

Карельский научный центр
Российской академии наук

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 5, 2017

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2017

Главный редактор
А. Ф. ТИТОВ, член-корр. РАН, д. б. н., проф.

Редакционный совет

А. М. АСХАБОВ, академик РАН, д. г.-м. н., проф.; Т. ВИХАВАЙНЕН, доктор истории, проф.; А. В. ВОРОНИН, д. т. н., проф.; С. П. ГРИППА, к. г. н., доцент; Э. В. ИВАНТЕР, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; А. С. ИСАЕВ, академик РАН, д. б. н., проф.; А. М. КРЫШЕНЬ (зам. главного редактора), д. б. н.; Е. В. КУДРЯШОВА, д. флс. н., проф.; В. В. МАЗАЛОВ, д. ф.-м. н., проф.; И. И. МУЛЛОНЕН, д. фил. н., проф.; Н. Н. НЕМОВА, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; В. В. ОКРЕПИЛОВ, академик РАН, д. э. н.; О. Н. ПУГАЧЕВ, академик РАН, д. б. н.; Ю. В. САВЕЛЬЕВ, д. э. н.; Д. А. СУБЕТТО, д. г. н.; Н. Н. ФИЛАТОВ, член-корр. РАН, д. г. н., проф.; В. В. ЩИПЦОВ, д. г.-м. н., проф.

Editor-in-Chief
A. F. TITOV, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.

Editorial Council

A. M. ASKHABOV, RAS Academician, DSc (Geol.-Miner.), Prof.; N. N. FILATOV, RAS Corr. Fellow, DSc (Geog.), Prof.; S. P. GRIPPA, PhD (Geog.), Assistant Prof.; A. S. ISAEV, RAS Academician, DSc (Biol.), Prof.; E. V. IVANTER, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; A. M. KRYSHEN' (Deputy Editor-in-Chief), DSc (Biol.); E. V. KUDRYASHOVA, DSc (Phil.), Prof.; V. V. MAZALOV, DSc (Phys.-Math.), Prof.; I. I. MULLONEN, DSc (Philol.), Prof.; N. N. NEMOVA, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; V. V. OKREPILOV, RAS Academician, DSc (Econ.); O. N. PUGACHYOV, RAS Academician, DSc (Biol.); Yu. V. SAVELIEV, DSc (Econ.); V. V. SHCHIPTSOV, DSc (Geol.-Miner.), Prof.; D. A. SUBETTO, DSc (Geog.); T. VIHAVAINEN, PhD (Hist.), Prof.; A. V. VORONIN, DSc (Tech.), Prof.

Редакционная коллегия серии «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ»

А. С. ГОРЮНОВ, к. ф.-м. н., доцент; В. А. ИЛЮХА (зам. отв. редактора), д. б. н., доцент; Н. М. КАЛИНКИНА, д. б. н.; О. Н. ЛЕБЕДЕВА, к. б. н., доцент; Е. М. МАТВЕЕВА, к. б. н.; Н. Н. НЕМОВА (отв. редактор), чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.; Л. Л. НОВИЦКАЯ, д. б. н.; Е. К. ОЛЕЙНИК, д. б. н., доцент; Л. П. СМИРНОВ, д. б. н.; Л. В. ТОПЧИЕВА (отв. секретарь), к. б. н.

Editorial Board of the Experimental Biology Series

A. S. GORYUNOV, PhD (Phys.-Math.), Assistant Prof.; V. A. ILYUKHA (Deputy Editor-in-Charge), DSc (Biol.), Prof.; N. M. KALINKINA, DSc (Biol.); O. N. LEBEDEVA, PhD (Biol.), Assistant Prof.; E. M. MATVEEVA, PhD (Biol.); Assistant Prof.; N. N. NEMOVA (Editor-in-Charge), RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.); L. L. NOVITSKAYA, DSc (Biol.); E. K. OLEJNIK, DSc (Biol.), Assistant Prof.; L. P. SMIRNOV, DSc (Biol.); L. V. TOPCHIEVA (Executive Secretary), PhD (Biol.).

ISSN 1997-3217 (печатная версия)
ISSN 2312-4504 (онлайн-версия)

Адрес редакции: 185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11
тел. (8142)762018; факс (8142)769600
E-mail: trudy@krc.karelia.ru
Электронная полнотекстовая версия: <http://transactions.krc.karelia.ru>

© Карельский научный центр РАН, 2017
© Институт биологии Карельского
научного центра РАН, 2017
© Институт леса Карельского научного
центра РАН, 2017

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 575.174.015.3:616.36

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ (*TNF*, *IL6*) И ИХ РЕЦЕПТОРОВ (*TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *IL6R*) И НЕАЛКОГОЛЬНАЯ ЖИРОВАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ

Л. В. Топчиева¹, И. В. Курбатова¹, О. П. Дуданова²,
А. А. Соколовская², А. А. Шиповская²

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Петрозаводский государственный университет

Провоспалительные цитокины (фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкин 6 (IL6)) играют значительную роль в этиологии и патогенезе неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), поскольку способны стимулировать воспаление, а также регулировать апоптоз и некроз клеток печени, индуцировать фиброз. Цитокины осуществляют свои функции в организме через взаимодействие с мембраносвязанными и растворимыми рецепторами на поверхности клеток, причем растворимые формы рецепторов могут действовать как антагонисты и как усилители их биологических эффектов. Различия в уровне цитокинов, а также растворимых и мембраносвязанных цитокиновых рецепторов могут определяться наличием мутаций в разных областях соответствующих генов. Это может оказывать влияние на формирование сигнального пути, определяющего судьбу клеток (т. е. выживание, апоптоз или некроз), и, соответственно, на развитие и прогрессирование НАЖБП, некоторые формы которой, в частности стеатогепатит и цирроз, сопровождаются усилением апоптоза клеток печени. Однако вопрос о том, влияет ли полиморфизм генов *TNF* и *IL6*, а также рецепторов TNF и IL6 на развитие и прогрессирование НАЖБП, в настоящее время изучен очень слабо. В статье представлены имеющиеся современные данные литературы о связи полиморфизма генов *TNF*, *IL6*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *IL6R* с развитием неалкогольной жировой болезни печени.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени; воспаление; цитокины; фактор некроза опухоли альфа; интерлейкин 6; рецепторы цитокинов; полиморфизм генов.

L. V. Topchieva, I. V. Kurbatova, O. P. Dudanova, A. A. Sokolovskaya, A. A. Shipovskaya. GENE POLYMORPHISM OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES (*TNF*, *IL6*) AND THEIR RECEPTORS (*TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *IL6R*): IMPLICATIONS FOR NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor alpha (TNF α) and interleukin 6 (IL6)) play an important role in the etiology and pathogenesis of non-alcoholic fatty liver dis-

ease (NAFLD), since they can promote inflammation and regulate apoptosis and necrosis of liver cells, induce fibrosis. Cytokines perform their functions through interaction with membrane-bound and soluble receptors on the cell surface, and the soluble forms of receptors may act as antagonists or as enhancers of their biological effects. Differences in the level of cytokines and soluble and membrane-bound cytokine receptors may be due to the presence of mutations in different regions of the corresponding genes. This may influence the formation of the signaling pathway that determines the fate of cells (i. e., survival, apoptosis or necrosis) and, accordingly, the development and progress of NAFLD, some forms of which, in particular steatohepatitis and cirrhosis, involve intensified hepatic cell death. However, the question of whether the polymorphism of *TNF*, *IL6* genes and their receptors affects NAFLD development and progress currently remains largely uninvestigated. This paper presents current data from the literature investigating the relationship between *TNF*, *IL6*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *IL6R* gene polymorphism and the development of non-alcoholic fatty liver disease.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease; inflammation; cytokines; tumor necrosis factor alpha; interleukin-6; cytokine receptors; gene polymorphism.

Роль TNF α и IL6 в развитии неалкогольной жировой болезни печени

В последнее время появляется все больше данных о том, что многие хронические неинфекционные заболевания сопровождаются воспалением, которое характеризуется как защитно-приспособительная гомеостатическая реакция организма на повреждение [Висмонт, 2006]. Однако воспаление может выступать не только в качестве защитной реакции организма, но и играть важную роль в индукции патологических процессов в организме. Например, считается, что хроническое воспаление является причиной примерно 25 % всех злокачественных опухолей [Kidane et al., 2014].

Воспалению также отводится важная роль в возникновении и прогрессировании неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) [Giannitrapani et al., 2011]. Неалкогольная жировая болезнь печени – заболевание, представленное несколькими клинико-морфологическими формами – стеатоз, протекающий зачастую бессимптомно, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз, цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) [Braunersreuther et al., 2012]. Главные механизмы сложного патогенеза НАЖБП представлены формированием инсулинорезистентности, цитотоксическим действием избытка свободных жирных кислот и воспалением [Giannitrapani et al., 2013]. Если стеатоз печени характеризуется доброкачественным клиническим течением, то стеатогепатит отличается прогрессирующим течением с возможным развитием цирроза печени и даже гепатоцеллюлярной карциномы. Развитие патологических процессов при НАЖБП, в отличие от хронических заболеваний другой этиологии (вирусной, аутоиммунной, алкогольной), происходит более

медленными темпами. Действительно, НАЖБП наблюдается у 20–74 % детей и подростков с избыточным весом, свидетельствуя о том, что эта болезнь может начинаться очень рано и требуется достаточно длительное время для ее прогрессирования [Braunersreuther et al., 2012].

Развитие воспалительного процесса в организме обусловлено комплексом физиологически активных веществ, образующихся в очаге повреждения и опосредующих действие флогенных факторов, получивших название «медиаторов воспаления», которые классифицируются как по скорости включения в процесс воспаления, так и по происхождению (гуморальные или клеточные). Интерлейкины и монокины (например, интерлейкин 1 бета (IL1 β), фактор некроза опухоли (TNF α) и др.) относятся к клеточным медиаторам воспаления. Эти белки вырабатываются в основном макрофагами, моноцитами, нейтрофильными гранулоцитами и влияют на синтез простагландинов, фагоцитоз, пролиферацию и активацию фибробластов, оказывают пирогенный эффект [Roth, DeSouza, 2001; Gaur, Aggarwal, 2003; Brito et al., 2016].

Основными медиаторами воспалительного процесса при прогрессировании НАЖБП являются цитокины. Некоторым из них, например, интерлейкину 6 (IL6) и фактору некроза опухоли альфа, отводится ключевая роль в этом процессе [Fernández-Real et al., 2000; Braunersreuther et al., 2012]. В нормальных физиологических условиях в печени цитокины продуцируются в минимальных концентрациях. Однако различные патофизиологические стимулы, такие как накопление в клетках печени липидов, свободных радикалов, а также поступление в печень кишечных эндотоксинов, способствуют увеличению содержания

провоспалительных молекул. Провоспалительные цитокины способны стимулировать воспаление, а также регулировать апоптоз и некроз клеток печени, индуцировать фиброз [Par, Par, 2005; Soraci et al., 2006; Braunersreuther et al., 2012].

Члены семейства TNF-белков, в том числе TNF α , CD95L, TRAIL (TNFSF10) – наиболее известные индукторы смерти гепатоцитов. TNF α продуцируется в больших количествах кроветворными клетками в ответ на бактериальные инфекции или действие липополисахарида. Считается, что TNF α является ключевым фактором в развитии НАЖБП, в частности неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). В печени этот цитокин секретируется непосредственно гепатоцитами и клетками Купфера. Другим важным источником TNF α является висцеральная жировая ткань.

TNF α синтезируется в виде трансмембранного белка II типа, с молекулярной массой 26 кДа (mTNF, membrane-bound TNF), состоящего из 233 аминокислот. Из этих аминокислот первые 76 действуют как сигнальный пептид, направляющий белок в сторону плазматической мембраны. Мембраносвязанный TNF может взаимодействовать с металлопротеазой TACE (TNF-alpha-converting enzyme), которая играет важную роль в развитии млекопитающих. Эта металлопротеаза также участвует в расщеплении некоторых других белков, в том числе рецепторов TNF. Расщепление TACE по аминокислотным остаткам Ala-66 и Val-67 mTNF приводит к образованию растворимой формы цитокина (sTNF, soluble TNF) с молекулярной массой 17 кДа, которая сохраняет свою биологическую активность. Растворимые и мембраносвязанные формы TNF сосуществуют в виде моно-, ди- и тримерных белков, причем биологической активностью обладают именно тримерные формы [Bodmer et al., 2002].

Рядом авторов отмечено повышение содержания TNF α в плазме крови пациентов с неалкогольным стеатогепатитом по сравнению со здоровыми донорами, что может способствовать развитию у них воспаления и инсулинорезистентности [Hui et al., 2004]. Так, в работе Hotamisligil с соавторами показана взаимосвязь между экспрессией TNF α и инсулинорезистентностью при данном заболевании [Hotamisligil et al., 1995]. Один из механизмов формирования инсулиновой резистентности посредством TNF α заключается в том, что этот цитокин активирует ядерный транскрипционный фактор NF- κ B в адипоцитах и гепатоцитах, что ведет к усилению фосфорилирования инсулинового рецептора I типа, нарушению связывания

инсулина с рецептором, уменьшению активности глюкозного транспортера типа 4 (GLUT4) и фосфоинозитол-3 киназы и, таким образом, снижению захвата и утилизации глюкозы клетками, нарастанию гипергликемии и развитию инсулинорезистентности [Hui et al., 2004; Plomgaard et al., 2005]

Интересно, что у пациентов с НАСГ уровень TNF α коррелировал не только с инсулинорезистентностью, но и со степенью фиброза печени [Hotamisligil et al., 1995; Dandona et al., 1998; Crespo et al., 2001; Lesmana et al., 2009], который является следствием ее хронического повреждения. Известно, что TNF α стимулирует гормон-чувствительную липазу, тем самым способствуя увеличению содержания в плазме свободных жирных кислот и их притоку в печень. В гепатоцитах, накапливающих эти молекулы, могут индуцироваться процессы программируемой клеточной смерти. Звездчатые клетки мигрируют к месту повреждения, поглощают апоптотические тела и трансформируются в миофибробласты, которые в активированном состоянии секретируют внеклеточный матрикс и таким образом способствуют образованию рубцов в печени [Czaja, 2014].

Однако, как показывают данные литературы, вопрос о вовлечении TNF α в инсулинорезистентность при НАЖБП остается спорным. Например, некоторые исследователи не выявили какую-либо корреляцию между уровнем этого цитокина и инсулинорезистентностью [Bruun et al., 2003]. Кроме того, использование для лечения больных антител к TNF α не привело к улучшению инсулиновой чувствительности [Ofei et al., 1996; Bernstein et al., 2006].

Наряду с TNF α к основным медиаторам воспалительного процесса при прогрессировании НАЖБП относится другой провоспалительный цитокин – интерлейкин 6 [Braunersreuther et al., 2012]. Интерлейкин 6 является плеiotропным цитокином, экспрессирующимся во многих провоспалительных клетках в ответ на различные стимулы. Он участвует в регуляции большого количества биологических процессов, включая формирование инсулинорезистентности и развитие воспаления. Интерлейкин 6 относят к «гепатоцитактивирующим факторам», известно о его способности индуцировать синтез провоспалительных (острофазных) белков, таких как фибриноген и С-реактивный белок [Yoneda et al., 2007; Milner et al., 2009].

Интерлейкин 6 играет важную роль в активации Т-клеточного ответа, способствуя развитию воспаления, которое ассоциировано с широким рядом заболеваний [Neurath, Finotto, 2011]. С этой точки зрения он представляется

потенциальным медиатором воспаления при НАЖБП. В более ранних исследованиях были получены свидетельства протективной роли данного цитокина при фиброзе печени, поскольку он способствует пролиферации гепатоцитов и их защите от окислительного стресса и митохондриальной дисфункции [Cressman et al., 1996; El-Assall et al., 2004]. Однако в последующем было показано, что экспрессия IL6 в печени пациентов с НАСГ была значительно выше, чем в печени больных стеатозом или здоровых людей [Wieckowska et al., 2008]. Причем экспрессия IL6 в печени позитивно коррелировала с тяжестью воспаления, фиброзом и уровнем этого белка в плазме [Wieckowska et al., 2008]. Повышенное содержание интерлейкина 6 в плазме больных НАЖБП отмечено и другими авторами [Kugelmas et al., 2003; Abiru et al., 2006; Haukeland et al., 2006]. Так же как и в случае с TNF α , обнаружена корреляция между уровнем этого цитокина и инсулинорезистентностью [Kopp et al., 2003]. Однако роль интерлейкина 6 в развитии НАЖБП пока не совсем ясна. Так, имеются результаты, показывающие отсутствие различий в уровне этого цитокина в плазме крови больных диабетом 2 типа с НАСГ, имеющих признаки фиброза печени, по сравнению с больными без НАСГ или со слабым фиброзом [Leite et al., 2013]. Не было обнаружено разницы в содержании IL6 в плазме и экспрессии гена *IL6* в клетках печени у пациентов с НАСГ и стеатозом [Yoneda et al., 2007; Fitzpatrick et al., 2012]. То есть пока полностью не доказано, что повышенный уровень этого цитокина имеет значение в прогрессировании НАЖБП.

По данным современной литературы, интерлейкин 6 играет двойственную роль в развитии и прогрессировании неинфекционных заболеваний печени. Так, показано, что IL6 через STAT3-зависимый путь регулирует экспрессию антиапоптотических белков, таких как Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1L, FLIP и другие [Taub, 2003]. Кроме этого, интерлейкин 6 оказывает ингибирующий эффект в отношении цитотоксических Т-клеток, запускающих процессы апоптоза [Sun et al., 2004]. Тем не менее, по другим данным, повышенный уровень IL6 может вызвать увеличение концентрации активных форм кислорода, выступающих в качестве индукторов программируемой клеточной смерти, способствовать изменениям в составе липидов и их окисленным формам и, как следствие, атерогенезу [Fernandez-Real et al., 2000]. Таким образом, с одной стороны, участвуя в поддержании баланса между пролиферацией и апоптозом, он участвует в регенерации печени,

а с другой стороны, он может способствовать повреждению этого органа, стимулировать процессы апоптоза гепатоцитов, индуцировать инсулинорезистентность.

Полиморфизм генов цитокинов и НАЖБП

Развитие воспаления, его выраженность, характер, течение и исход определяются не только силой флогогенного раздражителя и его особенностями, но и реактивностью организма, условиями, конкретными обстоятельствами его возникновения и развития [Висмонт, 2006]. Генетический фактор, вероятно, также играет важную роль в этом процессе. Об этом свидетельствуют данные об ассоциации полиморфных маркеров генов цитокинов и их рецепторов с развитием ряда полигенных заболеваний, сопровождающихся воспалением, в том числе и неинфекционных заболеваний печени [Wang et al., 2012]. Полиморфизм генов цитокинов и их рецепторов также может влиять на тяжесть и исход заболеваний [Герасимова и др., 2015], эффективность лечения [Chen et al., 2015].

Гены цитокинов высокополиморфны. В большинстве исследований по ассоциации полиморфизма генов цитокинов с развитием полигенных заболеваний рассматривается влияние мутаций в промоторной области этих генов, поскольку они могут привести к изменению связывания с этой областью ДНК транскрипционных факторов и в итоге к снижению или, напротив, повышению транскрипционной активности и изменению содержания соответствующих белков [Fishman et al., 1998; Karimi et al., 2009]. Например, обнаружена связь -238G>A полиморфизма гена *TNF* с НАЖБП [Hu et al., 2009; Wang et al., 2012]. Выявлено влияние полиморфных маркеров -863C>A и -1031C>T гена *TNF* на развитие неалкогольного стеатогепатита [Tokushige et al., 2007]. Показано, что -308G>A полиморфизм гена *TNF* ассоциирован с инсулинорезистентностью и гистологическими изменениями при НАЖБП [Aller et al., 2011]. Имеются работы, посвященные вкладу мутаций в промоторной части гена *IL6* в формирование неинфекционных болезней печени. Показано, что у белокожих европейцев, больных неалкогольным стеатогепатитом и гепатокарциномой, частота С аллеля по -174G>С маркеру гена *IL6* значительно выше, чем у здоровых людей, что может быть предиктором развития у них этих заболеваний [Carulli et al., 2009; Giannitrapani et al., 2011]. Также установлена ассоциация -174G>С полиморфизма гена *IL6* с развитием НАСГ в российской популяции; у носителей аллеля С достоверно повышен риск развития

НАСГ [Курбатова и др., 2016б]. Однако в других работах не удалось выявить связь этого полиморфизма с развитием НАСГ и фиброза печени [Cengiz et al., 2014].

Следует отметить, что исследования, посвященные связи полиморфизма генов *TNF* и *IL6* с развитием НАЖБП, немногочисленны и носят противоречивый характер. Например, одни авторы выявили связь -238G>A маркера гена *TNF* с НАЖБП [Valenti et al., 2002; Wang et al., 2012], другие – нет [Chen et al., 2011; Chowdhury et al., 2013]. Разногласие в данных по влиянию полиморфизма генов цитокинов на генетическую предрасположенность к НАЖБП можно объяснить особенностями распределения частот аллелей и генотипов в разных популяциях. Например, соотношение частот аллелей (А к G) по -308G>A полиморфному маркеру гена *TNF* в группе здоровых жителей Китая составляет 3,3 %, у населения Азиатско-Тихоокеанского региона – 1,2–7 %, а в других популяциях – 12,8–23,7 % [Zhou et al., 2010]. Генотип AA по данному маркеру не регистрируется у людей, живущих в Азиатско-Тихоокеанском регионе, однако встречается с частотой 1,2–7,9 % у представителей других народностей [Zhou et al., 2010].

Другой причиной, по которой не удается выявить ассоциативную связь между полиморфизмом генов цитокинов и развитием НАЖБП, может быть выбор методического подхода для ее оценки. В большинстве исследований оценивается влияние единичных мутаций. В последнее время стали все чаще появляться работы, в которых прослеживается связь между носительством комплекса генотипов по разным маркерам одного и того же гена (гаплотипами) и генетической предрасположенностью к неалкогольной жировой болезни печени [Tokushige et al., 2007]. Так, если оценивался вклад единичных мутаций в промоторной части гена *TNF* (например, -1031T>C, -863C>A, -857C>T, -308G>A, -238G>A однонуклеотидных замен) в развитие гепатоцеллюлярной карциномы у жителей Кореи, то связь полиморфизма этого гена с развитием данного заболевания выявить не удалось [Shin et al., 2015]. Однако эти же авторы показали, что у носителей комбинации определенных генотипов по указанным полиморфным маркерам гена *TNF* (например, -1031, -308, -238) значительно повышен риск развития ГЦК.

Рецепторы TNF α и IL6

Белки семейства TNF проявляют свои биологические эффекты посредством взаимо-

действия с трансмембранными рецепторами суперсемейства TNFR (TNF receptor) [Locksley et al., 2001]. Все эти белки характеризуются наличием богатых цистеином доменов во внеклеточной области. Данные домены ответственны за связывание TNF с соответствующими лигандами. Есть две основные группы суперсемейства TNFR: первая группа включает рецепторы смерти, названные так из-за наличия в их внутриклеточной области домена смерти, который вовлечен в индукцию клеточной гибели; вторая группа образована рецепторами, которые не имеют домен смерти во внутриклеточной области. Скорее всего, они имеют так называемый домен TIM (TRAF interaction motif), с помощью которого они связывают TRAF-белки (TNF receptor adaptor factor). Белки TRAF являются основными медиаторами анти-апоптозной функции рецепторов надсемейства TNF [MacEvan, 2002; Cabal-Hierro, Lazo, 2012]. Рецепторы суперсемейства TNFR неспособны сами вызвать биологический ответ. Для активирования внутриклеточных путей им необходимо связываться с белками-адаптерами [Locksley et al., 2001]. Среди этих адаптерных белков можно выделить два различных типа:

а) группа белков-адаптеров, содержащих домен смерти, таких как TRADD (TNF receptor associated protein with death domain) или FADD (fas associated protein with death domain), вовлеченных в передачу сигнала от рецепторов смерти;

б) группа белков-адаптеров, которые не имеют домен смерти. К ним относятся TRAF-белки, которые могут взаимодействовать с рецепторами или непосредственно через TIM-домены, присутствующие в рецепторах, или косвенно через другой белок-адаптер, выступающий в роли интермедиатора. Связывание этих белков-адаптеров с TNFR предполагает активацию различных путей, ведущих к активации NF- κ B (nuclear factor κ B) или AP-1 (activator protein-1), а также индукцию процессов клеточной гибели путем апоптоза или некроптоза [Cabal-Hierro, Lazo, 2012].

