимир Николаевич – член-корреспондент, д-р с.-х. наук, профессор, первый заместитель генерального директора. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Богданович Дмитрий Михайлович – канд. с.-х. наук, доцент, генеральный директор. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Климец Наталья Вячеславовна – канд. с.-х. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Песоцкий Николай Иванович – канд. с.-х. наук, доцент, и. о. заведующего лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Коронец Иван Николаевич – канд. с.-х. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Музыка Андрей Анатольевич – канд. с.-х. наук, доцент, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Рогач Виктория Николаевна – науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by.

Березовик Руслан Викторович – генеральный директор. Белорусское государственное объединение по племенному животноводству «Белплемяживобъединение» (ул. Казинца, 88, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: info@belplem.by.

Information about the authors

Gusakov Vladimir G. – Academician, D. Sc. (Economy), Professor, Chairman of the Presidium. National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nasb@presidium.bas-net.by.

Sheiko Ivan P. – Academician, D. Sc. (Agrarian), Professor, First Deputy Director General. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Tsimoshanka Uladzimir N. – Corresponding Member, D. Sc. (Agrarian), Professor, First Deputy Director General. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Bagdanovich Dzmitry M. – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Director General. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Klimets Natalia V. – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Leading Researcher. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Pesotski Nikolai I. – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Head of the Laboratory. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Koronets Ivan N. – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Leading Researcher. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Muzyka Andrei A. – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Head of the Laboratory. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Rogach Victoria N. – Researcher. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by.

Berezovik Ruslan V. – Director General. Belarusian State Association of Livestock Breeding “Belplemzhivobedinenie” (88, Kazinets Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: info@belplem.by.