Рецепторы суперсемейства TNFR способны инициировать широкий спектр биологических реакций. В зависимости от типа клеток и окружающих тканей активация специфических TNFR может запускать различные биологические ответы, такие как клеточная гибель или выживание. С TNF α могут взаимодействовать два рецептора (TNFR1 и TNFR2), которые сильно различаются по спектру экспрессии (тканеспецифичности) и по сигналингу, а также по способности взаимодействовать с растворимой формой TNF α . sTNF активирует только TNFR1,

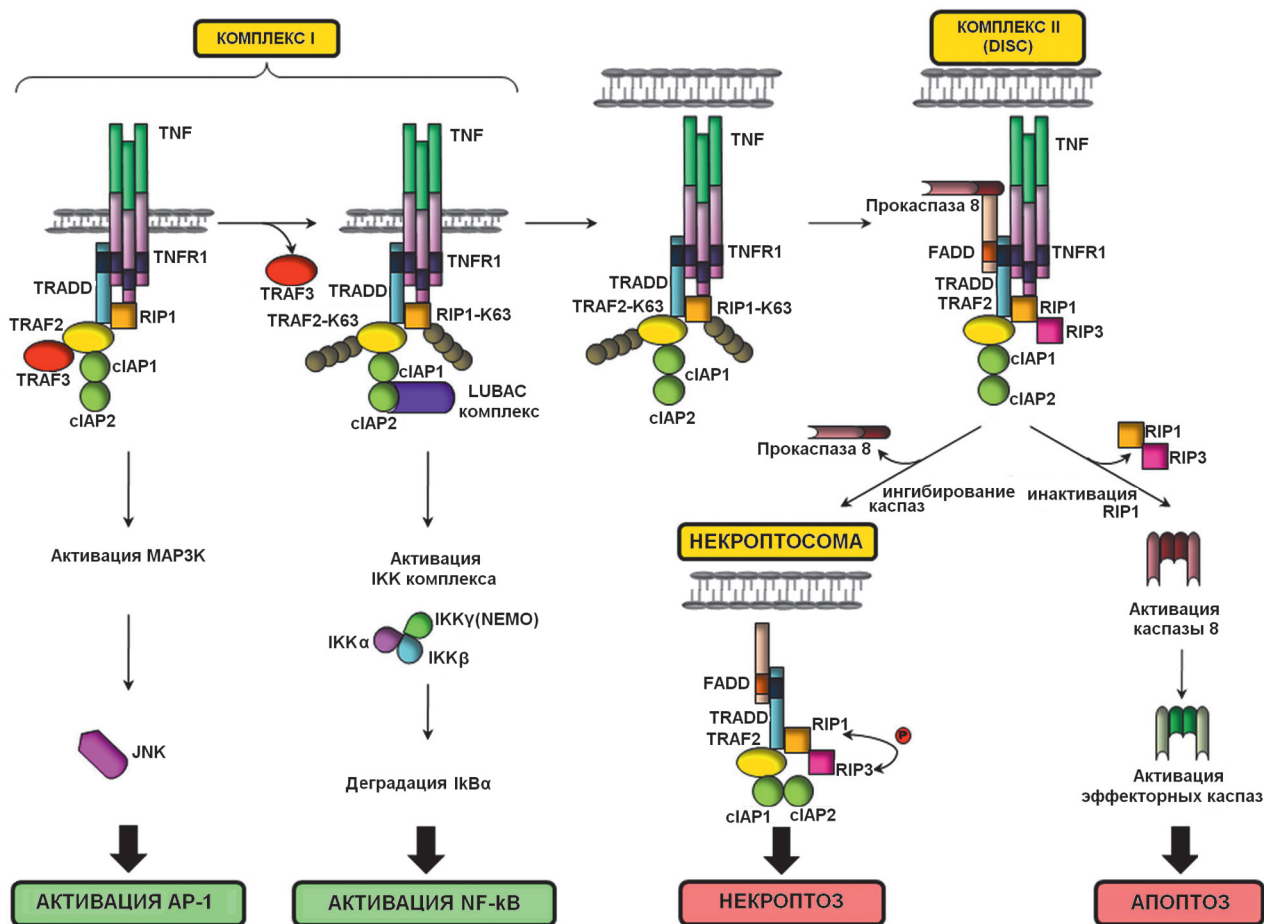


Рис. 1. Сигнальные комплексы TNFR1 [Cabal-Hierro, Lazo, 2012]

а mTNF может активировать и TNFR1, и TNFR2. Так, при присоединении TNF к TNFR1 последовательно образуются два различных сигнальных комплекса TNF-рецепторов, разделенные во времени и пространстве. Первый из них (комплекс I) контролирует экспрессию антиапоптотических белков, которые предотвращают запуск процессов клеточной гибели, тогда как второй комплекс (комплекс II, или DISC (death inducing signalling complex)) запускает процессы клеточной гибели после интернализации рецептора [Cabal-Hierro, Lazo, 2012] (рис. 1).

После связывания TNF с TNFR2 происходит его тримеризация, за которой следует прямое взаимодействие с TRAF2, а также с TRAF1, TRAF3, cIAP1 и cIAP2 через их связь с TRAF2 (рис. 2). TRAF2 действует как ключевой медиатор в сигнализации TNFR2, что приводит к транскрипционной активации генов, связанных с клеточной пролиферацией и выживанием. Так как TRAF2 является основным адаптерным белком, ответственным за сигналы, вызываемые TNFR2, его деградация оказывает регулируемую роль в биологической активности рецептора. Хотя TNFR2 сам по себе не является

рецептором смерти, поскольку он не содержит домен смерти, его активация может привести к гибели некоторых типов клеток, таких как клеточная линия PC60 [Depuydt et al., 2005]. TNFR2 вовлечен в индукцию апоптоза CD8+ клеток различными агентами [Alexander-Miller et al., 1998; Herbein et al., 1998; Kim, Teh, 2001].

Некоторые исследования указывают на наличие функциональных взаимодействий между TNFR1 и TNFR2, в которых TNFR2 может выступать в качестве энхансера (усилителя) цитотоксического эффекта TNFR1. При активации апоптоза FAS лигандом затрагиваются оба типа рецепторов (TNFR1 и TNFR2). Взаимодействие TRAF2 (а также антиапоптотических белков cIAP1 и cIAP2) с TNFR1 ингибирует способность этого рецептора к индукции гибели клеток. Когда TNFR1 и TNFR2 активируются одновременно, TNFR2 вызывает деградацию TRAF2, тем самым предотвращая связывание cIAP1 и cIAP2 с TNFR1, поэтому усиливается апоптотическая способность этого рецептора [Cabal-Hierro, Lazo, 2012]. Таким образом, биологические эффекты при активации одного и того же набора рецепторов разнообразны.

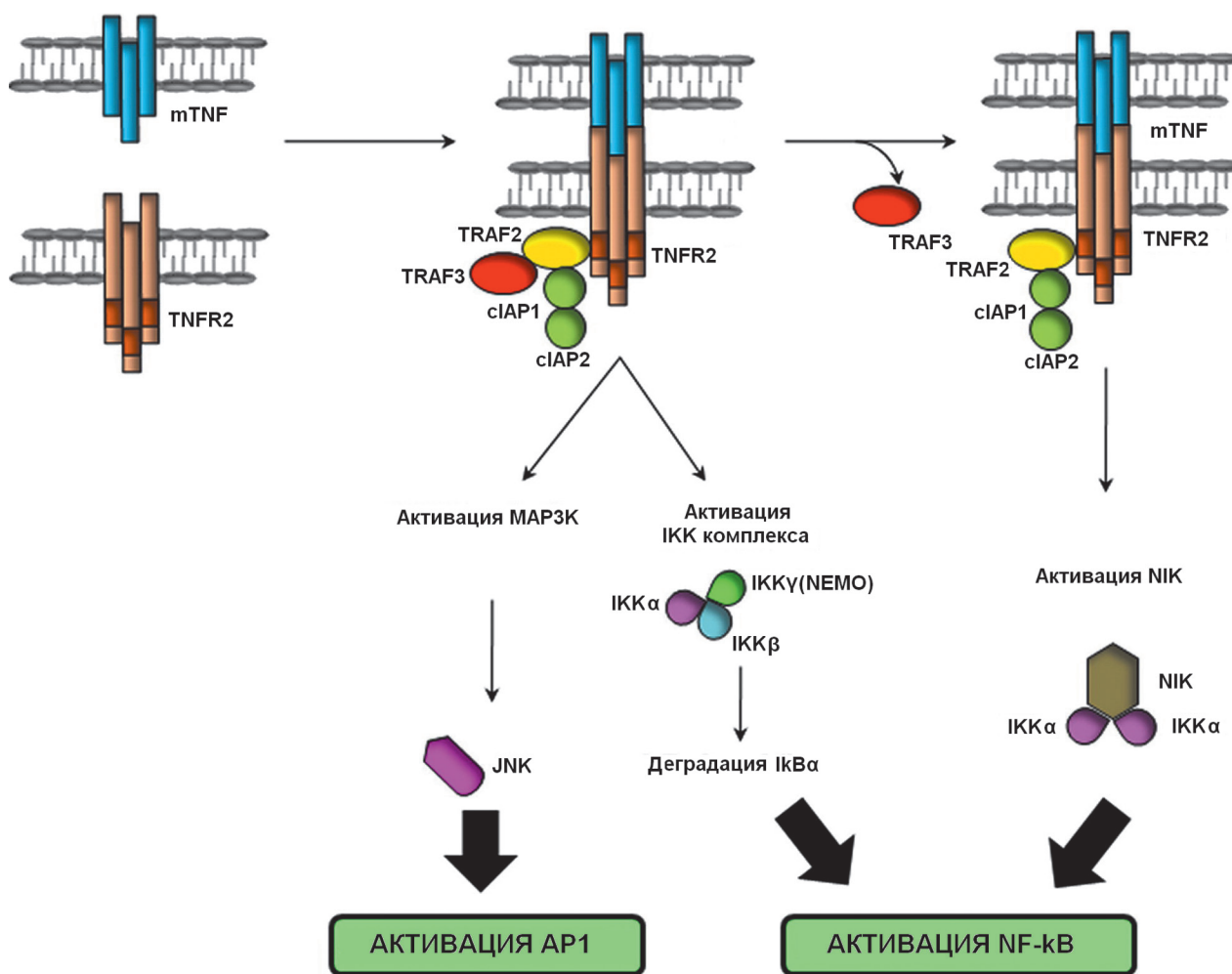


Рис. 2. Передача сигнала с помощью TNFR2 [Cabal-Hierro, Lazo, 2012]

В зависимости от количественного баланса между апоптотическими и антиапоптотическими сигналами можно наблюдать либо пролиферацию клеток, либо их гибель. В связи с этим TNFR могут играть защитную роль при воспалении, аутоиммунных заболеваниях и иммунной защите, а также участвовать в патогенезе некоторых заболеваний.

Большую роль в определении сигнальных путей от TNF-рецепторов играет баланс между мембраносвязанными и растворимыми формами рецепторов. Растворимые формы рецепторов образуются в результате шеддинга, или отщепления внеклеточных доменов рецепторов. В небольшой концентрации они обнаружены в сыворотке и моче здоровых людей. Повышение уровня растворимых рецепторов TNF можно наблюдать в сыворотке или плазме при патологических состояниях, например при ревматоидном артрите, почечной недостаточности, сердечно-сосудистых заболеваниях [Safranow et al., 2009; Schulz et al., 2014; Pavkov et al., 2015]. У пациентов с НАСГ также

обнаруживается повышенное по сравнению со здоровыми людьми содержание растворимых TNFR [Hui et al., 2004; Tokushige et al., 2007]. Механизмы индукции шеддинга рецепторов TNF установлены не до конца. Возможно, стимулы, которые вызывают рост уровня TNF, также вызывают шеддинг рецепторов TNF. Так, известно, что CD8⁺ T-клетки регулируют TNFR2 сигналинг через снижение уровня этих рецепторов на поверхности клеток и увеличение растворимых форм посредством эктодоменного шеддинга [DeBerge et al., 2015]. Предполагают, что важную роль в этом процессе играет металлопротеиназа ADAM-17, которая экспрессируется в активированных CD8⁺ T-клетках [DeBerge et al., 2015]. Физиологическая роль растворимых рецепторов TNF не выяснена. Известно, что оба типа растворимых рецепторов могут связывать TNF *in vitro* и ингибировать его биологическую активность, конкурируя с рецепторами связывания TNF на поверхности клеток. Поэтому было высказано предположение, что шеддинг рецепторов в ответ на повышение

уровня TNF может служить механизмом связывания и ингибирования TNF, чтобы он не мог сразу связаться с поверхностными рецепторами, тем самым ограничивая воспалительный ответ [Weifeng et al., 2016]. При низкой концентрации TNF его связывание с растворимыми рецепторами может стабилизировать этот цитокин и усилить некоторые его эффекты. Получены свидетельства участия растворимых форм рецепторов TNFR в патогенезе ряда заболеваний, в том числе и заболеваний печени [Marinos et al., 1995]. Предполагается, что TNFR1-рецепторы участвуют в развитии процессов апоптоза и фиброза в печени [Tarrats et al., 2011]. TNFR2-рецепторы, по мнению некоторых авторов, оказывают иммуномодулирующий эффект и их уровень отражает степень иммунного ответа [Tarrats et al., 2011]. Уровень растворимых TNFR1 в периферической вене отражает тяжесть воспаления в печени при хроническом гепатите С [Cubillas et al., 2010], алкогольном повреждении печени [Naveau et al., 2001] и метаболических расстройствах [Lin et al., 2004]. У пациентов с циррозом содержание этих рецепторов в печеночных венах коррелирует с портальным выходом эндотоксинов [Trebicka et al., 2011]. В связи с этим уровни растворимых рецепторов TNFR1 и TNFR2 предлагается использовать в клинике как маркеры тяжести заболеваний и прогностические показатели [Tokushige et al., 2007]. Например, показано, что у пациентов с циррозом печени хороший прогноз относительно смертности связан с повышенным содержанием в плазме растворимых TNFR2-рецепторов [Grunhage et al., 2008]. Содержание растворимых TNFR может быть использовано также как маркер эффективности лечения иммуномодулирующими препаратами пациентов с заболеваниями печени, в частности вирусным гепатитом С [Zekri et al., 2007]. Однако связан ли повышенный уровень этих рецепторов с тяжестью НАЖБП, пока не ясно. Так, в работе Hui с соавторами не было обнаружено различий в содержании растворимых TNFR2 у пациентов с диагнозами стеатоз и неалкогольный стеатогепатит [Hui et al., 2004], тогда как другими авторами выявлено повышение уровня экспрессии этих белков в печени и плазме крови больных НАСГ по сравнению с пациентами со стеатозом [Crespo et al., 2001; Tokushige et al., 2007].

Полиморфизм генов рецепторов цитокинов и НАЖБП

Уровень sTNFR может определяться не только развитием воспаления при ряде

патологий, но и наличием мутаций в определенных областях кодирующих их генов. В настоящее время известно несколько полиморфизмов генов *TNFR1* и *TNFR2*, влияющих на содержание мембраносвязанных и растворимых форм рецепторов.

Так, например, Glossop с соавторами [2005] изучали влияние полиморфизмов *TNFRSF1A* +36A>G и *TNFRSF1B* -676T>G на уровень растворимых рецепторов у пациентов, страдающих ревматоидным артритом. В ходе исследования не было установлено существенных различий между сывороточным уровнем двух типов sTNFR и тремя генотипами по +36A>G маркеру гена *TNFRSF1A* у пациентов на раннем этапе развития болезни и у пациентов с установившимся ревматоидным артритом. Однако уровни sTNFR1 и sTNFR2 существенно различались у лиц с разными генотипами по -676T>G маркеру гена *TNFRSF1B* (TT>TG>GG) [Glossop et al., 2005]. Обнаружено, что носители TT генотипа по -609G>T полиморфному маркеру гена *TNFRSF1A* (rs4149570) имеют более низкий уровень растворимых sTNFR1 по сравнению с носителями GG генотипа [Sennikov et al., 2014]. А у носителей CC генотипа по -1207C>T (rs4149569) полиморфному маркеру уровень мембраносвязанных рецепторов на интактных CD14 моноцитах оказался ниже, чем у носителей GC генотипа. У доноров, имеющих CC генотип по -3609C>T маркеру гена *TNFRSF1B*, наблюдали более низкое содержание CD14 клеток, экспрессирующих TNFR2, по сравнению с носителями CT генотипа.

Среди всех однонуклеотидных полиморфизмов по генам рецепторов TNF (а их порядка 200 для гена *TNFRSF1A* и 250 для гена *TNFRSF1B* – по данным базы dsSNP NCBI) наиболее изученными в отношении их связи с развитием воспалительных заболеваний являются полиморфизмы: rs767455 в позиции +36A>G, -609G>T (rs4149570), -383A>C (rs2234649) и -580A>G гена *TNFRSF1A*. Что касается гена *TNFRSF1B*, то наибольшее количество работ посвящено изучению полиморфизма M196R (T676G, rs1061622), который ассоциирован с изменением уровня TNFα в плазме крови [Glossop et al., 2005]. Чаще всего изучают ассоциацию данных полиморфизмов с развитием таких заболеваний, как ревматоидный артрит, системная красная волчанка, болезнь Крона и другие. Следует отметить, что работ, посвященных роли полиморфизма этих генов в развитии заболеваний печени, крайне мало. Имеются сведения о связи rs1800693 гена *TNFRSF1A* с развитием билиарного цирроза у белокожих европейцев [Liu et al., 2010;

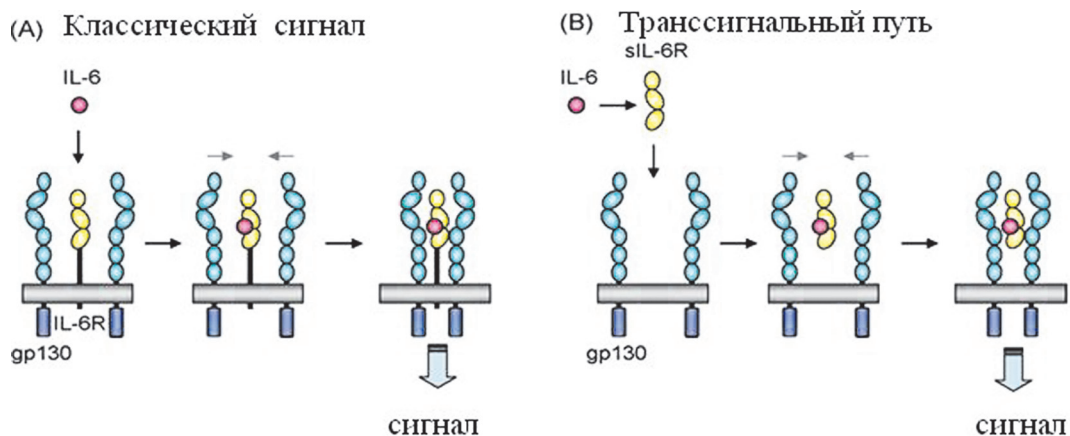


Рис. 3. IL6 сигнальные пути [Mitsuyama et al., 2006]

Mells et al., 2011], а также с чувствительностью к гепатиту С [Saito et al., 2004]. Показано, что сочетанное действие замен 587T>G в гене *TNFRSF1B* и -238G>A в гене *TNF* может повышать риск развития алкогольной болезни печени [Machado et al., 2009]. Замена гуанина на тимин в позиции -329 гена *TNFRSF1A* (rs4149570) приводит к снижению экспрессии TNFR1 и ассоциирована с развитием гепатоцеллюлярной карциномы [Kim et al., 2008]. Также rs1061622 гена *TNFRSF1B*, возможно, связан с ГЦК [Wang et al., 2005]. Что касается данных по ассоциации полиморфных вариантов генов рецепторов цитокинов с развитием НАЖБП, такие сведения практически отсутствуют в литературе.

Комплекс рецепторов, опосредующих биологическую активность IL6, состоит из трансмембранного гликопротеина 1 типа, названного IL6R (или CD126, GP80), и трансмембранного белка – переносчика сигнала 1 типа GP130 (CD130) (рис. 3).

В клетках-мишенях IL6 в первую очередь связывается с мембраносвязанным несигнальным α -рецептором IL6R (mbIL6R). Этот комплекс затем связывается с двумя молекулами GP130, что приводит к передаче сигнала, которая включает активацию JAK/STAT, ERK и PI3 K сигнальных путей. Помимо этого IL6 способен связываться с растворимыми sIL6R рецепторами [Mitsuyama et al., 2006].

Интересно отметить, что только некоторые типы клеток экспрессируют IL6R на поверхности клетки. Этими клетками являются макрофаги, нейтрофилы, некоторые типы Т-клеток и гепатоциты. В отличие от IL6R GP130 экспрессируется повсеместно. Если активация клеток, экспрессирующих только GP130, происходит с помощью IL6/sIL6R комплекса, то этот путь сигналинга называется трансигнальным путем, а если активация этих же клеток осуществляется через формирование комплекса

mbIL6R/IL6, то этот сигнальный путь называется классическим сигнальным путем (рис. 3).

Образование комплекса IL6/IL6R/GP130 запускает активацию последующих сигнальных путей. Активация Ras митоген-активируемых протеинкиназ (MAPKs) опосредует фосфорилирование и активацию ядерного фактора С/ЕВР β , который связывается с IL6-чувствительным элементом промоторов генов острой фазы, что приводит к индукции выработки белков острой фазы. Комплекс IL6/IL6R/GP130 также активирует Janus киназы (JAK), такие как JAK-1, JAK-2, и тирозинкиназу 2, а также транскрипционные факторы, такие как переносчики сигналов и активаторы транскрипции (signal transducers and activators of transcription) STAT1 и STAT3, и фермент фосфатидинозитол-3-киназу (PI3 K). Перемещение активированных STAT к ядру опосредует регуляцию большого числа генов, в то время как активированная PI3 K, в свою очередь, активирует серин/треонин киназы, в том числе протеинкиназу В/АКТ [Mitsuyama et al., 2006].

Из указанного выше понятно, что растворимые формы IL6R выступают как усилители биологического эффекта IL6.

Активация GP130 трансигнальным путем имеет решающее значение для перемещения лимфоцитов в воспаленные области. Трансигнальный путь, опосредующий действие IL6, играет ключевую роль в развитии некоторых аутоиммунных заболеваний и воспалений, включая астму [Doganci et al., 2005], ревматоидный артрит [Kotake et al., 1996], хронические воспалительные заболевания кишечника [Atreya et al., 2000], некоторые типы рака (множественная миелома) [Becker et al., 2004; Stephens et al., 2012] и перитонит [Hurst et al., 2001].

Гепатоциты и кроветворные клетки являются основными источниками sIL6R, обнаруженными в кровотоке [Sheller et al., 2011].

Об этом свидетельствует тот факт, что у мышей с нокаутированным геном *Il6r* в гепатоцитах сывороточный уровень sIL6R был на 32 % ниже, чем у мышей дикого типа [Mitsuyama et al., 2006]. Нокаут гена *IL6R* в кроветворных клетках привел к редукции сывороточного уровня sIL6R на 60 % [McFarland-Mancini et al., 2010].

Уровень мембраносвязанных и растворимых форм IL6R изменяется в плазме крови больных различными заболеваниями, например, у ВИЧ-инфицированных людей, у больных ревматоидным артритом [Honda et al., 1992]. При хронических заболеваниях печени, вызванных излишним потреблением алкоголя или вирусом гепатита С, происходит изменение содержания растворимых и мембраносвязанных форм IL6R в плазме крови [Lemmers et al., 2009]. Так, Lemmers с соавторами наблюдали повышение уровня растворимого GP130, но не sIL6R, в плазме больных людей [Lemmers et al., 2009]. Авторы обнаружили, что уровень IL6R в плазме снижался по мере усиления фиброза печени, а увеличение содержания IL6 ассоциировалось со снижением экспрессии мРНК гена *IL6R* в печени. Было выдвинуто предположение, что sGP130 действует как основной негативный регулятор IL6-трансигнального пути. Растворимый GP130 ингибирует взаимодействие IL6/sIL6R комплекса с мембранным GP130, предотвращая активацию последующего внутриклеточного каскада. IL6/GP130 путь считается протекторным в отношении тяжести фиброза в непаренхимальных клетках печени [Streetz et al., 2003]. Soresi с соавторами не обнаружил различий в уровне sIL6R в плазме здоровых людей и пациентов с циррозом печени [Soresi et al., 2006]. Существенное повышение содержания этой формы рецептора IL6 авторы выявили у больных с гепатокарциномой на III стадии.

Так же как и в случае с TNFR рецепторами, содержание растворимых и мембраносвязанных форм IL6R может определяться не только активацией иммунной системы при ряде патологических состояний, но и зависеть от полиморфизма гена *IL6R*.

Две изоформы sIL6R, идентифицированные в плазме крови здоровых индивидуумов, генерируются при помощи различных механизмов [Muller-Newen et al., 1996; Jones et al., 2001]. Считается, что основная часть sIL6R продуцируется посредством процесса шеддинга, при котором происходит протеолитическое расщепление mbIL6R и последующий выход лиганд-связывающего эктодомена во внеклеточное пространство [Müllberg et al., 1993]. Вторая изоформа продуцируется через трансляцию альтернативно спайсированной

мРНК, у которой отсутствует последовательность из 94 пар оснований, кодирующая часть трансмембранного домена, которая заякоривает рецептор на мембране клеток [Lust et al., 1992; Horiuchi et al., 1994]. На процесс шеддинга влияет несинонимическая мутация Asp358Ala, или rs2228145 (A>C), ранее известная как rs8192284, которая происходит внутри области, кодирующей сайт протеолитического расщепления, в экзоне 9 гена *IL6R*, на хромосоме 1q21.3 [Müllberg et al., 1994]. Этот SNP является причиной сильного различия в концентрации IL6R у носителей различных аллелей, при этом для носителей минорного аллеля (C) характерны пониженные концентрации mbIL6R и повышенные концентрации sIL6R [Galicia et al., 2004; Rafiq et al., 2007; Melzer et al., 2008; Lourdusamy et al., 2012; Ferreira et al., 2013]. Хотя некоторые предыдущие исследования не обнаружили ассоциацию rs2228145 с экспрессией мРНК IL6R [IL6R..., 2012] или экспрессией транскриптов РНК, кодирующих mbIL-6R [Ferreira et al., 2013], была обнаружена позитивная ассоциация С аллеля rs2228145 с уровнем экспрессии альтернативно сплайсированных мРНК [Stephens et al., 2012; Ferreira et al., 2013].

Van Dongen с соавторами [2014] показали, что полиморфизм в области гена *IL6R* на хромосоме 1 объясняет 69 % вариаций в уровне sIL6R, из которых 19 % обусловлены генетическими вариантами, отличными от rs2228145. 20 % вариаций обеспечивает rs4537545, при этом у носителей ТТ генотипа по данному SNP уровень sIL6R в два раза выше, чем у носителей СС генотипа [Rafiq et al., 2007]. Было показано, что однонуклеотидные замены в 3'-нетранслируемой области гена *IL6R* ответственны за содержание его транскриптов в клетках и уровень sIL6R в плазме крови. Galicia с соавторами [2004] продемонстрировали, что у носителей минорного аллеля Asp358Ala наблюдается увеличение сывороточного уровня IL6R. В работе Bank с соавторами показано, что у носителей ТТ генотипа по полиморфному маркеру гена *IL6R* (rs4537545) повышен уровень IL6 и IL6R, но не уровень TNF α [Bank et al., 2014].

Мутации в гене *IL6R* связаны с риском развития полигенных заболеваний, сопровождающихся воспалением [Ferreira et al., 2013], в том числе и с развитием НАЖБП [Курбатова и др., 2016a]. Однако работ по генетической предрасположенности носителей разных полиморфных вариантов гена *IL6R* к НАЖБП очень мало. Показано снижение риска развития гепатоцеллюлярной карциномы, индуцированной вирусом гепатита В, у носителей ТТ генотипа по полиморфному маркеру rs6684439 гена *IL6R* [Deng et al., 2014].

Исходя из изложенного выше, можно заключить, что вопрос о соотношении вклада генетических детерминант и факторов среды в развитие воспаления при НАЖБП остается нерешенным и сохраняет свою актуальность в силу значимости провоспалительных цитокинов и их рецепторов в этиологии и патогенезе НАЖБП. Расширение представления о связи генетических факторов, в том числе полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов, с развитием неалкогольной жировой болезни печени позволит оценить вклад полиморфизма этих генов в механизмы апоптоза, некроза, воспаления и фиброза при НАЖБП. Выявление новых перспективных полиморфных маркеров генов цитокинов и их рецепторов для оценки индивидуальных рисков развития НАЖБП имеет большое значение для коррекции медикаментозного лечения и профилактики осложнений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета (тема № 0221-2014-0034) и при поддержке стипендии Президента РФ для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики на 2015–2017 гг.

Литература

Висмонт Ф. И. Воспаление (патофизиологические аспекты): Уч. метод. пособие. Мн.: БГМУ, 2006. 48 с.

Герасимова О. Н., Сигалович Е. У., Данковцева Е. Н., Наконечников С. Н., Никитин А. Г., Иванова З. В., Масенко В. П., Носиков В. В., Затейщиков Д. А. Связь носительства аллеля А полиморфного маркера G(-238)А гена TNF- α с неблагоприятным прогнозом у больных с хронической систолической сердечной недостаточностью // Кардиология. 2015. Т. 55, № 9. С. 25–30.

Курбатова И. В., Дуданова О. П., Топчиева Л. В. Роль полиморфизма rs4537545 (C>T) гена IL6R в развитии неалкогольного стеатогепатита // Медицинский академический журнал. 2016а. Т. 16, № 3. С. 144–147.

Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Дуданова О. П. Экспрессия генов каспаз 3, 6, 8 и 9 в лейкоцитах периферической крови и концентрация IL-6 и TNF- α в плазме крови у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру -174G>C гена IL6, ассоциированному с риском развития неалкогольного стеатогепатита // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016б. Т. 162, № 9. С. 356–361.

Abiru S., Migita K., Maeda Y. et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis // Liver Int. 2006. Vol. 26. P. 39–45. doi: 10.1111/j.1478–3231.2005.01191.x

Alexander-Miller M. A., Derby M. A., Sarin A. et al. Supraoptimal peptide-major histocompatibility complex causes a decrease in Bcl-2 levels and allows tumor necrosis factor alpha receptor II-mediated apoptosis of cytotoxic T lymphocytes // J. Exp. Med. 1998. Vol. 188. P. 1391–1399.

Aller R., de Luis D. A., Izaola O. et al. G308A polymorphism of TNF-alpha gene is associated with insulin resistance and histological changes in non alcoholic fatty liver disease // Ann. Hepatol. 2011. Vol. 9. P. 439–444.

Atreya R., Mudter J., Finotto S. et al. Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against apoptosis in chronic intestinal inflammation: evidence in crohn disease and experimental colitis in vivo // Nat. Med. 2000. Vol. 6. P. 583–588.

Bank S., Skytt Andersen P., Burisch J. et al. Polymorphisms in the Inflammatory Pathway Genes TLR2, TLR4, TLR9, LY96, NFKBIA, NFKB1, TNFA, TNFRSF1A, IL6R, IL10, IL23R, PTPN22, and PPARG Are Associated with Susceptibility of Inflammatory Bowel Disease in a Danish Cohort // PLoS ONE. 2014. Vol. 9. e98815. doi: 10.1371/journal.pone.0098815

Becker C., Fantini M. C., Schramm C. et al. TGF-beta suppresses tumor progression in colon cancer by inhibition of IL-6 trans-signaling // Immunity. 2004. Vol. 21. P. 491–501.

Bernstein L. E., Berry J., Kim S. et al. Effects of etanercept in patients with the metabolic syndrome // Arch. Intern. Med. 2006. Vol. 166. P. 902–908.

Bodmer J.-L., Schneider P., Tschopp J. The molecular architecture of the TNF superfamily // Trends Biochem. Sci. 2002. Vol. 27. P. 19–26.

Braunersreuther V., Viviani G. L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease // World Journal of Gastroenterology. 2012. Vol. 18. P. 727–735.

Brito H. O., Barbosa F. L., dos Reis R. C. et al. Evidence of substance P autocrine circuitry that involves TNF- α , IL-6, and PGE₂ in endogenous pyrogen-induced fever // J. Neuroimmun. 2016. Vol. 293. P. 1–7.

Bruun J. M., Verdich C., Toubro S. et al. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men // Eur. J. Endocrinol. 2003. Vol. 148. P. 535–542.

Cabal-Hierro L., Lazo P. S. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors // Cellular Signalling. 2012. Vol. 24. P. 1297–1305. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.02.006

Carulli L., Canedi I., Rondinella S. et al. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphism is associated with non-alcoholic steatohepatitis // Dig. Liver Dis. 2009. Vol. 41. P. 823–828. doi: 10.1016/j.dld.2009.03.005

Cengiz M., Yasar D. G., Ergun M. A. et al. The role of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis // Hepat. Mon. 2014. Vol. 14, no. 12: e24635. doi: 10.5812/hepatmon.24635

Chen D., Liu J. L., Liu Y. et al. Lack of an association between -308G>A polymorphism of the TNF- α gene and liver cirrhosis risk based on a meta-analysis // Genet. Mol. Res. 2011. Vol. 10. P. 2765–2774. doi: 10.4238/2011.November.8.2

- Chen W., Xu H., Wang X. et al. The tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B polymorphisms predict response to anti-TNF therapy in patients with autoimmune disease // *International Immunopharmacology*. 2015. Vol. 28. P. 146–153.
- Chowdhury S. D., Ramakrishna B., Eapen C. E. et al. Fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: correlation with tumor necrosis factor-alpha polymorphisms // *Tropical Gastroenterology*. 2013. Vol. 34, no. 1. P. 31–35.
- Copaci I., Micu L., Voiculescu M. The role of cytokines in non-alcoholic steatohepatitis. A review // *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*. 2006. Vol. 15, no. 4. P. 363–373.
- Crespo J., Cayón A., Fernández-Gil P. et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients // *Hepatology*. 2001. Vol. 34. P. 1158–1163.
- Cressman D. E., Greenbaum L. E., DeAngelis R. A. et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice // *Science*. 1996. Vol. 274. P. 1379–1383.
- Cubillas R., Kintner K., Phillips F. et al. Tumor necrosis factor receptor 1 expression is upregulated in dendritic cells in patients with chronic HCV who respond to therapy // *Hepat. Res. Treat.* 2010: 429243. doi: 10.1155/2010/429243
- Czaja A. J. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease // *World J. Gastroenterol.* 2014. Vol. 20. P. 2515–2532. doi: 10.3748/wjg.v20.i10.2515
- Dandona P., Weinstock R., Thusu K. et al. Tumor necrosis factor-alpha in sera of obese patients: fall with weight loss // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998. Vol. 83. P. 2907–2910.
- DeBerge M. P., Ely K. H., Wright P. F. et al. Shedding of TNF receptor 2 by effector CD8⁺ T cells by ADAM17 is important for regulating TNF- α availability during influenza infection // *J. Leukoc. Biol.* 2015. Vol. 98. P. 423–434. doi: 10.1189/jlb.3A0914-432RR
- Deng Y., Li M., Wang J. et al. Susceptibility to hepatocellular carcinoma in the Chinese population – associations with interleukin-6 receptor polymorphism // *Tumor Biol.* 2014. Vol. 35. P. 6383–6388. doi: 10.1007/s13277-014-1863-7
- Depuydt B., Van Loo G., Vandenaabeele P., Declercq W. Induction of apoptosis by TNF receptor 2 in a T-cell hybridoma is FADD dependent and blocked by caspase-8 inhibitors // *J. Cell Sci.* 2005. Vol. 118. P. 497–504. doi: 10.1242/jcs.01640
- Doganci A., Eigenbrod T., Krug N. et al. The IL-6R alpha chain controls lung CD4⁺CD25⁺ Treg development and function during allergic airway inflammation in vivo // *J. Clin. Invest.* 2005. Vol. 115. P. 313–325.
- El-Assal O., Hong F., Kim W. H. et al. IL-6-deficient mice are susceptible to ethanol-induced hepatic steatosis: IL-6 protects against ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial permeability transition in the liver // *Cell Mol. Immunol.* 2004. Vol. 1. P. 205–211.
- Fernández-Real J. M., Broch M., Vendrell J. et al. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000. Vol. 85, no. 3. P. 1334–1339.
- Ferreira R. C., Freitag D. F., Cutler A. J. Functional IL6R 358Ala allele impairs classical IL-6 receptor signaling and influences risk of diverse inflammatory disease // *Plos Genetics*. 2013. Vol. 9, no. 4. e1003444. doi: 10.1371/journal.pgen.1003444
- Fishman D., Faulds G., Jeffery R. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin 6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis // *J. Clin. Invest.* 1998. Vol. 102. P. 1369–1376.
- Fitzpatrick E., Dew T. K., Quaglia A. et al. Analysis of adipokine concentrations in paediatric non-alcoholic fatty liver disease // *Pediatr. Obes.* 2012. Vol. 7. P. 471–479. doi: 10.1111/j.2047-6310.2012.00082.x
- Galicia J. C., Tai H., Komatsu Y. et al. Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced // *Genes. Immun.* 2004. Vol. 5. P. 513–516.
- Gaur U., Aggarwal B. B. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily // *Biocem. Pharmac.* 2003. Vol. 66. P. 1403–1408.
- Giannitrapani L., Soresi M., Giacalone A. et al. IL-6–174G/C polymorphism and IL-6 serum levels in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma // *OMICS*. 2011. Vol. 15. P. 183–186. doi: 10.1089/omi.2010.0093
- Glossop J. R., Dawes P. T., Nixon N. B., Matley D. L. Polymorphism in the tumour necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis // *Arthritis Research & Therapy*. 2005. Vol. 7. P. 1227–1234. doi: 10.1186/ar1816
- Grunhage F., Rezori B., Neef M. et al. Elevated soluble tumor necrosis factor receptor 75 concentrations identify patients with liver cirrhosis at risk of death // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008. Vol. 6. P. 1255–1262. doi: 10.1016/j.cgh.2008.06.018
- Haukeland J. W., Damås J. K., Konopski Z. et al. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2 // *J. Hepatol.* 2006. Vol. 44. P. 1167–1174. doi: 10.1016/j.jhep.2006.02.011
- Herbein G., Mahlknecht U., Battliwalla F. et al. Apoptosis of CD8⁺ T cells is mediated by macrophages through interaction of HIV gp120 with chemokine receptor CXCR4 // *Nature*. 1998. Vol. 395. P. 189–194.
- Honda M., Yamamoto S., Cheng M. et al. Human soluble IL-6 receptor: its detection and enhanced release by HIV infection // *J. Immunol.* 1992. Vol. 148. P. 2175–2180.
- Horiuchi S., Koyanagi Y., Zhou Y. et al. Soluble interleukin-6 receptors released from T cell or granulocyte/macrophage cell lines and human peripheral blood mononuclear cells are generated through an alternative splicing mechanism // *Eur. J. Immunol.* 1994. Vol. 24. P. 1945–1948.
- Hotamisligil G. S., Arner P., Caro J. F. et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance // *J. Clin. Invest.* 1995. Vol. 95. P. 2409–2415.
- Hu Z. W., Luo H. B., Xu Y. M. et al. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver diseases // *Acta Gastroenterol Belg.* 2009. Vol. 72. P. 215–221.

- Hui J. M., Hodge A., Farrell G. C. et al. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? // *Hepatology*. 2004. Vol. 40. P. 46–54.
- Hurst S. M., Wilkinson T. S., McLoughlin R. M. et al. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation // *Immunity*. 2001. Vol. 14. P. 705–714.
- IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies // *Lancet*. 2012. Vol. 379. P. 1205–1213. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61931-4
- Jones S. A., Horiuchi S., Topley N. et al. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease // *FASEB J*. 2001. Vol. 15. P. 43–58.
- Karimi M., Goldie L. C., Cruickshank M. N. et al. A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system // *Eur. J. Hum. Genet*. 2009. Vol. 17. P. 1454–1462. doi: 10.1038/ejhg.2009.80
- Kidane D., Chae W. J., Czochor J. et al. Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*. 2014. Vol. 49, no. 2. P. 116–139. doi: 10.3109/10409238.2013.875514
- Kim E. Y., Teh H. S. TNF type 2 receptor (p75) lowers the threshold of T cell activation // *J. Immunol*. 2001. Vol. 167. P. 6812–6820.
- Kim S., Moon S. M., Kim Y. S. et al. TNFR1 promoter -329G/T polymorphism results in allele-specific repression of TNFR1 expression // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2008. Vol. 368. P. 395–401. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.01.098
- Kopp H. P., Kopp C. W., Festa A. et al. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2003. Vol. 23. P. 1042–1047.
- Kotake S., Sato K., Kim K. J. et al. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation // *J. Bone Miner. Res*. 1996. Vol. 11. P. 88–95. doi: 10.1002/jbmr.5650110113
- Kugelmas M., Hill D. B., Vivian B. et al. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E // *Hepatology*. 2003. Vol. 38. P. 413–419.
- Leite N. C., Salles G. F., Cardoso C. R., Villela-Nogueira C. A. Serum biomarkers in type 2 diabetic patients with nonalcoholicsteatohepatitis and advanced fibrosis // *Hepatology*. 2013. Vol. 43. P. 508–515. doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.01106.x
- Lemmers A., Gustot T., Durnez A. et al. An inhibitor of interleukin-6 trans-signalling, sgp130, contributes to impaired acute phase response in human chronic liver disease // *Clin. Exp. Immunol*. 2009. Vol. 156. P. 518–527. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.03916x
- Lesmana C. R., Hasan I., Budihusodo U. et al. Diagnostic value of a group of biochemical markers of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis // *J. Dig. Dis*. 2009. Vol. 10. P. 201–206. doi: 10.1111/j.1751-2980.2009.00386.x
- Lin S. Y., Wang Y. Y., Sheu W. H. Increased serum soluble tumor necrosis factor receptor levels are associated with insulin resistance in liver cirrhosis // *Metabolism*. 2004. Vol. 53. P. 922–926.
- Liu X., Invernizzi P., Lu Y. et al. Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis // *Nat. Genet*. 2010. Vol. 42. P. 658–660.
- Locksley R. M., Killeen N., Lenardo M. J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology // *Cell*. 2001. Vol. 104. P. 487–501.
- Lourdusamy A., Newhouse S., Lunnnon K. et al. Identification of cis-regulatory variation influencing protein abundance levels in human plasma // *Hum. Mol. Genet*. 2012. Vol. 21. P. 3719–3726. doi: 10.1093/hmg/dds186
- Lust J. A., Donovan K. A., Kline M. P. et al. Isolation of an mRNA encoding a soluble form of the human interleukin-6 receptor // *Cytokine*. 1992. Vol. 4. P. 96–100.
- MacEwan D. J. TNF ligands and receptor – a matter of life and death // *Br. J. Pharmacol*. 2002. Vol. 135. P. 855–875. doi: 10.1038/sj.bjp.0704549
- Machado M. V., Martins A., Almeida R. et al. Does the simultaneous tumor necrosis factor receptor 2, tumor necrosis factor promoter gene polymorphism represent a higher risk for alcoholic liverdisease? // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. 2009. Vol. 21. P. 201–205. doi: 10.1097/MEG.0b013e32831016e0
- Marinos G., Naoumov N. V., Rossol S. et al. Tumor necrosis factor receptors in patients with chronic hepatitis B virus infection // *Gastroenterol*. 1995. Vol. 108. P. 1453–1463.
- McFarland-Mancini M. M., Funk H. M., Paluch A. M. et al. Differences in wound healing in mice with deficiency of IL-6 versus IL-6 receptor // *J. Immunol*. 2010. Vol. 184. P. 7219–7228.
- Mells G. F., Floyd J. A., Morley K. I. Genome-wide association study identifies 12 new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis // *Nat. Genet*. 2011. Vol. 43. P. 329–332. doi: 10.1038/ng.789
- Melzer D., Perry J. R., Hernandez D et al. A genome-wide association study identifies protein quantitative trait loci (pQTLs) // *PLoS Genet*. 2008. Vol. 4: e1000072. doi: 10.1371/journal.pgen.1000072
- Milner K., Van der Poorten D., Xu A. et al. Adipocyte fatty acid binding protein levels relate to inflammation and fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease // *Hepatology*. 2009. Vol. 49. P. 1926–1934.
- Mitsuyama K., Sata M., Rose-John S. Interleukin-6 trans-signaling in inflammatory bowel disease // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006. Vol. 17. P. 451–461.
- Müllberg J., Oberthur W., Lottspeich F. et al. The soluble human IL-6 receptor. Mutational characterization of the proteolytic cleavage site // *J. Immunol*. 1994. Vol. 152. P. 4958–4968.
- Müllberg J., Schooltink H., Stoyan T. et al. The soluble interleukin-6 receptor is generated by shedding // *Eur. J. Immunol*. 1993. Vol. 23. P. 473–480.
- Muller-Newen G., Kohne C., Keul R. et al. Purification and characterization of the soluble interleukin-6 receptor from human plasma and identification of an isoform generated through alternative splicing // *Eur. J. Biochem*. 1996. Vol. 236. P. 837–842.
- Naveau S., Abella A., Raynard B. et al. Tumornecrosis factor soluble receptor p55 and lipid peroxidation in

patients with acute alcoholic hepatitis // *Am. J. Gastroenterol.* 2001. Vol. 96. P. 3361–3367.

Neurath M. F., Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation-associated cancer // *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2011. Vol. 22. P. 83–89. doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.02.003

Ofei F., Hurel S., Newkirk J. et al. Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM // *Diabetes*. 1996. Vol. 45. P. 881–885.

Pavkov M. E., Nelson R. G., Knowler W. C. et al. Elevation of circulating TNF receptors 1 and 2 increases the risk of end-stage renal disease in American Indians with type 2 diabetes // *Kidney Int.* 2015. Vol. 87. P. 812–819. doi: 10.1038/ki.2014.330

Plomgaard P., Bouzakri K., Krogh-Madsen R. et al. Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy humans via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation // *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 2939–2945. doi: 10.2337/diabetes.54.10.2939

Par A., Par G. Liver fibrosis: patho-physiology, diagnosis and treatment // *Orvosi Hetilap*. 2005. Vol. 146, no. 1. P. 3–13.

Rafiq S., Frayling T. M., Murray A. et al. A common variant of the interleukin 6 receptor (IL-6r) gene increases IL-6r and IL-6 levels, without other inflammatory effects // *Genes Immun.* 2007. Vol. 8. P. 552–559.

Roth J., De Souza G. E. P. Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2001. Vol. 34. P. 301–314.

Safranow K., Dziedzic V., Rzeuski R. et al. Plasma concentrations of TNF- α and its soluble receptors sTNFR1 and TNFR2 in patients with coronary artery disease // *Tissue Antigens*. 2009. Vol. 74. P. 386–392. doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01332.x

Saito T., Ji G., Shinzawa H. et al. Genetic variations in humans associated with differences in the course of hepatitis C // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 317. P. 335–341.

Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6 // *Biochim Biophys Acta*. 2011. Vol. 1813. P. 878–888. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.01.034

Schulz M., Dotzlaw H., Neeck G. Ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis: serum levels of TNF- α and its soluble receptors during the course of therapy with etanercept and infliximab // *Biomed. Res. Int.* 2014: 675108. doi: 10.1155/2014/675108

Sennikov S. V., Vasilyev F. F., Lopatnikova J. A. et al. Polymorphisms in the tumor necrosis factor receptor genes affect the expression levels of membrane-bound type I and type II receptors // *Mediators Inflamm.* 2014: 745909. doi: 10.1155/2014/745909

Shin S. P., Kim N. K., Kim J. H. et al. Association between hepatocellular carcinoma and tumor necrosis factor alpha polymorphisms in South Korea // *World J. Gastroenterol.* 2015. Vol. 21. P. 13064–13072. doi: 10.3748/wjg.v21.146.13064

Soresi M., Giannitrapani L., D'Antona F. et al. Interleukin-6 and its soluble receptor in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma // *World J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 12. P. 2563–2568.

Stephens O. W., Zhang Q., Qu P. et al. An intermediate-risk multiple myeloma subgroup is defined by sIL-6r: levels synergistically increase with incidence of SNP rs2228145 and 1q21 amplification // *Blood*. 2012. Vol. 119. P. 503–512. doi: 10.1182/blood-2011-07-367052

Streetz K. L., Tacke F., Leifeld L. et al. Interleukin6/gp130-dependent pathways are protective during chronic liver diseases // *Hepatology*. 2003. Vol. 38. P. 218–229. doi: 10.1053/jhep.2003.50268

Sun R., Tian Z., Kulkarni S., Gao B. IL-6 prevents T cell-mediated hepatitis via inhibition of NKT cells in CD4+ T cell and STAT3-dependent manners // *J. Immunol.* 2004. Vol. 172. P. 5648–5655.

Tarrats N., Moles A., Morales A. et al. Critical role of tumor necrosis factor receptor 1, but not 2, in hepatic stellate cell proliferation, extracellular matrix remodeling, and liver fibrogenesis // *Hepatology*. 2011. Vol. 54. P. 319–327. doi: 10.1002/hep.24388

Taub R. Hepatoprotection via the IL-6/Stat3 pathway // *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 112. P. 978–980.

Tokushige K., Takakura M., Tsuchiya-Matsushita N. et al. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis // *J. Hepatol.* 2007. Vol. 46. P. 1104–1110. doi: 10.1016/j.jhep.2007.01.028

Trebicka J., Krag A., Gansweid S. et al. Endotoxin and tumor necrosis factor-receptor levels in portal and hepatic vein of patients with alcoholic liver cirrhosis receiving elective transjugular intrahepatic portosystemic shunt // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2011. Vol. 23. P. 1218–1225. doi: 10.1097/MEG.0b013e32834a75dc

Valenti L., Fracanzani A. L., Dongiovanni P. et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease // *Gastroenterology*. 2002. Vol. 122. P. 274–280.

van Dongen J., Jansen R., Smit D. et al. The contribution of the functional IL6R polymorphism rs2228145, eQTLs and other genome-wide SNPs to the heritability of plasma sIL-6R levels // *Behav. Genet.* 2014. Vol. 44. P. 368–382. doi: 10.1007/s10519-014-9656-8

Wang J., Ni H., Chen L. et al. Preparation and analysis of cSNP chip on hepatocellular carcinoma-related genes // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 2005. Vol. 4. P. 398–402.

Wang J. K., Feng Z. W., Li Y. C. et al. Association of tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphism at sites -308 and -238 with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis // *J. Gastroenterol Hepatol.* 2012. Vol. 27. P. 670–676. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06978.x

Weifeng Y., Li L., Yujie H. et al. Inhibition of acute lung injury by tnfr-fc through regulation of an inflammation-oxidative stress pathway // *PLoS One*. 2016. Vol. 11, no. 3: e0151672. doi: 10.1371/journal.pone.0151672

Wieckowska A., Papouchado B. G., Li Z. et al. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis // *Am. J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 103. P. 1372–1379. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01774.x

Yoneda M., Mawatari H., Fujita K. et al. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also

of the severity of fibrosis in NASH // *J. Gastroenterol.* 2007. Vol. 42. P. 573–582. doi: 10.1007/s00535-007-2060-x

Zekri A. R., Haleem H. A., Esmat G. E. et al. Immunomodulators, sFas and Fas-L as potential noninvasive predictors of IFN treatment in patients with HCV genotype-4 // *J. Viral. Hepatol.* 2007. Vol. 14. P. 468–477.

Zhou Y.-J., Li Y.-Y., Nie Y.-Q. et al. Influence of poly-genetic polymorphisms on the susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease of Chinese people // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2010. Vol. 25. P. 772–777. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.06144x

Поступила в редакцию 17.01.2017

References

Gerasimova O. N., Sigalovich E. U., Dankovtseva E. N., Nakonechnikov S. N., Nikitin A. G., Ivanova Z. V., Masenko V. P., Nosikov V. V., Zateishchikov D. A. Svyaz' nositel'stva allelya A polimorfного markera G(-238)A gena TNF- α s neblagopriyatnym prognozom u bol'nykh s khronicheskoi sistolicheskoi serdechnoi nedostatochnost'yu [Carriage of A allele of polymorphic marker G(-238)A of TNF- α gene is associated with unfavorable prognosis in patients with chronic systolic heart failure]. *Kardiologiya [Cardiology]*. 2015. Vol. 55, no. 9. P. 25–30.

Kurbatova I. V., Dudanova O. P., Topchieva L. V. Rol' polimorfizma rs4537545 (C>T) gena IL6R v razvitii nealkogol'nogo steatogepatita [Role of rs4537545 (C>T) polymorphism of IL6R gene in the development of the nonalcoholic steatohepatitis]. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal [Medical Acad. Journal]*. 2016a. Vol. 16, no. 3. P. 144–147.

Kurbatova I. V., Topchieva L. V., Dudanova O. P. Ekspressiya genov kaspaz 3, 6, 8 i 9 v leukotsitakh perifericheskoi krovi i kontsentratsiya IL-6 i TNF-a v plazme krovi u nositelei raznykh genotipov po polimorfnomu markeru -174G>C gena IL6, assotsirovannomu s riskom razvitiya nealkogol'nogo steatogepatita [Expression rates of the 3, 6, 8 and 9 caspase genes in peripheral blood leukocytes and the concentration of IL-6 and TNF-a in blood plasma of donors with different genotypes for the -174G>C polymorphous marker of IL6 gene associated with the risk of nonalcoholic steatohepatitis development]. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny [Bull. of Experimental Biology and Medicine]*. 2016b. Vol. 162, no. 9. P. 356–361.

Vismont F. I. Vospalenie (patofiziologicheskie aspekty). Uch.-metod. posobie [Inflammation (pathophysiological aspects)]. Minsk: BGMU, 2006. 48 p.

Abiru S., Migita K., Maeda Y. et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels inpatients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int.* 2006. Vol. 26. P. 39–45. doi: 10.1111/j.1478-3231.2005.01191.x

Alexander-Miller M. A., Derby M. A., Sarin A., Henkart P. A., Berzofsky J. A. Supraoptimal peptide-major histocompatibility complex causes a decrease in Bcl-2 levels and allows tumor necrosis factor alpha receptor II-mediated apoptosis of cytotoxic T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 1998. Vol. 188. P. 1391–1399.

Aller R., de Luis D. A., Izaola O., González Sagrado M., Conde R., Gago T. A., Pacheco D., González J. M., Velasco M. C. G308A polymorphism of TNF-alpha gene is associated with insulin resistance and histological changes in non alcoholic fatty liver disease. *Ann. Hepatol.* 2011. Vol. 9. P. 439–444.

Atreya R., Mudter J., Finotto S., Mullberg J., Jostock T., Wirtz S., Schütz M., Bartsch B., Holtmann M., Becker C., Strand D., Czaja J., Schlaak J. F., Lehr H. A., Autschbach F., Schürmann G., Nishimoto N., Yoshizaki K., Ito H., Kishimoto T., Galle P. R., Rose-John S., Neurath M. F. Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against apoptosis in chronic intestinal inflammation: evidence in crohn disease and experimental colitis in vivo. *Nat. Med.* 2000. Vol. 6. P. 583–588.

Bank S., Skytt Andersen P., Burisch J., Pedersen N., Roug S., Galsgaard J., Turino S. Y., Brodersen J. B., Rashid S., Rasmussen B. K., Avlund S., Bastholm Olesen T., Hoffmann H. J., Thomsen M. K., Thomsen V. O., Frydenberg M., Nexø B. A., Sode J., Vogel U., Andersen V. Polymorphisms in the Inflammatory Pathway Genes TLR2, TLR4, TLR9, LY96, NFKBIA, NFKB1, TNFA, TNFRSF1A, IL6R, IL10, IL23R, PTPN22, and PPARG Are Associated with Susceptibility of Inflammatory Bowel Disease in a Danish Cohort. *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9. e98815. doi: 10.1371/journal.pone.0098815

Becker C., Fantini M. C., Schramm C., Lehr H. A., Wirtz S., Nikolaev A., Burg J., Strand S., Kiesslich R., Huber S., Ito H., Nishimoto N., Yoshizaki K., Kishimoto T., Galle P. R., Blessing M., Rose-John S., Neurath M. F. TGF-beta suppresses tumor progression in colon cancer by inhibition of IL-6 trans-signaling. *Immunity*. 2004. Vol. 21. P. 491–501.

Bernstein L. E., Berry J., Kim S., Canavan B., Grinspoon S. K. Effects of etanercept in patients with the metabolic syndrome. *Arch. Intern. Med.* 2006. Vol. 166. P. 902–908.

Bodmer J.-L., Schneider P., Tschopp J. The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends Biochem. Sci.* 2002. Vol. 27. P. 19–26.

Braunersreuther V., Viviani G. L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2012. Vol. 18. P. 727–735.

Brito H. O., Barbosa F. L., dos Reis R. C., Fraga D., Borges B. S., Franco C. R., Zampronio A. R. Evidence of substance P autocrine circuitry that involves TNF- α , IL-6, and PGE₂ in endogenous pyrogen-induced fever. *J. Neuroimmun.* 2016. Vol. 293. P. 1–7.

Bruun J. M., Verdich C., Toubro S., Astrup A., Richelsen B. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men. *Eur. J. Endocrinol.* 2003. Vol. 148. P. 535–542.

Cabal-Hierro L., Lazo P. S. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cellular Signalling*. 2012. Vol. 24. P. 1297–1305. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.02.006

Carulli L., Canedi I., Rondinella S., Lombardini S., Ganazzi D., Fargion S., De Palma M., Lonardo A., Ricchi M., Bertolotti M., Carulli N., Loria P. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphisms associated with non-alcoholic steatohepatitis. *Dig. Liver Dis.* 2009. Vol. 41. P. 823–828. doi: 10.1016/j.dld.2009.03.005

Cengiz M., Yasar D. G., Ergun M. A., Akyol G., Ozenirler S. The role of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepat. Mon.* 2014. Vol. 14, no. 12: e24635. doi: 10.5812/hepatmon.24635

Chen D., Liu J. L., Liu Y., Zhu J., Wang S. W. Lack of an association between -308G>A polymorphism of the TNF- α gene and liver cirrhosis risk based on a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.* 2011. Vol. 10. P. 2765–2774. doi: 10.4238/2011. November. 8.2

Chen W., Xu H., Wang X., Gu J., Xiong H., Shi Y. The tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B polymorphisms predict response to anti-TNF therapy in patients with autoimmune disease. *International Immunopharmacology.* 2015. Vol. 28. P. 146–153.

Chowdhury S. D., Ramakrishna B., Eapen C. E., Goel A., Zachariah U. G., Chandramohan A., Pugazendhi S., Ramakrishna B. S., Kurian G. Fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: correlation with tumor necrosis factor- α polymorphisms. *Tropical Gastroenterology.* 2013. Vol. 34, no. 1. P. 31–35.

Copaci I., Micu L., Voiculescu M. The role of cytokines in non-alcoholic steatohepatitis. A review. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases.* 2006. Vol. 15, no. 4. P. 363–373.

Crespo J., Cayón A., Fernández-Gil P., Hernández-Guerra M., Mayorga M., Domínguez-Díez A., Fernández-Escalante J. C., Pons-Romero F. Gene expression of tumor necrosis factor α and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology.* 2001. Vol. 34. P. 1158–1163.

Cressman D. E., Greenbaum L. E., DeAngelis R. A., Ciliberto G., Furth E. E., Poli V., Taub R. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science.* 1996. Vol. 274. P. 1379–1383.

Cubillas R., Kintner K., Phillips F., Karandikar N. J., Thiele D. L., Brown G. R. Tumor necrosis factor receptor 1 expression is upregulated in dendritic cells in patients with chronic HCV who respond to therapy. *Hepat. Res. Treat.* 2010: 429243. doi: 10.1155/2010/429243

Czaja A. J. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease. *World J. Gastroenterol.* 2014. Vol. 20. P. 2515–2532. doi: 10.3748/wjg.v20.i10.2515

Dandona P., Weinstock R., Thusu K., Abdel-Rahman E., Aljada A., Wadden T. Tumor necrosis factor- α in sera of obese patients: fall with weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998. Vol. 83. P. 2907–2910.

DeBerge M. P., Ely K. H., Wright P. F., Thorp E. B., Enelow R. I. Shedding of TNF receptor 2 by effector CD8⁺ T cells by ADAM17 is important for regulating TNF- α availability during influenza infection. *J. Leukoc. Biol.* 2015. Vol. 98. P. 423–434. doi: 10.1189/jlb.3A0914-432RR

Deng Y., Li M., Wang J., Xie L., Li T., He Y., Lu Q., Li R., Tan A., Qin X., Li S. Susceptibility to hepatocellular

carcinoma in the Chinese population – associations with interleukin-6 receptor polymorphism. *Tumor Biol.* 2014. Vol. 35. P. 6383–6388. doi: 10.1007/s13277-014-1863-7

Depuydt B., Van Loo G., Vandenaabeele P., Declercq W. Induction of apoptosis by TNF receptor 2 in a T-cell hybridoma is FADD dependent and blocked by caspase-8 inhibitors. *J. Cell Sci.* 2005. Vol. 118. P. 497–504. doi: 10.1242/jcs.01640

Doganci A., Eigenbrod T., Krug N., De Sanctis G. T., Hausding M., Erpenbeck V. J., Haddad el-B., Lehr H. A., Schmitt E., Bopp T., Kallen K. J., Herz U., Schmitt S., Luft C., Hecht O., Hohlfeld J. M., Ito H., Nishimoto N., Yoshizaki K., Kishimoto T., Rose-John S., Renz H., Neurath M. F., Galle P. R., Finotto S. The IL-6R α chain controls lung CD4⁺CD25⁺ Treg development and function during allergic airway inflammation in vivo. *J. Clin. Invest.* 2005. Vol. 115. P. 313–325.

El-Assal O., Hong F., Kim W. H., Radaeva S., Gao B. IL-6-deficient mice are susceptible to ethanol-induced hepatic steatosis: IL-6 protects against ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial permeability transition in the liver. *Cell Mol. Immunol.* 2004. Vol. 1. P. 205–211.

Fernández-Real J. M., Broch M., Vendrell J., Ricart C., Ricart W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000. Vol. 85, no. 3. P. 1334–1339.

Ferreira R. C., Freitag D. F., Cutler A. J. Functional IL6R 358Ala allele impairs classical IL-6 receptor signaling and influences risk of diverse inflammatory disease. *Plos Genetics.* 2013. Vol. 9, no. 4. e1003444. doi: 10.1371/journal.pgen.1003444

Fishman D., Faulds G., Jeffery R., Mohamed-Ali V., Yudkin J. S., Humphries S., Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin 6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J. Clin. Invest.* 1998. Vol. 102. P. 1369–1376.

Fitzpatrick E., Dew T. K., Quaglia A., Sherwood R. A., Mitry R. R., Dhawan A. Analysis of adipokine concentrations in paediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Pediatr. Obes.* 2012. Vol. 7. P. 471–479. doi: 10.1111/j.2047-6310.2012.00082.x

Galicia J. C., Tai H., Komatsu Y., Shimada Y., Akazawa K., Yoshie H. Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced. *Genes. Immun.* 2004. Vol. 5. P. 513–516.

Gaur U., Aggarwal B. B. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem. Pharmacol.* 2003. Vol. 66. P. 1403–1408.

Giannitrapani L., Soresi M., Giacalone A., Campagna M. E., Marasà M., Cervello M., Marasà S., Montalto G. IL-6–174G/C polymorphism and IL-6 serum levels in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *OMICS.* 2011. Vol. 15. P. 183–186. doi: 10.1089/omi.2010.0093

Glossop J. R., Dawes P. T., Nixon N. B., Mathey D. L. Polymorphism in the tumour necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy.* 2005. Vol. 7. P. 1227–1234. doi: 10.1186/ar1816

- Grunhage F., Rezori B., Neef M., Lammert F., Sauerbruch T., Spengler U., Reichel C. Elevated soluble tumor necrosis factor receptor 75 concentrations identify patients with liver cirrhosis at risk of death. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008. Vol. 6. P. 1255–1262. doi: 10.1016/j.cgh.2008.06.018
- Haukeland J. W., Damås J. K., Konopski Z., Løberg E. M., Haaland T., Goverud I., Torjesen P. A., Birkeland K., Bjørø K., Aukrust P. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2. *J. Hepatol.* 2006. Vol. 44. P. 1167–1174. doi: 10.1016/j.jhep.2006.02.011
- Herbein G., Mahlknecht U., Batiwalla F., Gregeresen P., Pappas T., Butler J., O'Brien W. A., Verdin E. Apoptosis of CD8+ T cells is mediated by macrophages through interaction of HIV gp120 with chemokine receptor CXCR4. *Nature.* 1998. Vol. 395. P. 189–194.
- Honda M., Yamamoto S., Cheng M., Yasukawa K., Suzuki H., Saito T., Osugi Y., Tokunaga T., Kishimoto T. Human soluble IL-6 receptor: its detection and enhanced release by HIV infection. *J. Immunol.* 1992. Vol. 148. P. 2175–2180.
- Horiuchi S., Koyanagi Y., Zhou Y., Miyamoto H., Tanaka Y., Waki M., Matsumoto A., Yamamoto M., Yamamoto N. Soluble interleukin-6 receptors released from T cell or granulocyte/macrophage cell lines and human peripheral blood mononuclear cells are generated through an alternative splicing mechanism. *Eur. J. Immunol.* 1994. Vol. 24. P. 1945–1948.
- Hotamisligil G. S., Arner P., Caro J. F., Atkinson R. L., Spiegelman B. M. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 1995. Vol. 95. P. 2409–2415.
- Hu Z. W., Luo H. B., Xu Y. M., Guo J. W., Deng X. L., Tong Y. W., Tang X. Tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphisms in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver diseases. *Acta Gastroenterol. Belg.* 2009. Vol. 72. P. 215–221.
- Hui J. M., Hodge A., Farrell G. C., Kench J. G., Kriketos A., George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin? *Hepatology.* 2004. Vol. 40. P. 46–54.
- Hurst S. M., Wilkinson T. S., McLoughlin R. M., Jones S., Horiuchi S., Yamamoto N., Rose-John S., Fuller G. M., Topley N., Jones S. A. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity.* 2001. Vol. 14. P. 705–714.
- IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet.* 2012. Vol. 379. P. 1205–1213. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61931-4
- Jones S. A., Horiuchi S., Topley N., Yamamoto N., Fuller G. M. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J.* 2001. Vol. 15. P. 43–58.
- Karimi M., Goldie L. C., Cruickshank M. N., Moses E. K., Abraham L. J. A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. *Eur. J. Hum. Genet.* 2009. Vol. 17. P. 1454–1462. doi: 10.1038/ejhg.2009.80
- Kidane D., Chae W. J., Czochoch J., Eckert K. A., Glazer P. M., Bothwell A. L., Sweasy J. B. Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2014. Vol. 49, no. 2. P. 116–139. doi: 10.3109/10409238.2013.875514
- Kim E. Y., Teh H. S. TNF type 2 receptor (p75) lowers the threshold of T cell activation. *J. Immunol.* 2001. Vol. 167. P. 6812–6820.
- Kim S., Moon S. M., Kim Y. S., Kim J. J., Ryu H. J., Kim Y. J., Choi J. W., Park H. S., Kim D. G., Shin H. D., Rutherford M. S., Oh B., Lee J. K. TNFR1 promoter -329G/T polymorphism results in allele-specific repression of TNFR1 expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. Vol. 368. P. 395–401. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.01.098
- Kopp H. P., Kopp C. W., Festa A., Krzyzanowska K., Kriwanek S., Minar E., Roka R., Schernthaner G. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003. Vol. 23. P. 1042–1047.
- Kotake S., Sato K., Kim K. J., Takahashi N., Udagawa N., Nakamura I., Yamaguchi A., Kishimoto T., Suda T., Kashiwazaki S. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation. *J. Bone Miner. Res.* 1996. Vol. 11. P. 88–95. doi: 10.1002/jbmr.5650110113
- Kugelmas M., Hill D. B., Vivian B., Marsano L., McClain C. J. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology.* 2003. Vol. 38. P. 413–419.
- Leite N. C., Salles G. F., Cardoso C. R., Villela-Nogueira C. A. Serum biomarkers in type 2 diabetic patients with nonalcoholicsteatohepatitis and advanced fibrosis. *Hepatology. Res.* 2013. Vol. 43. P. 508–515. doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.01106.x
- Lemmers A., Gustot T., Durnez A., Evrard S., Moreno C., Quertinmont E., Vercauteren V., Demetter P., Franchimont D., Le Moine O., Geerts A., Devière J. An inhibitor of interleukin-6 trans-signalling, sgp130, contributes to impaired acute phase response in human chronic liver disease. *Clin. Exp. Immunol.* 2009. Vol. 156. P. 518–527. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.03916x
- Lesmana C. R., Hasan I., Budihusodo U., Gani R. A., Krisnuhoni E., Akbar N., Lesmana L. A. Diagnostic value of a group of biochemical markers of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J. Dig. Dis.* 2009. Vol. 10. P. 201–206. doi: 10.1111/j.1751-2980.2009.00386.x
- Lin S. Y., Wang Y. Y., Sheu W. H. Increased serum soluble tumor necrosis factor receptor levels are associated with insulin resistance in liver cirrhosis. *Metabolism.* 2004. Vol. 53. P. 922–926.
- Liu X., Invernizzi P., Lu Y. et al. Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat. Genet.* 2010. Vol. 42. P. 658–660.
- Locksley R. M., Killeen N., Lenardo M. J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 2001. Vol. 104. P. 487–501.

- Lourdusamy A., Newhouse S., Lunnon K., Proitsi P., Powell J., Hodges A., Nelson S. K., Stewart A., Williams S., Kloszewska I., Mecocci P., Soininen H., Tsolaki M., Vellas B., Lovestone S. Identification of cis-regulatory variation influencing protein abundance levels in human plasma. *Hum. Mol. Genet.* 2012. Vol. 21. P. 3719–3726. doi: 10.1093/hmg/dds186
- Lust J. A., Donovan K. A., Kline M. P., Greipp P. R., Kyle R. A., Maihle N. J. Isolation of an mRNA encoding a soluble form of the human interleukin-6 receptor. *Cytokine*. 1992. Vol. 4. P. 96–100.
- MacEwan D. J. TNF ligands and receptor – a matter of life and death. *Br. J. Pharmacol.* 2002. Vol. 135. P. 855–875. doi: 10.1038/sj.bjp.0704549
- Machado M. V., Martins A., Almeida R., Marques-Vidal P., Gonçalves M. S., Camilo M. E., Cortez-Pinto H. Does the simultaneous tumor necrosis factor receptor 2, tumor necrosis factor promoter gene polymorphism represent a higher risk for alcoholic liver disease? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2009. Vol. 21. P. 201–205. doi: 10.1097/MEG.0b013e32831016e0
- Marinos G., Naoumov N. V., Rossol S., Torre F., Wong P. Y., Gallati H., Portmann B., Williams R. Tumor necrosis factor receptors in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterol.* 1995. Vol. 108. P. 1453–1463.
- McFarland-Mancini M. M., Funk H. M., Paluch A. M., Zhou M., Giridhar P. V., Mercer C. A., Kozma S. C., Drew A. F. Differences in wound healing in mice with deficiency of IL-6 versus IL-6 receptor. *J. Immunol.* 2010. Vol. 184. P. 7219–7228.
- Mells G. F., Floyd J. A., Morley K. I. Genome-wide association study identifies 12 new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis. *Nat. Genet.* 2011. Vol. 43. P. 329–332. doi: 10.1038/ng.789
- Melzer D., Perry J. R., Hernandez D. et al. A genome-wide association study identifies protein quantitative trait loci (pQTLs). *PLoS Genet.* 2008. Vol. 4. e1000072. doi: 10.1371/journal.pgen.1000072
- Milner K., Van der Poorten D., Xu A., Bugianesi E., Kench J. G., Lam K. S., Chisholm D. J., George J. Adipocyte fatty acid binding protein levels relate to inflammation and fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009. Vol. 49. P. 1926–1934.
- Mitsuyama K., Sata M., Rose-John S. Interleukin-6 trans-signaling in inflammatory bowel disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006. Vol. 17. P. 451–461.
- Müllberg J., Oberthur W., Lottspeich F., Mehl E., Dittrich E., Graeve L., Heinrich P. C., Rose-John S. The soluble human IL-6 receptor. Mutational characterization of the proteolytic cleavage site. *J. Immunol.* 1994. Vol. 152. P. 4958–4968.
- Müllberg J., Schooltink H., Stoyan T., Günther M., Graeve L., Buse G., Mackiewicz A., Heinrich P. C., Rose-John S. The soluble interleukin-6 receptor is generated by shedding. *Eur. J. Immunol.* 1993. Vol. 23. P. 473–480.
- Müller-Newen G., Kohne C., Keul R., Hemmann U., Müller-Esterl W., Wijdenes J., Brakenhoff J. P., Hart M. H., Heinrich P. C. Purification and characterization of the soluble interleukin-6 receptor from human plasma and identification of an isoform generated through alternative splicing. *Eur. J. Biochem.* 1996. Vol. 236. P. 837–842.
- Naveau S., Abella A., Raynard B., Balian A., Giraud V., Montebault S., Mathurin P., Keros L. G., Portier A., Capron F., Emilie D., Galanaud P., Chaput J. C. Tumornecrosis factor soluble receptor p55 and lipid peroxidation in patients with acute alcoholic hepatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2001. Vol. 96. P. 3361–3367.
- Neurath M. F., Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation-associated cancer. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2011. Vol. 22. P. 83–89. doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.02.003
- Ofei F., Hurel S., Newkirk J., Sopwith M., Taylor R. Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes*. 1996. Vol. 45. P. 881–885.
- Pavkov M. E., Nelson R. G., Knowler W. C., Cheng Y., Krolewski A. S., Niewczas M. A. Elevation of circulating TNF receptors 1 and 2 increases the risk of end-stage renal disease in American Indians with type 2 diabetes. *Kidney Int.* 2015. Vol. 87. P. 812–819. doi: 10.1038/ki.2014.330
- Plomgaard P., Bouzakri K., Krogh-Madsen R., Mittemdorfer B., Zierath J. R., Pedersen B. K. Tumor necrosis factor- α induces skeletal muscle insulin resistance in healthy humans via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 2939–2945. doi: 10.2337/diabetes.54.10.2939
- Par A., Par G. Liver fibrosis: patho-physiology, diagnosis and treatment. *Orvosi Hetilap*. 2005. Vol. 146, no. 1. P. 3–13.
- Rafiq S., Frayling T. M., Murray A., Hurst A. J., Weedon M. N., Henley W., Bandinelli S., Corsi A.-M., Ferrucci L., Guralnik M. J., Wallace R. B., Melzer D. A common variant of the interleukin 6 receptor (IL-6r) gene increases IL-6r and IL-6 levels, without other inflammatory effects. *Genes. Immun.* 2007. Vol. 8. P. 552–559.
- Roth J., De Souza G. E. P. Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2001. Vol. 34. P. 301–314.
- Safranow K., Dziedziczko V., Rzeuski R., Czyżyczka E., Wojtarowicz A., Bińczak-Kuleta A., Jakubowska K., Olszewska M., Ciechanowicz A., Kornacewicz-Jach Z., Machaliński B., Pawlik A., Chlubek D. Plasma concentrations of TNF- α and its soluble receptors sTNFR1 and TNFR2 in patients with coronary artery disease. *Tissue Antigens*. 2009. Vol. 74. P. 386–392. doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01332.x
- Saito T., Ji G., Shinzawa H., Hattori E., Adachi T., Takeda T., Sugahara K., Ito J. I., Watanabe H., Saito K., Togashi H., Ishii K., Matsuura T., Inageda K., Muramatsu M., Kawata S. Genetic variations in humans associated with differences in the course of hepatitis C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 317. P. 335–341.
- Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim. Biophys. Acta*. 2011. Vol. 1813. P. 878–888. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.01.034
- Schulz M., Dotzlaw H., Neeck G. Ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis: serum levels of TNF- α and its soluble receptors during the course of

therapy with etanercept and infliximab. *Biomed. Res. Int.* 2014; 675108. doi: 10.1155/2014/675108

Sennikov S. V., Vasilyev F. F., Lopatnikova J. A., Shkaruba N. S., Silkov A. N. Polymorphisms in the tumor necrosis factor receptor genes affect the expression levels of membrane-bound type I and type II receptors. *Mediators Inflamm.* 2014; 745909. doi: 10.1155/2014/745909

Shin S. P., Kim N. K., Kim J. H., Lee J. H., Kim J. O., Cho S. H., Park H., Kim M. N., Rim K. S., Hwang S. G. Association between hepatocellular carcinoma and tumor necrosis factor alpha polymorphisms in South Korea. *World J. Gastroenterol.* 2015. Vol. 21. P. 13064–13072. doi: 10.3748/wjg.v21.146.13064

Soresi M., Giannitrapani L., D'Antona F., Florenza A. M., La Spada E., Terranova A., Cervello M., D'Alessandro N., Montalto G. Interleukin-6 and its soluble receptor in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 12. P. 2563–2568.

Stephens O. W., Zhang Q., Qu P., Zhou Y., Chavan S., Tian E., Williams D. R., Epstein J., Barlogie B., Shaughnessy J. D. An intermediate-risk multiple myeloma subgroup is defined by sIL-6r: levels synergistically increase with incidence of SNP rs2228145 and 1q21 amplification. *Blood.* 2012. Vol. 119. P. 503–512. doi: 10.1182/blood-2011-07-367052

Streetz K. L., Tacke F., Leifeld L., Wüstefeld T., Graw A., Klein C., Kamino K., Spengler U., Kreipe H., Kubicka S., Müller W., Manns M. P., Trautwein C. Interleukin6/gp130-dependent pathways are protective during chronic liver diseases. *Hepatology.* 2003. Vol. 38. P. 218–229. doi: 10.1053/jhep.2003.50268

Sun R., Tian Z., Kulkarni S., Gao B. IL-6 prevents T cell mediated hepatitis via inhibition of NKT cells in CD4+ T cell and STAT3-dependent manners. *J. Immunol.* 2004. Vol. 172. P. 5648–5655.

Tarrats N., Moles A., Morales A., García-Ruiz C., Fernández-Checa J. C., Marí M. Critical role of tumor necrosis factor receptor 1, but not 2, in hepatic stellate cell proliferation, extracellular matrix remodeling, and liver fibrogenesis. *Hepatology.* 2011. Vol. 54. P. 319–327. doi: 10.1002/hep.24388

Taub R. Hepatoprotection via the IL-6/Stat³ pathway. *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 112. P. 978–980.

Tokushige K., Takakura M., Tsuchiya-Matsushita N., Taniai M., Hashimoto E., Shiratori K. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *J. Hepatol.* 2007. Vol. 46. P. 1104–1110. doi: 10.1016/j.jhep.2007.01.028

Trebicka J., Krag A., Gansweid S., Appenrodt B., Schiedermaier P., Sauerbruch T., Spengler U. Endotoxin and tumor necrosis factor-receptor levels in portal and hepatic vein of patients with alcoholic liver cirrhosis receiving elective transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2011. Vol. 23. P. 1218–1225. doi: 10.1097/MEG.0b013e32834a75dc

Valenti L., Fracanzani A. L., Dongiovanni P., Santorelli G., Branchi A., Taioli E., Fiorelli G., Fargion S. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002. Vol. 122. P. 274–280.

van Dongen J., Jansen R., Smit D., Hottenga J. J., Mbarek H., Willemsen G., Kluff C.; AAGC Collaborators, Penninx B. W., Ferreira M. A., Boomsma D. I., de Geus E. J. The contribution of the functional IL6R polymorphism rs2228145, eQTLs and other genome-wide SNPs to the heritability of plasma sIL-6R levels. *Behav. Genet.* 2014. Vol. 44. P. 368–382. doi: 10.1007/s10519-014-9656-8

Wang J., Ni H., Chen L., Liu Y. X., Chen C. B., Song W. Q. Preparation and analysis of cSNP chip on hepatocellular carcinoma-related genes. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 2005. Vol. 4. P. 398–402.

Wang J. K., Feng Z. W., Li Y. C., Li Q. Y., Tao X. Y. Association of tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphism at sites -308 and -238 with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012. Vol. 27. P. 670–676. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06978.x

Weifeng Y., Li L., Yujie H., Weifeng L., Zhenhui G., Wenjie H. Inhibition of acute lung injury by tnfr-fc through regulation of an inflammation-oxidative stress pathway. *PLoS One.* 2016. Vol. 11, no. 3: e0151672. doi: 10.1371/journal.pone.0151672

Wieckowska A., Papouchado B. G., Li Z., Lopez R., Zein N. N., Feldstein A. E. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 103. P. 1372–1379. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01774.x

Yoneda M., Mawatari H., Fujita K., Iida H., Yonemitsu K., Kato S., Takahashi H., Kirikoshi H., Inamori M., Nozaki Y., Abe Y., Kubota K., Saito S., Iwasaki T., Terauchi Y., Togo S., Maeyama S., Nakajima A. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J. Gastroenterol.* 2007. Vol. 42. P. 573–582. doi: 10.1007/s00535-007-2060-x

Zekri A. R., Haleem H. A., Esmat G. E., Bahassy A. A., El-Din H. M., Hafez M. M., Sharaby A. F., Sharaf H., Zakaria M. S. Immunomodulators, sFas and Fas-L as potential noninvasive predictors of IFN treatment in patients with HCV genotype-4. *J. Viral. Hepatol.* 2007. Vol. 14. P. 468–477.

Zhou Y.-J., Li Y.-Y., Nie Y.-Q., Yang H., Zhan Q., Huang J., Shi S. L., Lai X. B., Huang H. L. Influence of polygenetic polymorphisms on the susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease of Chinese people. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2010. Vol. 25. P. 772–777. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.06144x

Received January 17, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Топчиева Людмила Владимировна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: topchieva67@mail.ru

Курбатова Ирина Валерьевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: irina7m@yandex.ru

Дуданова Ольга Петровна

зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней
и гигиены Медицинского института, д. м. н.
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: odudanova@gmail.com

Шиповская Анастасия Андреевна

ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней
и гигиены Медицинского института
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nostrick@inbox.ru

Соколовская Анастасия Александровна

студентка Института биологии, экологии и агротехнологий
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: in-yan.2010@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Topchieva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: topchieva67@mail.ru

Kurbatova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: irina7m@yandex.ru

Dudanova, Olga

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: odudanova@gmail.com

Shipovskaya, Anastasia

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nostrick@inbox.ru

Sokolovskaya, Anastasia

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: in-yan.2010@yandex.ru

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 556.078:574.5 (268.46)

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА GREEN JASMINE ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ ЭКОСИСТЕМ БЕЛОГО МОРЯ

**А. В. Толстик¹, И. А. Чернов², С. А. Мурзина³,
Д. М. Мартынова⁴, Н. Г. Яковлев⁵**

¹ Институт водных проблем Севера Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Институт прикладных математических исследований Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск

³ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

⁴ Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург

⁵ Институт вычислительной математики РАН, Москва

Комплекс Green JASMINE предназначен для получения согласованных данных по термогидродинамике и биогеохимическим параметрам Белого моря, количественного выражения потоков вещества внутри водоема и на границе с Баренцевым морем. В качестве термогидродинамического блока используется модель JASMINE, основанная на конечно-элементной модели Северного Ледовитого океана (FEMAO). Модель настроена на условия Белого моря и сопряжена с блоком динамики пелагической экосистемы, в качестве которого применяется итальянская модель BFM. В BFM использован стехиометрический подход для математического описания состояния экологической системы: неизвестными являются концентрации тех или иных элементов в составе различных функциональных групп, таких как, например, диатомовые водоросли, крупный фитопланктон, цианобактерии, бактериопланктон, гетеротрофные жгутиконосцы, растворенное в воде косное органическое или неорганическое вещество. Полный список переменных насчитывает пять десятков, при этом описаны циклы углерода, азота, фосфора, кремния, а также хлорофилл *a* в составе автотрофных организмов, учитываются растворенный в воде кислород и сероводород. Отмечается адекватное воспроизведение термогидродинамических параметров Белого моря. Качественное модельное распределение хлорофилла *a* и первичной продукции также в целом соответствует реальной картине его распределения. Разрабатываемый программный комплекс Green JASMINE помогает решать важные задачи, связанные с функционированием экосистем Белого моря. Его особенностью является возможность рассматривать распределение температуры, солености, льда и состояние экосистем в зависимости от сценариев изменения внешних факторов. Функционирует блок переноса примеси, включая перенос нефти, что особенно актуально при моделировании экологических катастроф. Кроме того, комплекс обладает значительной гибкостью и мощным потенциалом для расширения.

Ключевые слова: Белое море; моделирование; пелагическая экосистема; Green JASMINE; BFM.

A. V. Tolstikov, I. A. Chernov, S. A. Murzina, D. M. Martynova, N. G. Yakovlev. DESIGN AND APPLICATION OF THE GREEN JASMINE COMPLEX FOR THE STUDY AND PREDICTION OF THE ECOSYSTEMS STATE AND VARIABILITY OF THE WHITE SEA

The Green JASMINE complex is designed to produce consistent data on the thermo-hydrodynamical and biogeochemical parameters of the White Sea, as well as to assess the matter fluxes within the sea and in the areas adjacent to the Barents Sea. The JASMINE model serves as the Hydrodynamical block and is based on the finite element model of the Arctic Ocean (FEMAO). It is coupled with the biogeochemical block, which is the BFM model maintained and developed by the BFM Consortium. BFM uses the stoichiometric approach for description of the state of ecosystem: variables are concentrations of elements or substances in different functional groups, e. g., diatoms, large phytoplankton, cyanobacteria, pelagic bacteria, heterotrophic flagellates, dissolved organic or inorganic matter, including oxygen and hydrogen sulfide, etc. The total number of variables is about 50: cycles of carbon, nitrogen, phosphorus, silicium are described, as well as production of chlorophyll-a by autotrophic plankton. Thermodynamical fields have been shown to be well reproduced by the model. The behaviour of chlorophyll and primary production also corresponds to the real pattern. The developed software complex Green JASMINE allows solving important problems concerning ecological systems of the White Sea. It is able to simulate the distribution of water temperature and salinity, ice cover, and ecological tracers depending on climate change scenarios. There is a functioning passive tracer advection block which can be useful for simulating ecological disasters. The complex is flexible and can be easily extended.

Key words: the White Sea; modeling; pelagic ecosystem; Green JASMINE; BFM.

Введение

В условиях изменчивости климата исследование морской флоры и фауны Севера является необходимым и неотъемлемым этапом в цепи мониторинговых работ, проводимых в Арктике и Субарктике. Эффективными инструментами изучения функционирования морских экосистем являются трехмерные математические модели. Они позволяют решать специфические задачи, которые даже при обычном многолетнем наблюдении либо затруднительны, либо невыполнимы. Это относится, например, к анализу сценариев изменения климата (потепление или похолодание, увеличение или уменьшение количества осадков, колебание характеристик расходов рек и т. п.), изменений концентрации биогенных элементов в отдельных районах водоема, а также к возможности прогнозирования состояния моря при сохранении наблюдающихся тенденций и при задаваемых нарушениях режима. При этом моделируется воздействие внешних факторов, а оцениваются термогидродинамические и экосистемные параметры в водоеме в зависимости от сценария.

Наличие подобной модели в ИПМИ КарНЦ РАН [Chernov, 2013] и объем репрезентативных данных по Белому морю за многолетний период,

имеющийся в ИВПС КарНЦ РАН [Толстикова и др., 2010] и ЗИН РАН [Usov et al., 2013; База...], создают предпосылки для ответа на вопрос, что происходит с экосистемами моря в теплый или холодный год, при усилении эвтрофикации, при поступлении с речным стоком загрязняющих веществ (нефтепродукты, пластик и др.). При условии выполнения адекватного воспроизведения моделью процессов, происходящих в водоеме, указанный путь работы со сценариями станет инструментом для создания прогноза изменений состояния Белого моря в будущем и для ретроспективного анализа. Обзор существующих моделей динамики Белого моря, включая экосистемы, был достаточно полно освещен в предыдущих работах [Белое море..., 2007; Толстикова, 2016], однако нам неизвестна другая подобная модель, учитывающая трехмерную гидродинамику, морской лед и экосистемы, поддерживаемая и развиваемая в настоящее время.

Совместное использование предлагаемой в статье модели, многолетних ихтиологических и биохимических данных о состоянии морских гидробионтов и экосистем в целом будет способствовать получению новых данных о влиянии изменений климата и экологических условий на формирование устойчивости уникальных для водоемов Арктического региона видов,

механизмов их приспособления к условиям высоких широт.

Материалы и методы

JASMINE – это программный комплекс численной модели водоема, воспроизводящей динамику и термодинамику вод и льда, созданный на базе модели Северного Ледовитого океана (FEMAO) проф. Н. Г. Яковлева [2009] и в соавторстве с ним [Чернов и др., 2016]. Структура JASMINE модульная, она относительно просто дополняется блоками усвоения данных динамики пелагической экосистемы, переноса примеси и т. п. Физические условия для расчетов (температура, соленость и плотность воды, освещенность, скорость ветра, размеры сеточной ячейки и т. п.) поставляет JASMINE, она же выполняет трехмерную адвекцию, диффузию и гравитационное осаждение трассеров. Термогидродинамические условия для Белого моря воспроизводятся адекватно [Чернов и др., 2016].

Блок экосистемы моря основан на модели BFM [<http://bfm-community.eu>], которая хорошо зарекомендовала себя для моделирования пелагической экосистемы морей и океанов (Атлантика, фьорды Норвегии, Средиземное море, Мировой океан) в составе комплексов PELAGOS, NEMO и других [Vichi et al., 2015; Lazzari et al., 2016].

BFM использует стехиометрический подход для математического описания состояния экологической системы: неизвестными в модели являются концентрации элементов и сложных веществ в составе различных функциональных групп, таких как диатомовые водоросли, крупный фитопланктон, цианобактерии, бактериопланктон, гетеротрофные жгутиконосцы, растворенное в воде вещество и т. п. Полный список переменных насчитывает пять десятков, при этом описаны циклы углерода, азота, фосфора, кремния, а также хлорофилла в составе автотрофных организмов, учитываются растворенный в воде кислород и сероводород. В модели также предусмотрен (хотя по умолчанию отключен) цикл железа. Поедание, например, одного вида фитопланктона хищным зоопланктоном описано как убывание концентраций веществ, входящих в состав первого, и рост таковых для второго. Всего в модели представлено по четыре группы фитопланктона (включая цианобактерии) и зоопланктона, одна группа пелагических неавтотрофных бактерий. Недостатком такого подхода является необходимость согласовывать значения полей на границах и в устьях рек.

Белое море представляет особую важность для Российской Федерации, поскольку

полностью входит в территориальные воды страны и активно используется для рыболовства и марикультуры [Белое море..., 2007]. Укажем его основные особенности, важные с точки зрения моделирования его экосистем.

Основная отличительная гидродинамическая особенность Белого моря – сильный полусуточный прилив, индуцированный из Баренцева моря и создающий характерную картину течений, при этом период приспособления близок к периоду прилива [Семенов, 2004]. Таким образом, имеет место квазипериодический режим течений и вихрей. Интенсивная приливная динамика вод приводит к их перемешиванию, особенно в северных районах моря – Воронке и Горле. Ветер также серьезно влияет на течения, особенно поверхностные, и способен сильно исказить создаваемую приливом структуру течений. Другая особенность моря – относительно большой объем речного стока (около 200 км³/год [Гидрометеорология..., 1991]), следствием чего является пониженная соленость и сравнительно обильное поступление биогенных элементов в заливы. Белое море можно рассматривать в качестве посредника между крупными реками и другими морями Арктического региона. Упомянутые выше приливные движения означают существенный водообмен между Белым и Баренцевым морями (вытекает около 2200 км³ воды в год, а втекает – 2000 км³ [Гидрометеорология..., 1991; Белое море..., 2007]). Имеет место баланс солености между затоком баренцевоморских вод, речным стоком и осадками. Высокая динамичность вод Белого моря снижает остроту «проблемы начальных данных», т. е. влияние начального распределения гидродинамических, термохалинных и биогеохимических полей быстро убывает со временем. Вместе с тем понятно, что сложно рассчитывать на точные измерения многочисленных величин во всем объеме моря.

Белое море относительно мелководно (средняя глубина 67 м), в силу чего рельеф дна существенно влияет на динамику течений; во многих районах биохимически активный (и даже эвфотический) слой простирается от поверхности до дна моря.

Разрабатываемый программный комплекс Green JASMINE, включающий блоки термогидродинамики и экосистемы, блок переноса примеси, функционирует на кластерах КарНЦ РАН [<http://cluster.krc.karelia.ru>] и ИВМ РАН [www.inm.ras.ru/cluster], поскольку алгоритм трехмерной адвекции требователен к вычислительным ресурсам и повышение числа переносимых скалярных полей до нескольких десятков ведет к необходимости использования

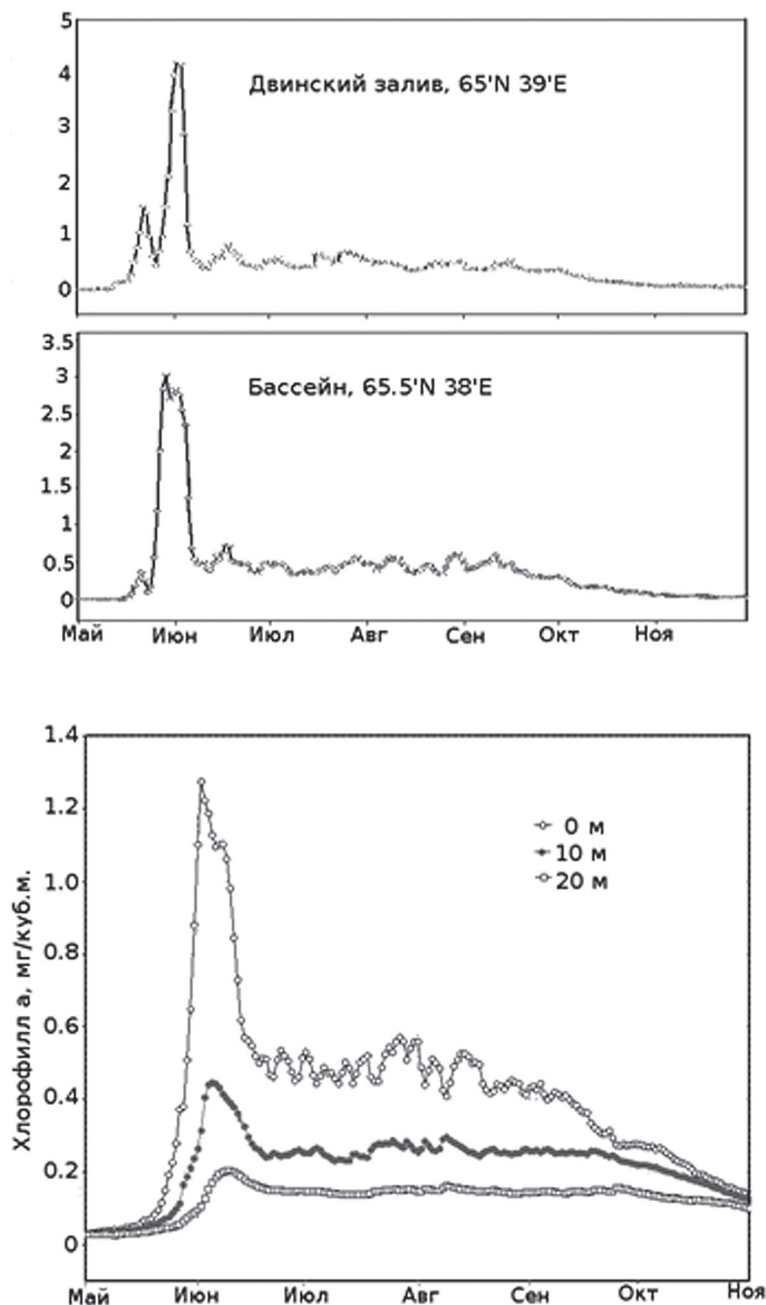


Рис. 1. Годовой ход хлорофилла *a* на поверхности Белого моря в двух точках: в Двинском заливе и в юго-восточной части Бассейна (вверху) и среднегодовое распределение по горизонтам. Среднесуточная концентрация (мг/м³)

в расчетах высокопроизводительных многопроцессорных вычислительных устройств. По сравнению с современным персональным компьютером ускорение достигло 300 раз.

Результаты и обсуждение

В настоящий момент динамика первичных продуцентов воспроизводится адекватно. Распределение биогенных элементов несколько занижено, при этом соединения азота

воспроизводятся лучше, чем фосфаты. Однако в Двинском заливе концентрация нитратов выше наблюдаемых значений, тогда как в других районах ситуация обратная. Мы связываем это с нехваткой данных о фактическом потоке веществ со стоком рек. Тем не менее динамика хлорофилла, первичной продукции и биомассы фитопланктона качественно согласуется с общепринятой картиной. Отметим высокую изменчивость распределения хлорофилла *a*, как в пространстве, так и во времени. Узкий пик

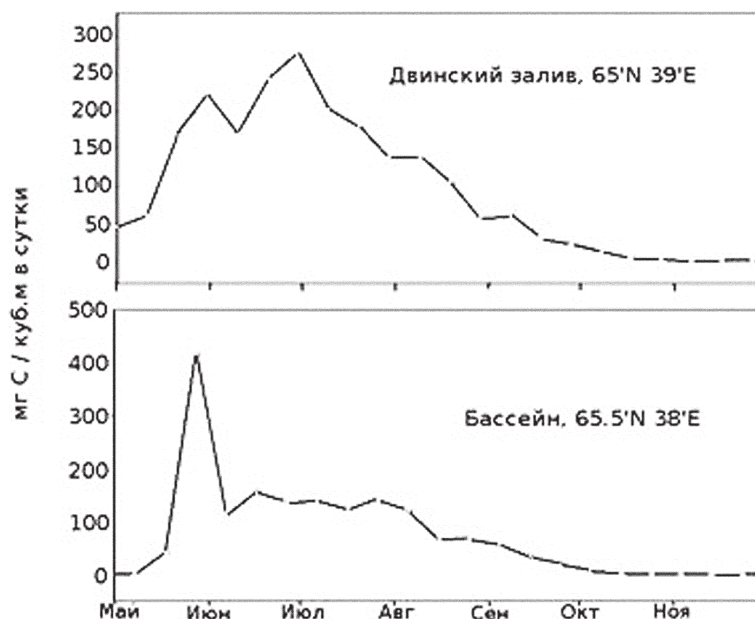


Рис. 2. Годовой ход первичной продукции на поверхности Белого моря в двух точках: в Двинском заливе и в юго-восточной части Бассейна. Опущены зимние месяцы. Осреднение за 10 суток (мг/м^3 в сутки)

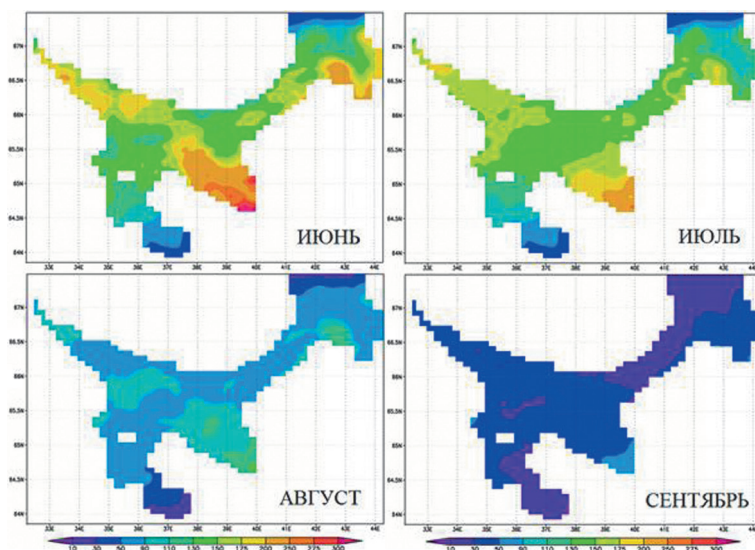


Рис. 3. Первичная продукция (июнь–сентябрь). Среднемесячные модельные данные (2004–2014 гг.), в $\text{мг С}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$

концентрации хлорофилла, развивающийся в течение нескольких суток во время схода льда, полностью сглаживается при среднемесячном осреднении: если суточные значения достигают 4 мг/м^3 (такие значения действительно иногда наблюдаются [Kravchishina et al., 2015]), то среднемесячные не превосходят $0,8 \text{ мг/м}^3$. Эту особенность необходимо учитывать при моделировании распределения хлорофилла *a*.

На рисунке 1 приведены значения концентрации хлорофилла *a* на поверхности моря и по трем горизонтам по многолетним модельным

данным. Период времени, когда море покрыто льдом, опущен, так как в зимние месяцы концентрация близка к нулю, а объем данных по подледному пику цветения фитопланктона в марте–апреле пока не позволяет достоверно включить его в существующую модель.

Сравниваются две точки в Белом море (в Двинском заливе (65° с. ш., 39° в. д.) и в Бассейне (65.5° с. ш., 38° в. д.). В июне концентрация хлорофилла *a* понижается, что связано с ассимиляцией биогенных элементов фитопланктоном [Бергер, 2007]. В северных

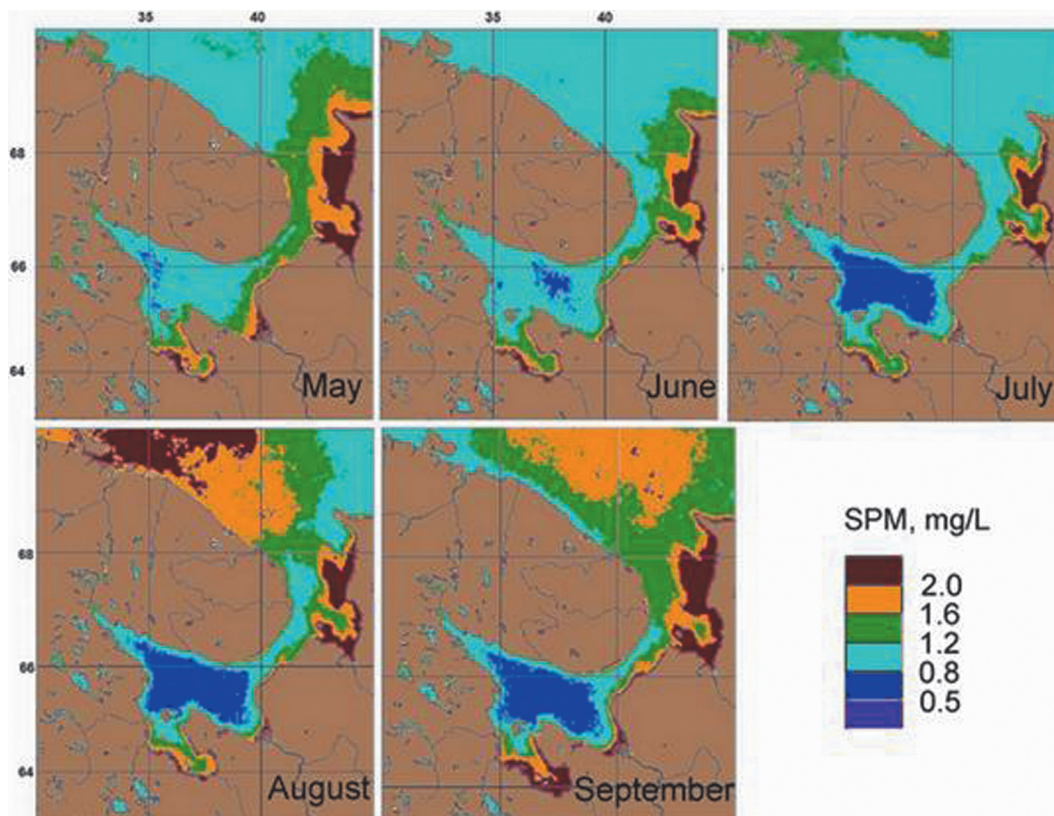


Рис. 4. Среднемесячные значения взвешенного твердого вещества (SPM), в мг/л. По данным спутника MODIS-Aqua. Май–сентябрь 2003–2010 гг. [Burenkov et al., 2011]

районах Белого моря (например, в Воронке) выражен осенний пик, связанный с обильным развитием динофлагеллят, обычным в этот период года [Berger et al., 2001; Martynova et al., 2011]. На нижних границах эвфотического слоя ход значительно более плавный в течение всего года (нижняя часть рис. 1).

На рисунке 2 показан годовой ход первичной продукции по модельным данным в тех же точках, что и для хлорофилла *a*.

Качественное модельное распределение хлорофилла *a* в Белом море в целом соответствует его реальному распределению [Бергер, 2007; Кравчишина, 2009; Ильяш и др., 2011, 2016; Kravchishina et al., 2015]. Так, активное развитие фитопланктона начинается во время разрушения и сразу после схода льда (в мае). Наибольшие концентрации в это время года наблюдаются в вершинах заливов, минимальные – в Горле и северной части Бассейна. Летом в Онежском заливе отмечаются низкие концентрации хлорофилла *a*, что связано с исчерпанием запасов биогенных элементов. Вертикальное распределение хорошо согласуется с данными измерений [Кравчишина, 2009; Kravchishina et al., 2015], и максимум наблюдается в фотической зоне, до горизонта 20 м. Сезонный модельный ход первичной продукции

соответствует диапазону измерений *in situ* [Бергер, 2007; Кравчишина, 2009; Ильяш и др., 2011, 2016; Максимова, 2012; Примаков, 2012]. Максимум продукции приходится на май, значительно менее выражены максимумы в августе и сентябре.

На рисунке 3 приведены средние многолетние модельные данные по первичной продукции Белого моря за период 2004–2014 гг.

Хорошо выражено снижение первичной продукции летом в Онежском заливе по сравнению с Двинским заливом. «Пятно» пониженной концентрации взвешенного твердого вещества на границе Кандалакшский залив – Бассейн в августе проявляется по данным спутниковых съемок практически для того же периода (рис. 4).

Заключение

Таким образом, разрабатываемый программный комплекс Green JASMINE помогает решать важные задачи, связанные с функционированием экосистем Белого моря. Его особенностью является возможность рассматривать распределение температуры и солености воды, льда и состояние экосистем в зависимости от сценариев изменения внешних факторов (метеорологические параметры, расходы

рек). Функционирует блок переноса примеси, включая перенос нефти, что особенно актуально при моделировании экологических катастроф. Кроме того, модель обладает значительной гибкостью и мощным потенциалом для расширения.

Результаты современных исследований пелагической экосистемы Белого моря [Usov et al., 2013; Белевич и др., 2015; Ильяш и др., 2016] внушают оптимизм, что в скором времени появятся репрезентативные данные по экосистемным параметрам и станет возможным адекватно воспроизводить распределение, например, пикофитопланктона, перенос криоводорослей со льдом, оценивать миграции личинок ихтиофауны или перемещение пятен нефти при ее разливах.

Предлагаемую модель рекомендуется планомерно использовать для проведения мониторинговых работ, которые могут иметь и определенный экономический эффект, так как их можно будет использовать в прогнозе изменения состояния рыб и беспозвоночных в водных экосистемах при климатических изменениях.

Работа по моделированию адвективного и диффузионного переноса скалярных полей, в том числе биогеохимических, и их гравитационного осаждения, а также работа по настройке взаимодействия гидродинамического и биогеохимического (BFM) блоков выполнена в ИВМ РАН и поддержана грантом РФФИ № 14-27-00126. Работа по разделу моделирования термогидродинамических и экосистемных параметров в «теплые» и «холодные» годы и установление биогеохимических закономерностей в зависимости от сценариев изменения климата выполняется при поддержке гранта РФФИ № 16-45-100162 p_a.

Литература

База данных ЗИН РАН [Электронный ресурс]. URL: <http://www.st.nmfs.noaa.gov/copepod/time-series/ru-10101/> (дата обращения: 10.04.2016).

Белевич Т. А., Ильяш Л. В., Милютин И. А. и др. Метагеномика пиководорослей Белого моря: первые данные // Биохимия. 2015. Т. 80, № 11. С. 1731–1740.

Белое море и его водосбор под влиянием климатических и антропогенных факторов / Под ред. Н. Н. Филатова, А. Ю. Тержевика. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 335 с.

Бергер В. Я. Продукционный потенциал Белого моря. Исследования фауны морей. СПб.: ЗИН РАН, 2007. Т. 60 (68). 292 с.

Вычислительный кластер Карельского научного центра РАН «Центр высокопроизводительной обра-

ботки данных». URL: <http://cluster.krc.karelia.ru> (дата обращения: 01.08.2016).

Вычислительный кластер Института вычислительной математики РАН: www.inm.ras.ru/cluster (дата обращения: 01.08.2016).

Гидрометеорология и гидрохимия морей СССР. Т. II. Вып. 2. Белое море. Гидрохимические условия и океанологические основы формирования биопродуктивности. Л.: Гидрометеоиздат, 1991. 196 с.

Данные реанализа NCEP/NCAR. URL: <http://www.esrl.noaa.gov> (дата обращения: 08.09.2016).

Ильяш Л. В., Радченко И. Г., Кузнецов Л. Л. и др. Пространственная вариабельность состава, обилия и продукционных характеристик фитопланктона Белого моря в конце лета // Океанология. 2011. Т. 51, № 1. С. 24–32.

Ильяш Л. В., Житина Л. С., Белевич Т. А. и др. Пространственное распределение фитопланктона Белого моря при нетипичном доминировании динофлагеллят (июль 2009 г.) // Океанология. 2016. Т. 56, № 3. С. 403–413. doi: 10.7868/S0030157416030096

Кравчишина М. Д. Взвешенное вещество Белого моря и его гранулометрический состав. М.: Научный мир, 2009. 264 с.

Максимова М. П. Эстуарная иерархическая система Белого моря. Препринт доклада. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2012. 48 с.

Примаков И. М. Механизмы формирования пространственно-временной организации сообществ мезозoopланктона Белого моря // Исследование фауны морей. СПб.: ЗИН РАН, 2012. Т. 70 (78). 137 с.

Семенов Е. В. Численное моделирование динамики Белого моря и проблема мониторинга // Изв. РАН. Физика атмосферы и океана, 2004. Т. 40, № 1. С. 128–141.

Толстиков А. В. Изменчивость температуры поверхностного слоя Белого моря. М.: ГЕОС, 2016. 212 с.

Толстиков А. В., Филатов Н. Н., Здоровеннов Р. Э. Белое море и его водосбор // Свид. о гос. рег. базы данных № 2010620435. 16 августа 2010 г.

Чернов И. А., Толстиков А. В. Программный комплекс JASMINE для моделирования динамики и экосистемы моря (на примере Белого моря) // Герценовские чтения. LXVIII конференция. СПб., 2015. С. 156–159.

Чернов И. А., Толстиков А. В., Яковлев Н. Г. Комплексная модель Белого моря: гидротермодинамика вод и морского льда // Труды КарНЦ РАН. Серия Математическое моделирование и информационные технологии. 2016. № 8. С. 116–128. doi: 10.17076/mat397

Яковлев Н. Г. Воспроизведение крупномасштабного состояния вод и морского льда Северного Ледовитого океана в 1948–2002 гг. Часть 1: Численная модель и среднее состояние // Изв. РАН. Физика атмосферы и океана, 2009. Т. 45, № 3. С. 1–16.

Berger V., Dahle S., Galaktionov K. et al. White Sea. Ecology and Environment. St. Petersburg; Tromsø. 2001. 157 p.

Biogeochemical FluxModel (BFM). URL: <http://bfm-community.eu> (дата обращения: 08.09.2016).

Burenkov V. I., Kopelevich O. V., Sheberstov S. V., Vazulya S. V. Space-time variability of suspended matter in the White Sea from satellite ocean color data // Current Problems in Optics of Natural Waters. Proceedings of the VI International conference. St. Petersburg: Nauka, 2011. P. 143–146.

Chernov I. Numerical Modelling of large-scale Dynamics of the White Sea // Universal Journal of Geoscience. 2013. Vol. 1 (3). P. 150–153.

Kravchishina M., Klyuvitkin A., Filippov A. et al. Suspended particulate matter in the White Sea: the results of long-term interdisciplinary research // Complex Interfaces Under Change: Sea – River – Groundwater – Lake. Proceedings of HP2/HP3, IAHS-IAPSO-IASPEI Assembly, (Gothenburg, Sweden, July 2013). 2015. P. 35–41.

Lazzari P., Solidoro C., Salon S., Bolzon G. Spatial variability of phosphate and nitrate in the Mediterranean Sea: A modeling approach // Deep Sea Research. Part I: Oceanographic Research Papers. 2016. 108. P. 39–52.

Martynova D. M., Kazus' N. A., Bathmann U. V. et al. Seasonal abundance and feeding patterns of copepods *Temoralongicornis*, *Centropageshamatus* and *Acartia* spp. in the White Sea (66°N) // Polar Biology, 2011. 34. P. 1175–1195. doi: 10.1007/s00300-011-0980-7

Usov N., Kutcheva I., Primakov I., Martynova D. Every species is good in its season: Shifts in annual temperature dynamics affect the zooplankton in the White Sea differently // Hydrobiologia. 2013. Special Issue. 706 (1). P. 11–33. doi: 10.1007/s10750-012-1435-z

Vichi M., Lovato T., Gutierrez Mlot E., McKiver W. Coupling BFM with Ocean models: the NEMO model (Nucleus for the European Modelling of the Ocean) // BFM Report series No. 2. Release 1.0 (August 2015. Bologna. Italy). 2015. 31 p.

Поступила в редакцию 03.10.2016

References

Baza dannih ZIN RAN [Database of Zoological Institute of RAS]. URL: <http://www.st.nmfs.noaa.gov/copepod/time-series/ru-10101/> (accessed: 10.04.2016).

Belevich T. A., Il'yash L. V., Milutina I. A., Logaceva M. D., Goryunov D. V., Troichkiy A. V. Metagenomika pikovodorosley Belogo morya: pervie danniya [Metagenomics of pico algae of the White Sea: the first data]. *Biohimiya* [Biochemistry]. 2015. Vol. 80, no. 11. P. 1731–1740.

Beloe more i ego vodosbor pod vliyaniem klimaticheskikh i antropogennykh faktorov [The White Sea and its catchment under the influence of climate and anthropogenic factors]. Eds. N. N. Filatov, A. Yu. Terzhevik. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2007. 349 p.

Berger V. Ya. Produktivnyy potencial Belogo morya [Production potential of the White Sea]. Issledovaniya fauni morey [Explorations of the Fauna of the Seas]. St. Petersburg: ZIN RAS, 2007. Vol. 60 (68). 292 p.

Chernov I. A., Tolstikov A. V. Programmnyy kompleks JASMINE dlya modelirovaniya dinamiki i ekosistemy morya (na primere Belogo morya) [Software complex JASMINE for simulation of dynamics and ecosystem of a sea (on the example of the White Sea)]. Gercenovskie chteniya. LXVIII konferenciya [LXVIII Gertsens Readings. Proceed. of the Conference]. St. Petersburg, 2015. P. 156–159.

Chernov I. A., Tolstikov A. V., Iakovlev N. G. Kompleksnaya model' Belogo morya: gidrotermodynamika vod i morskogo l'da [Comprehensive model of the White Sea: hydrothermodynamics of water and sea ice]. *Trudy KarNC RAN* [Trans. of KarRC of RAS]. 2016. No. 8. P. 116–128. doi: 10.17076/mat397

Dannie reanaliza [Reanalysis data] NCEP/NCAR. URL: <http://www.esrl.noaa.gov> (accessed: 08.09.2016).

Gidrometeorologiya i gidrokimiya morei SSSR. Vol. II. Beloe more. Iss. 1. Gidrometeorologicheskie usloviya [Hydrometeorology and hydrochemistry of the seas (USSR). Vol. II. The White Sea. Iss. 1. Hydrometeorological conditions]. Leningrad: Gidrometeoizdat, 1991. 240 p.

Il'yash L. V., Radchenko I. G., Kuznecov L. L., Lisicina A. P., Martynova D. M., Novigatskiy A. N., Chul'cova A. L. Prostranstvennaya variabel'nost' sostava, obiliya i produktivnykh harakteristik fitoplanktona Belogo morya v konce leta [Spatial variability of species composition, abundance and productivity of phytoplankton in the White Sea at the end of summer]. *Okeanologiya* [Oceanology]. 2011. Vol. 51, no. 1. P. 24–32.

Il'yash L. V., Zhitina L. S., Belevich T. A., Shevchenko V. P., Kravchishina M. D., Pantyulin A. N., Tolstikov A. V., Chul'cova A. L. Prostranstvennoye raspredeleniye fitoplanktona Belogo morya pri netipichnom dominirovaniy dinoflagellyat (iyul' 2009 g.) [Spatial distribution of phytoplankton in the White Sea during atypical dinoflagellates domination (July 2009)]. *Okeanologiya* [Oceanology]. 2016. Vol. 56, no. 3. P. 403–413. doi: 10.7868/S0030157416030096

Kravchishina M. D. Vzveshennoye veshestvo Belogo morya i ego granulometricheskii sostav [Suspended substance in the White Sea and its grain size distribution]. Moscow: Naushniy mir, 2009. 264 p.

Maksimova M. P. Estuarnaya ierarhicheskaya sistema Belogo morya [Hierarchical estuarine system of the White Sea]. Preprint doklada [Preprint]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2012. 48 p.

Primakov I. M. Mehanizmi formirovaniya prostranstvenno-vremennoy organizatsii soobshestv mezozooplanktona Belogo morya [Formation mechanisms of spatio-temporal organization of mezozooplankton communities in the White Sea]. Issledovaniye fauny morey [Explorations of the Fauna of the Seas]. St. Petersburg: ZIN RAS, 2012. Vol. 70 (78). 137 p.

Semenov E. Chislennoe modelirovanie dinamiki Belogo morya i problema monitoringa [Numerical modelling of the White Sea dynamics and a problem of monitoring]. *Izvestiya RAN, FAO* [Izvestiya, Atmospheric and Oceanic Physics]. 2004. No. 1. P. 128–141.

Tolstikov A. V. Izmenchivost' temperaturi poverhnostnogo sloya Belogo morya [Variability of the surface layer temperature of the White Sea]. Moscow: GEOS, 2016. 212 p.

Tolstikov A. V., Filatov N. N., Zdorovenov R. E. Be-
loe more i ego vodosbor. Svidetel'stvo ob oficial'noy reg-
istracii bazy danih [The official registration certificate
of the database *The White Sea and its catchment*].
No. 2010620435 ot 16.08.2010

Vichislitel'nyy klaster Karel'skogo nauchnogo
centra RAN [Computer cluster of KRC RAS]. Centr
visokoproizvoditel'noy obrabotki danih [Cen-
ter for high-performance data processing]. URL:
<http://cluster.krc.karelia.ru> (accessed: 01.08.2016).

Vichislitel'nyy klaster Instituta vichislitel'noy matema-
tiki RAN [Computer cluster of Numerical Mathematics].
URL: www.inm.ras.ru/claster (accessed: 01.08.2016).

Yakovlev N. G. Vosproizvedeniye krupnomasshtab-
nogo sostoyaniya vod i morskogo l'da Severnogo Ledo-
vitogo okeana v 1948–2002 gg. Chast' 1: Chislennaya
model' i srednee sostoyanie [Reproduction of the large-
scale state of water and sea ice in the Arctic Ocean from
1948 to 2002. Pt. 1. Numerical model and the average
state]. *Izvestiya RAN, FAO [Izvestiya, Atmospheric and
Oceanic Physics]*. 2009. No. 3. P. 1–16.

Berger V., Dahle S., Galaktionov K., Kosoboko-
va X., Naumov A., Rat'kova T., Savinov V., Savinova T.
White Sea. Ecology and Environment. St. Petersburg;
Tromsø. 2001. 157 p.

Biogeochemical Flux Model (BFM). URL:
<http://bfm-community.eu> (accessed: 08.09.2016).

Burenkov V. I., Kopelevich O. V., Sheberstov S. V.,
Vazulya S. V. Space-time variability of suspended mat-
ter in the White Sea from satellite ocean color data. Cur-
rent Problems in Optics of Natural Waters. Proceedings
of the VI International conference. St. Petersburg: Nau-
ka, 2011. P. 143–146.

Chernov I. Numerical Modelling of large-scale Dyna-
mics of the White Sea. *Universal Journal of Geoscience*.
2013. Vol. 1 (3). P. 150–153.

Kravchishina M., Klyuvitkin A., Filippov A., Novi-
gatsky A., Politova N., Shevchenko V., Lisitzin A. Sus-
pended particulate matter in the White Sea: the results
of long-term interdisciplinary research. Complex Inter-
faces Under Change: Sea – River – Groundwater – Lake.
Proceedings of HP2/HP3, IAHS-IAPSO-IASPEI Assem-
bly (Gothenburg, Sweden, July 2013). 2015. P. 35–41.

Lazzari P., Solidoro C., Salon S., Bolzon G. Spatial
variability of phosphate and nitrate in the Mediterranean
Sea: A modeling approach. *Deep Sea Research. Part I: Oceanographic Research Papers*. 2016. 108. P. 39–52.

Martynova D. M., Kazus' N. A., Bathmann U. V.,
Graeve M., Sukhotin A. A. Seasonal abundance and
feeding patterns of copepods *Temoralongicornis*,
Centropageshamatus and *Acartia* spp. in the White
Sea (66°N). *Polar Biology*. 2011. 34. P. 1175–1195. doi:
10.1007/s00300-011-0980-7

Usov N., Kutcheva I., Primakov I., Martynova D. Ev-
ery species is good in its season: Shifts in annual tem-
perature dynamics affect the zooplankton in the White
Sea differently. *Hydrobiologia*. 2013. Special Issue. 706
(1). P. 11–33. doi: 10.1007/s10750-012-1435-z

Vichi M., Lovato T., Gutierrez Mlot E., McKiver W.
Coupling BFM with Ocean models: the NEMO model
(Nucleus for the European Modelling of the Ocean).
BFM Report series No. 2. Release 1.0 (August 2015. Bo-
logna. Italy). 2015. 31 p.

Received October 03, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Толстик Алексей Владимирович

старший научный сотрудник, к. г. н.
Институт водных проблем Севера Карельского научного
центра РАН
пр. А. Невского, 50, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185030
эл. почта: alexeytolstikov@mail.ru
тел.: (8142) 576381

Чернов Илья Александрович

старший научный сотрудник, к. ф.-м. н.
Институт прикладных математических исследований
Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: iachernov@yandex.ru
тел.: (8142) 766312

Мурзина Светлана Александровна

заведующая лаб. экологической биохимии, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
пр. А. Невского, 50, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185030
эл. почта: murzina.svetlana@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Tolstikov, Alexey

Northern Water Problems Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
50 A. Nevsky St., 185030 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: alexeytolstikov@mail.ru
tel.: (8142) 576381

Chernov, Ilya

Institute of Applied Mathematical Research,
Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: iachernov@yandex.ru
tel.: (8142) 766312

Murzina, Svetlana

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
50 Nevsky St., 185030 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: murzina.svetlana@gmail.com

Мартынова Дарья Михайловна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, Россия, 199034
эл. почта: daria.martynova@gmail.com
тел.: (812) 3280311

Яковлев Николай Геннадьевич

ведущий научный сотрудник, д. ф.-м. н.
Институт вычислительной математики РАН
ул. Губкина, 8, Москва, Россия, 119333
эл. почта: nick_yakovlev@mail.ru
тел.: (495) 9848120

Martynova, Daria

Zoological Institute, Russian Academy of Sciences
1 Universitetskaya Nab., 199034 St. Petersburg, Russia
e-mail: daria.martynova@gmail.com
tel.: (812) 3280311

Yakovlev, Nikolai

Institute of Numerical Mathematics,
Russian Academy of Sciences
8 Gubkin St., 119333 Moscow, Russia
e-mail: nick_yakovlev@mail.ru
tel.: (495) 9848120

УДК 577.3

СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКА И ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МОЛЕКУЛ С ШУНГИТОВЫМ НАНОУГЛЕРОДОМ

С. П. Рожков, А. С. Горюнов

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Изучение физико-химических взаимодействий белков и других биологически значимых молекул с шунгитовым нанокуглеродом (ShC), как представителем семейства графеновых наноматериалов, необходимо для обеспечения биобезопасности в разных областях его применения, включая биомедицину. Динамические характеристики поверхности потенциального контакта нано- и биоструктур, характеристики взаимодействия с растворителем (гидратация) несут существенную информацию о типах возникающих связей и взаимодействиях, включая взаимодействие с переносом лигандов, а также о свойствах соответствующих бионаногибридных систем. Методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спинового зонда на основе стеариновой жирной кислоты (ЖК) исследовано динамическое состояние области контакта (поверхности) углеродных нанокластеров в дисперсиях ShC с молекулами белка (сывороточного альбумина быка, САБ) и других биологически значимых молекул и ионов, влияющих на гидратацию (сахароза, мочевины, Na^+ , Cl^- , H^+ , OH^-). Показано, что в смешанной дисперсии ShC и САБ возможен перенос спин-зонда (ЖК) с белка на нанокуглерод и наоборот в зависимости от соотношения их концентраций. В переносе, вероятно, задействована белковая корона наночастиц. Эффект наблюдается при концентрации ShC на два порядка меньшей, чем концентрация белка. Это означает возможность использования нанодисперсии ShC для воздействия на связывание и транспорт ЖК сывороточным альбумином. Применение дополнительных растворенных веществ может позволить регулировать это воздействие, как это наблюдается в случае с сахарозой. Нелинейности аррениусовских зависимостей параметров спектра ЭПР спин-зонда в смешанных дисперсиях ShC могут свидетельствовать о наличии фазового перехода, как в полимерных растворах.

К л ю ч е в ы е с л о в а: водная нанодисперсия углерода; электронный парамагнитный резонанс спин-зондов; сывороточный альбумин; сахароза; мочевины; жирная кислота.

S. P. Rozhkov, A. S. Goryunov. STRUCTURAL DYNAMIC EFFECTS OF PROTEIN AND OTHER BIOLOGICALLY SIGNIFICANT MOLECULES' INTERACTION WITH SHUNGITE NANOCARBON

Understanding of physicochemical interactions of proteins and other biologically significant molecules with shungite nanocarbon (ShC), a graphene family nanomaterial, is required to provide biosafety in various fields of its application including biomedicine. Dynamic characteristics of potential bio-nano interface, characteristics of interaction with the solvent (hydration) carry important information about the types of arising bonds

and interactions, the interaction of ligand transfer among them, as well as about the properties of the corresponding bio-nano hybrid forms. The dynamic state of the interface (surface) of carbon nanoclusters in ShC dispersions and protein (bovine serum albumin, BSA) and other biologically significant molecules and ions (sucrose, urea, NaCl, HCl, NaOH) that can affect hydration have been studied using electron spin resonance (ESR) of spin probe based on stearic fatty acid (FA) molecule. A transfer of spin probe (FA) from protein to nanocarbon and vice versa in a mixed dispersion of ShC and BSA has been shown to occur depending on their concentration ratio. Nanoparticle protein corona is probably involved in the transfer. The effect has been observed at ShC concentration an order of magnitude lower than that of protein. This signifies the possibility to influence FA binding and transport by serum albumin using ShC dispersion. This effect can be regulated by additional solutes, as has been observed in the case of sucrose. Nonlinearities of Arrhenius dependences of ESR spin probe spectrum parameters in mixed ShC dispersions may indicate the phase transition as in polymer solutions.

Key words: water carbon nanodispersion; electron spin resonance; serum albumin; sucrose; urea; fatty acid.

Введение

В последние годы исследования водных дисперсий наночастиц (НЧ) шунгитового углерода (ShC) получили интенсивное развитие, что позволило предложить сценарий происхождения шунгита и ответить на ряд вопросов о причинах его уникальных свойств [Rozhkova et al., 2016]. При всем подобии конденсационных структур, возникающих при осаждении водных дисперсий разнообразных углеродных наноматериалов, шунгитовый наноуглерод выделяется основным структурным элементом, лежащим в основе его строения. Это непланарные молекулы, которые, как показывают последние данные целого ряда экспериментальных методов, близки по свойствам к восстановленному оксиду графена (ВОГ) [Stankovich et al., 2007; Kim et al., 2011; Sheka, Rozhkova, 2014]. Шунгитовый углерод нерастворим в воде из-за преобладания гидрофобных участков на поверхности его ультрадисперсных частиц. Однако непланарные графеновые элементы образуют стопки (наподобие монетных столбиков) размерами до 1,5 нм с суммарным дипольным моментом около 6,5 дебай. Дипольный момент и полярные группы (гидроксильные, лактонные и др.) по дефектным краям фрагментов могут придавать наночастицам углерода гидрофильные свойства, снижать поверхностную энергию и способствовать устойчивости кластеров наночастиц в водной дисперсии и интеркаляции относительно больших количеств воды в кластерах [Xu et al., 2014]. Наряду с тем интересом, который графеновые структуры вызывают с точки зрения их физической, химической, кристаллической фазовой природы, большое внимание в настоящее время сосредоточено на изучении биологических взаимодействий этих двумерных

наноматериалов для новых разработок в области биомедицины и обеспечения охраны здоровья и безопасности человека в разных областях их применения [Wang et al., 2016].

Биологические эффекты и в конечном счете биологическая активность абиогенных наноструктур вообще определяется характером и природой взаимодействий и комплексов, возникающих при введении наноструктур в биологическую среду, а также контактов, образующихся при этом в белковых растворах, клеточных суспензиях, культурах клеток. Область контакта наноматериала и биологической системы охватывает сферу динамических физико-химических взаимодействий, кинетики и термодинамики процессов обмена между поверхностями наноматериала и биологической структуры (белка, мембраны, везикул, липидов, ДНК). Для разработки этого направления необходимо иметь ясное представление о силах и молекулярных компонентах, которые участвуют во взаимодействиях, возникающих в области контакта в ходе коллоидно-химических и компенсационных процессов как на био-, так и на наноповерхности.

Динамические характеристики состояния поверхности потенциального контакта нано- и биоструктур несут существенную информацию о характере возникающих связей и взаимодействий, включая взаимодействие с переносом лигандов. Важной характеристикой является, в частности, состояние гидратации поверхности, взаимодействие с растворителем, в том числе многокомпонентным. Метод ЭПР спин-зонда – один из прямых методов, позволяющих изучать структурно-динамические свойства поверхности как белковых, так и наноструктур, а также особенности их гидратации [Рождков и др., 2007]. В работе ставится задача провести

методом ЭПР спиновое зонда исследование динамического состояния области контакта (поверхности) углеродных нанокластеров в дисперсиях шунгитового углерода с молекулами белка (сывороточного альбумина быка, САБ) и других биологически значимых молекул и ионов, влияющих на гидратацию (сахароза, мочевины, соли). Мы использовали гидрофобный спин-зонд на основе жирной (стеариновой) кислоты, который хорошо связывается с сывороточным альбумином в гидрофобных участках поверхности и полостях макромолекулы белка и может удовлетворительно связываться с шунгитовым нанокластером из-за преимущественно гидрофобной природы поверхности его наночастиц. Способность нитроксильной группы зонда к образованию водородной связи с молекулами воды, так же как и его динамические свойства (константа сверхтонкой структуры, амплитуда и ширина линий спектра, время корреляции), является чувствительным инструментом для характеристики состояния гидратации и ее изменений, в том числе при фазовых превращениях.

Материалы и методы

В работе использовались препараты коммерческого необезжиренного (5-я фракция) сывороточного альбумина быка (САБ) производства PAA Laboratories GmbH. Стабильные водные дисперсии наночастиц ShC (H4 ShC) представляли собой образцы, приготовленные из шунгитового горнорудного сырья Шуньга I согласно методике Н. Н. Рожковой [2011] и охарактеризованные с помощью спектрофотометрии UV-Vis, рамановского рассеяния и динамического рассеяния света (ДРС) с исходной концентрацией углерода 0,1 мг/мл (рН 7,2). При изучении структурно-динамических характеристик с молекулами САБ и H4 ShC связывался гидрофобный спиновый зонд на основе молекулы 5-доксил-стеариновой кислоты (5-DOXIL-stearic acid, 5DSA) (Sigma). Спектры ЭПР спин-зонда регистрировались на радиоспектрометре ЭПР Bruker EMX 6/1 с термостатируемой ячейкой резонатора ($\pm 0,2$ °C) при амплитуде модуляции 1 Гс и СВЧ мощности 12,6 мВт во избежание насыщения и искажения сигнала. Эффективное время корреляции $\tau^{\text{эфф}}$ и параметр анизотропии ϵ диффузии спин-зонда рассчитывались по известным формулам [Вассерман, Коварский, 1986], в которые входят такие параметры спектра (сигнала) ЭПР спин-зонда, как отношения интенсивностей низкополевых $h_{(+1)}$ и высокополевых $h_{(-1)}$ линий к центральной линии $h_{(0)}$: $h_{(+1)}/h_{(0)}$; $h_{(-1)}/h_{(0)}$, отношение низкополевых и высокополевых

линий $h_{(+1)}/h_{(-1)}$, с учетом соответствующих значений ширины линий ΔH спектра ЭПР [Dhami et al., 2008]:

$$\tau^{\text{эфф}} = 6,65\Delta H_{(+1)} [(h_{(+1)}/h_{(-1)})^{1/2} - 1] 10^{-10} \text{ с.} \quad (1)$$

Параметр порядка S рассчитывали по данным о сверхтонком расщеплении линий спектра: $S = (A_{\parallel} + 2A_{\perp}) / (A_z - A_x)$, где A_z , A_x – главные значения тензора сверхтонкой структуры (СТС), которые для зонда 5DSA составляют 31,42 и 5,92 Гс соответственно [Вассерман, Коварский, 1986]; A_{\parallel} , A_{\perp} – главные значения тензора СТС, определяемые экспериментально как наибольшее и наименьшее расстояние между максимумами крайних линий спектра соответственно.

Зонд, изначально растворенный в хлороформе, после испарения растворителя осаждался в виде пленки, на которую затем наносили дисперсию H4 ShC или раствор САБ. При этом часть зонда из пленки сорбировалась H4 ShC либо молекулами САБ. Количество адсорбированного спин-зонда контролировалось по спектру ЭПР. Полученную дисперсию использовали для приготовления образцов разного состава. В отсутствие наночастиц ShC или молекул белка зонд из пленки в объемную воду не переходил. В результате в исходном образце ShC наблюдали три узких эквидистантных линии спектра с различной амплитудой, которые соответствуют быстрому анизотропному вращению зонда (рис. 1). По внешнему виду спектр оказался аналогичен спектрам зонда 5DSA, находящегося в изотропной фазе жидкого кристалла [Arcioni et al., 2002]. Параметр анизотропии ϵ изменялся с температурой практически линейно от 0,3 до 0,9 в исследованном диапазоне температур, а параметр порядка S не превышал значения 0,15. Это соответствует быстрому вращению содержащего N-O^{*} группу кольца молекулы зонда вокруг молекулярной оси u , перпендикулярной N-O связи и p_z орбитали атома азота, с временем корреляции τ_{\perp} [Arcioni et al., 2002]. При такой динамике N-O^{*} группы зонда эффективные значения его времени корреляции $\tau^{\text{эфф}}$, рассчитанные по формуле (1) модели изотропного вращения зонда, адекватно характеризуют его поведение и состояние его микроокружения [Лихтенштейн, 1974].

Спектр ЭПР спин-зонда, сорбированного молекулами САБ, за счет иммобилизации подвижности зонда, находящегося в полостях белка, характеризовался наличием сильно уширенных линий (рис. 1), на фоне которых наблюдались узкие линии от зонда, сорбированного на поверхности белка. Однако доля таких зондов не превышала 3 %.

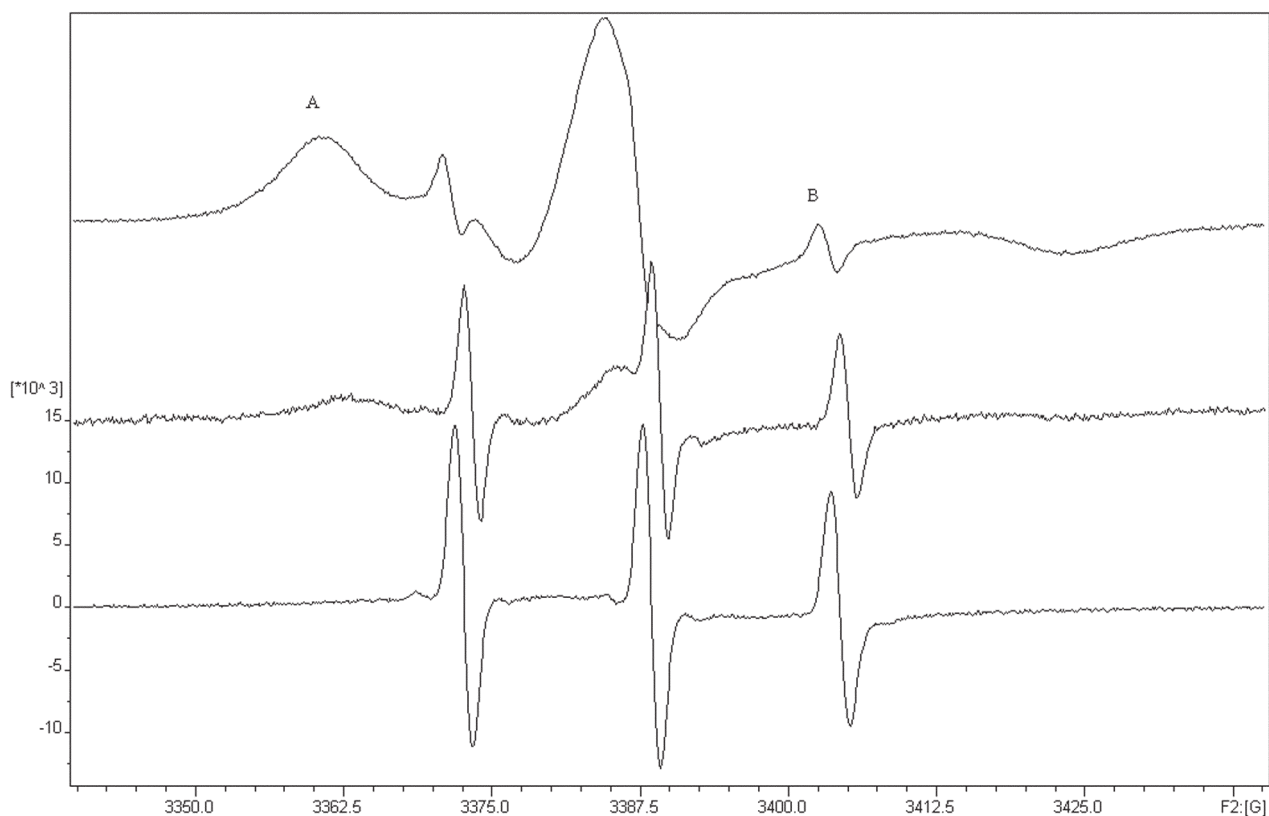


Рис. 1. Экспериментальные спектры ЭПР водных растворов и дисперсий, содержащих спин-зонд 5-доксил-стеариновую кислоту. Сверху вниз: раствор сывороточного альбумина быка (САБ); смешанная нанодисперсия САБ и шунгитового наноглерида (ShC); нанодисперсия ShC

В работе также использовались химически чистые реагенты: сахароза, мочеви́на, NaCl, NaOH, HCl.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты

На рисунке 1 представлены спектры ЭПР зонда 5DSA в комплексе с САБ, в смешанной дисперсии САБ и ShC, в дисперсии ShC. Видно, что спектры зонда 5DSA, сорбированного белком (верхний спектр) и сорбированного наноглериодом (нижний спектр), существенно различаются: в случае САБ – это иммобилизованный спектр с широкими линиями, в случае ShC – узкие линии быстро вращающегося зонда. Это значит, что подвижность зонда в структуре наночастиц ShC заметно выше, чем в структуре САБ. Спектр зонда в смешанной дисперсии САБ и ShC (средний спектр на рис. 1) является промежуточным по форме, что позволяет считать его суперпозицией спектров зонда на

САБ и на ShC в отдельности. Это указывает на распределение зонда между центрами на САБ и на ShC. Соответственно, при избытке в дисперсии САБ 5DSA преимущественно сорбируется на САБ, но с ростом концентрации ShC идет перераспределение в сторону сорбции на кластерах ShC. Это может означать, что между нанокластерами ShC и молекулами САБ имеет место конкуренция за сорбцию 5DSA.

Константа изотропной сверхтонкой структуры $2a_0^N$, которая определяется расстоянием между крайними острыми линиями спектра ЭПР, отражает полярность окружения спин-зонда. Более полярным оказывается окружение зонда, сорбированного на САБ, а наименее полярным – в смешанной дисперсии САБ и ShC. Вероятно, это обусловлено тем, что при образовании белковой короны из молекул САБ на нанокластерах ShC зонд экранируется от взаимодействия с водой растворителя, причем как на молекулах САБ, так и на HЧ ShC.

Зависимости амплитуды низкопольной линии спектра ЭПР 5DSA от мощности СВЧ ведут себя одинаково в образцах отдельно с ShC и с САБ, что говорит о наличии в каждом из случаев единой системы спинов. В смешанной же дисперсии ShC и САБ наблюдается более

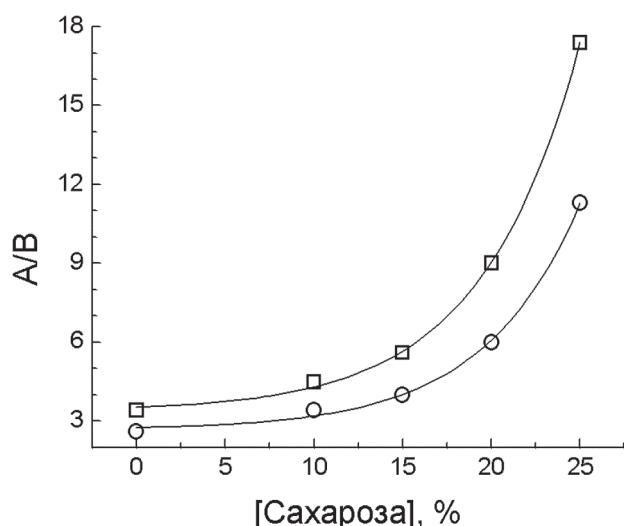


Рис. 2. Зависимости отношения амплитуд А и В линий спектра ЭПР спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты, связанного молекулами САБ и наночастицами ShC, от концентрации сахарозы. Концентрация белка 10 мг/мл; шунгитового наночуглерода 0,1 мг/мл 0,015 М фосфатный буфер. Квадраты – раствор САБ, кружки – смешанная дисперсия САБ и ShC

сильное насыщение, что обусловлено, как правило, взаимодействием двух спиновых подсистем. Наиболее вероятно, это подсистема зонда на белке в растворе и в составе белковой короны наночастиц ShC и подсистема зонда в структуре собственно наночастиц, что вновь указывает на распределение зонда в смешанной дисперсии между САБ и НЧ ShC.

Для зонда, сорбированного молекулами САБ, информативным оказывается параметр, равный отношению амплитуды низкопольной широкой А-линии к амплитуде высокопольной узкой В-линии (рис. 1). Это отношение характеризует распределение зонда между состояниями свободного вращения в окружении молекул растворителя (узкие линии) и в полостях в окружении элементов структуры белка (широкие линии). Амплитуды линий растут с температурой: амплитуда узкой – экспоненциально, а амплитуда широкой – линейно с переходом в области 33 °С (305 К). При постоянной температуре амплитуда широкой А-линии растет, а узкой В-линии уменьшается с ростом концентрации сахарозы, стабилизирующей структуру белка. Отношение амплитуд А/В увеличивается экспоненциально с ростом содержания сахарозы (рис. 2). В смешанной дисперсии НЧ ShC и САБ эффект менее выражен и сдвинут в сторону больших концентраций сахарозы, т. е. ShC вызывает увеличение подвижности зонда даже в присутствии такого стабилизирующего агента, как сахароза. Эти данные, на первый взгляд,

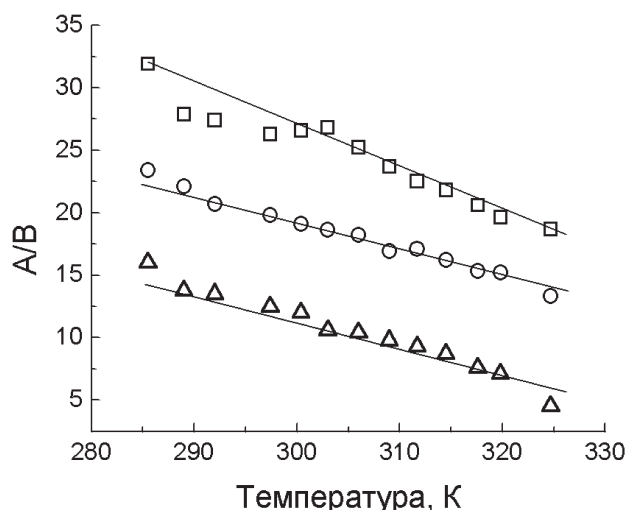


Рис. 3. Зависимость отношения амплитуд А/В линий спектра ЭПР спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты, связанного с САБ, от абсолютной температуры. Квадраты – раствор САБ, кружки – смешанная дисперсия САБ и НЧ ShC, треугольники – раствор САБ в присутствии мочевины. Концентрация белка 10 мг/мл, наночуглерода 0,1 мг/мл, мочевины 2 М 0,015 М фосфатный буфер

говорят о том, что известный эффект стабилизации структуры белковой глобулы в присутствии сахарозы как бы ослабляется под влиянием ShC.

По данным о соотношении амплитуд А/В (рис. 3) видно, что присутствие ShC и дестабилизирующей структуру белка мочевины в дисперсии САБ вызывает сдвиг равновесия в сторону В-линии (А/В уменьшается). Это указывает на рост числа молекул зонда с большей подвижностью. Поскольку эффект ShC в присутствии как стабилизирующего (сахароза), так и дестабилизирующего (мочевина) структуру белка агентов состоит в увеличении подвижности зонда, то природа эффекта, скорее всего, – не в (де) стабилизации структуры САБ. Так же, как и изменение формы спектра (рис. 1), этот результат объясняется тем, что часть молекул зонда может переходить с белка в состав кластеров наночастиц ShC, где его подвижность существенно выше. Более того, при повышении содержания сахарозы эффект ShC увеличивается, что указывает на смещение распределения зонда между САБ и НЧ в сторону ShC с ростом концентрации сахарозы. Это может быть связано с агрегационными и восстановительными эффектами сахарозы в отношении графеновых фрагментов и устойчивости дисперсии НЧ ShC [Zhu et al., 2010].

В присутствии ShC и мочевины наблюдается линейное уменьшение отношения А/В с ростом температуры, тогда как в растворе САБ

при температурах меньше 305 К имеет место отклонение от линейности. Эта особенность может быть связана с закритическим фазовым переходом в растворе белка.

Переход при 305 К регистрируется и на температурной зависимости экспериментального параметра d_1/d спектра ЭПР спин-зонда 5DSA, связанного с белком, где d_1 – расстояние между максимумами амплитуд крайних широких линий спектра, d – амплитуда центральной линии. Этот параметр характеризует среднее расстояние взаимодействия между нитроксильными группами меток или зондов в застеклованных матрицах, возрастая при уменьшении расстояния. Линейно возрастающая зависимость d_1/d от концентрации сахарозы в растворе белка претерпевает параллельный сдвиг в сторону больших значений d_1/d в смешанной дисперсии САБ и ShC.

На рисунке 4 представлены температурные зависимости расстояния $2A_{zz}$ между крайними широкими линиями спектра ЭПР (параметр тензора СТС) для зонда в комплексе с САБ. Этот параметр убывает в целом линейно с ростом температуры вслед за увеличением

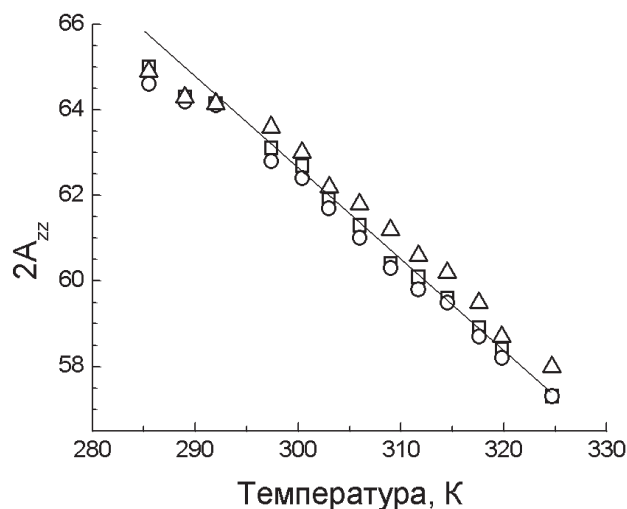


Рис. 4. Зависимость параметра $2A_{zz}$ (Гц), соответствующего расстоянию между крайними широкими экстремумами спектра ЭПР спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты, связанного с САБ, от абсолютной температуры. Условия и обозначения – как на рис. 3

подвижности зонда. Однако при температурах ниже 20 °С (273 К) здесь наблюдается

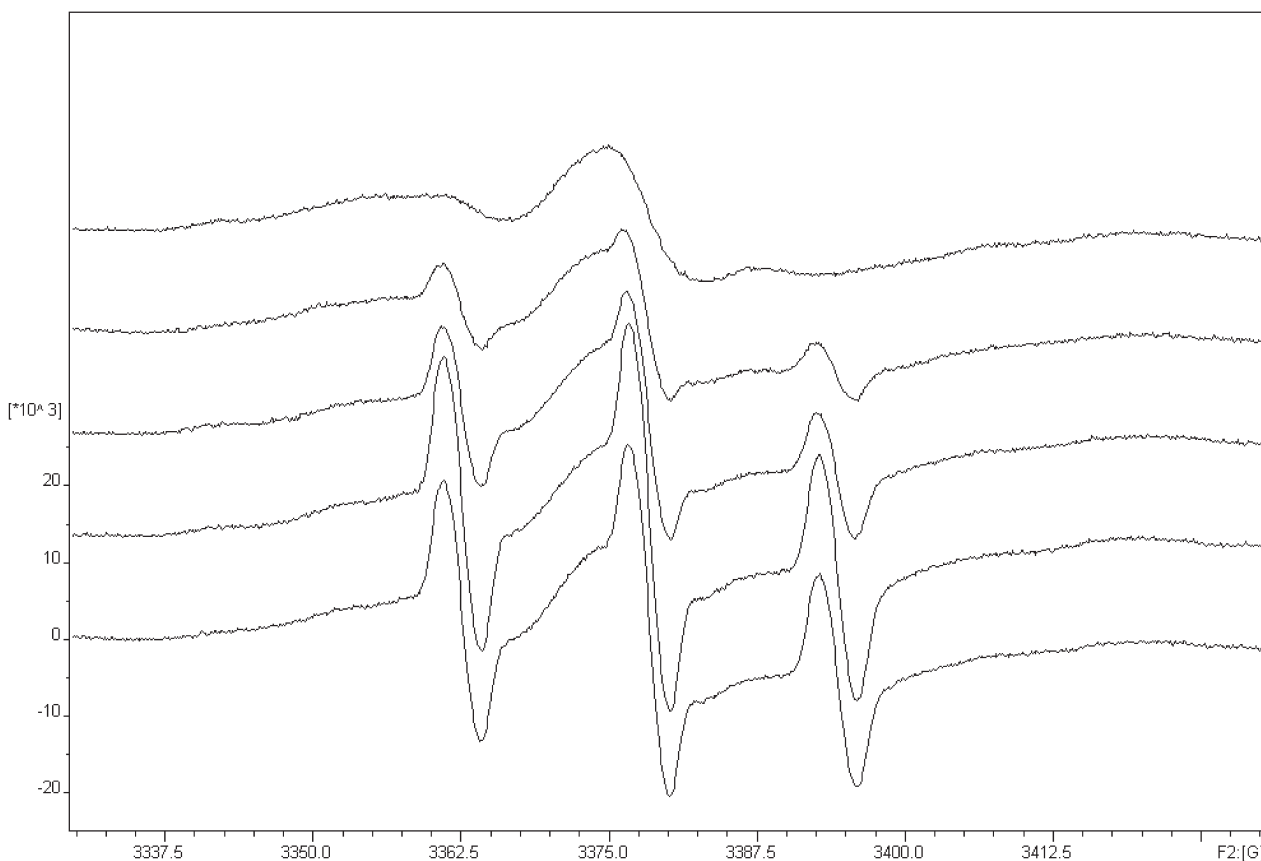


Рис. 5. Экспериментальные спектры ЭПР спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты в дисперсиях нанокластеров шунгитового углерода (ShC) разного состава. Дисперсии нанокластеров ShC при внесении (сверху вниз): 0,05 н. HCl; 0,75 М NaCl; 6 М мочевины; 0,5 н. NaOH. Нижний спектр – контроль: водная дисперсия наночастиц ShC (0,05 мг/мл). Развертка 100 Гс, амплитуда модуляции 5 Гс, СВЧ-мощность 31 мВт. Температура 291 К

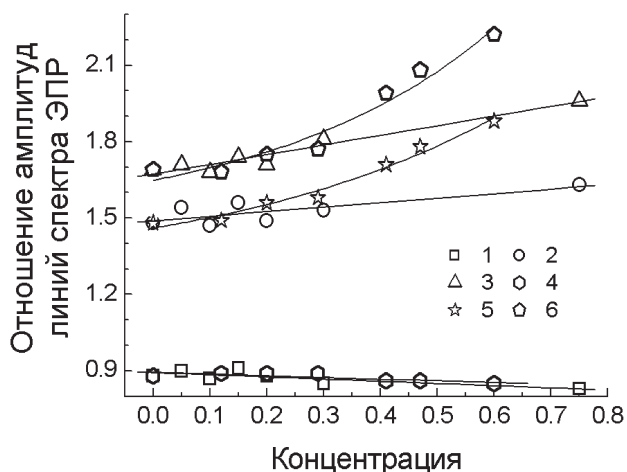


Рис. 6. Зависимости отношений амплитуд линий спектра ЭПР спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты от концентрации NaCl (1, 2, 3) и сахарозы (4, 5, 6) в водной нанодисперсии шунгитового углерода (ShC). 1, 4 – отношение h_{+1}/h_0 ; 2, 5 – отношение h_{+1}/h_{-1} ; 3, 6 – отношение h_0/h_{-1} . Температура 291 К

существенное отклонение от линейности, которое имеет место и в случае с мочевиной, и в случае с ShC, в отличие от зависимостей A/B (рис. 3). Уменьшение $2A_{zz}$ может быть связано с изменением взаимодействия N-O* группы зонда с водой.

На рисунке 5 представлены экспериментальные спектры ЭПР спин-зонда 5DSA в составе наночастиц ShC в водной дисперсии, а также в присутствии в дисперсии молекул другого типа, влияющих на гидратацию наночастиц и микроокружение зонда.

В дисперсиях ShC разного состава амплитуды и ширина линий спектров различны. С ростом уширения линий происходит уменьшение амплитуды сигнала, которое сказывается на отношении сигнал/шум. Для повышения разрешения сигнала обзорные спектры записывались при увеличенной амплитуде модуляции и СВЧ-мощности (рис. 5), что позволило продемонстрировать характер изменения подвижности зонда при переходе от одного состава дисперсии ShC к другому, хотя и привело к некоторому искажению исходной формы спектров. На рисунке 5 спектры расположены в порядке, соответствующем уменьшению подвижности (увеличению иммобилизации) зонда снизу вверх. Иммобилизация минимальна для наночастиц ShC в воде и максимальна в кислой среде (с HCl). Спектр ЭПР, близкий по форме к полученному в кислой среде, имеем также при полном выпаривании воды из дисперсии ShC (сухой образец) или при большом содержании сахарозы (на рис. 5 не приведены). Однако появление осадка при увеличении концентрации дисперсии ShC

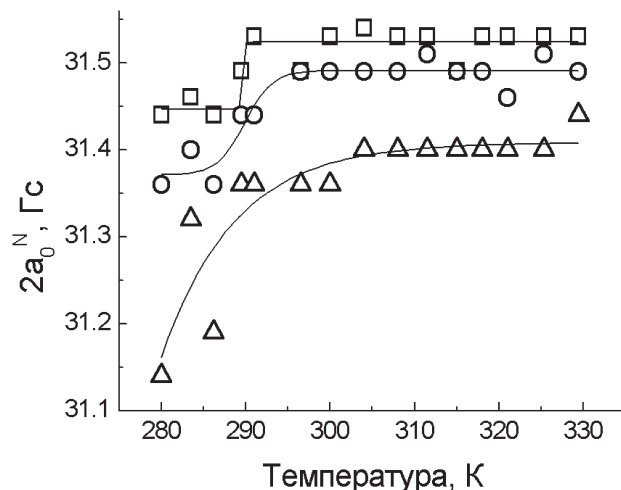


Рис. 7. Температурные зависимости константы сверхтонкого расщепления $2a_0^N$ (Гс) спектра ЭПР спин зонда 5-доксил-стеариновой кислоты в водной нанодисперсии шунгитового углерода (ShC) при концентрациях сахарозы 0 % (квадраты), 10 % (кружки), 20 % (треугольники)

в результате частичного выпаривания воды не вызывает изменения спектра ЭПР зонда и его параметров по сравнению с исходным спектром в разбавленной дисперсии ShC. Сахароза, наряду с ростом параметра порядка S (появление широких линий, соответствующих сильной иммобилизации), вызывает обменное уширение линии в отсутствие образования осадка.

В отсутствие искажения спектров ЭПР спин-зонда (амплитуда модуляции 1 Гс, СВЧ-мощность 12,5 мВт) параметрами, наиболее чувствительными к динамическому состоянию спин-зонда, являются отношения амплитуд линий спектра: h_{+1}/h_0 ; h_{+1}/h_{-1} ; h_0/h_{-1} . На рисунке 6 представлены зависимости этих параметров от концентрации NaCl и сахарозы: увеличение концентрации электролита вызывает линейный рост отношения амплитуд h_{+1}/h_{-1} и h_0/h_{-1} , в то время как увеличение концентрации углевода вызывает экспоненциальный рост. Отношение h_{+1}/h_0 лишь слабо убывает. Аналогичного типа изменения наблюдаются и для величины параметра порядка S, который растет в присутствии этих агентов. Эти данные подтверждают общую тенденцию к уменьшению подвижности зонда 5DSA при внесении в дисперсию ShC различных добавок, следующую из рассмотрения формы спектров (рис. 5).

На рисунке 7 представлены температурные зависимости параметра сверхтонкого расщепления $2a_0^N = 2/3 (A_{||} + 2A_{\perp})$ для ряда образцов с ShC. Здесь $A_{||}$ имеет тот же физический смысл, что A_{zz} в случаях, описанных выше. Во всех образцах, в том числе и при отсутствии сахарозы, наблюдаются зависимости

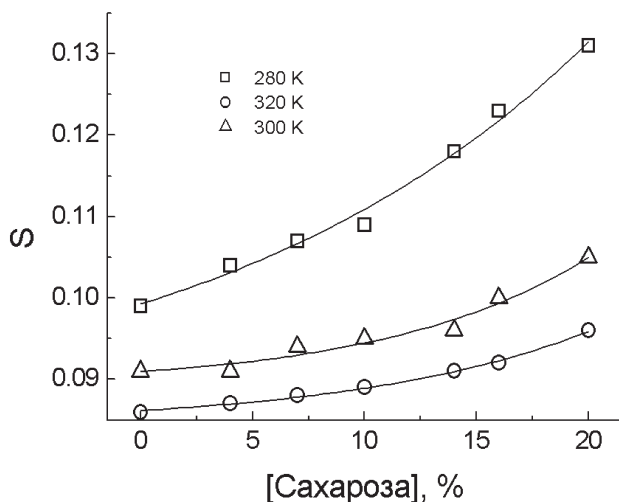


Рис. 8. Изотермы зависимости параметра порядка S спектра ЭПР спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты в водной нанодисперсии шунгитового углерода (ShC) от концентрации сахарозы

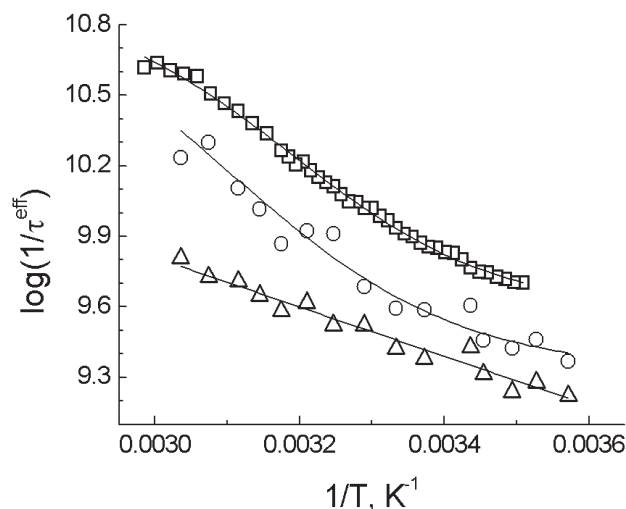


Рис. 9. Температурные зависимости частоты вращения ($1/\tau^{\text{эфф}}$) спин-зонда 5-доксил-стеариновой кислоты (в координатах Аррениуса) в водной нанодисперсии шунгитового углерода (ShC) (квадраты), при внесении 10 % (кружки) и 20 % (треугольники) сахарозы

сигмоидного типа с выходом на насыщение по мере роста температуры T :

$$a_0^N = (a_0^{N_1} - a_0^{N_2}) / [1 + e^{(T-T_0)/\lambda}] + a_0^{N_2} c,$$

где $a_0^{N_1}$ и $a_0^{N_2}$ – предельные значения для неполярного и полярного окружения спин-зонда, λ – эмпирический параметр [Marsh, 2001]. С ростом концентрации сахарозы a_0^N уменьшается, а точка наибольшей крутизны сдвигается в область более низких температур. Это связано с уменьшением диэлектрической проницаемости в присутствии углевода. Значение a_0^N для 5DSA при отсутствии связи N-O⁺ группы зонда с водой находится в интервале от 14,1 до 14,5 Гс при диэлектрической проницаемости в пределах от 2 до 80. Однако при наличии такой связи a_0^N может возрасти до 15,7 Гс и более [Marsh, 2001]. Судя по рисунку 6, все полученные нами значения a_0^N , в том числе и при отсутствии сахарозы, находятся в интервале, соответствующем наличию водородной связи N-O⁺ группы с водой. В таком случае переход к более высоким значениям a_0^N в области температур 290 К и выше свидетельствует о том, что в структуре водного окружения наночастиц ShC происходят изменения, приводящие к увеличению средней прочности водородной связи между N-O⁺ группой и молекулами воды. Это может быть результатом того, что с ростом температуры меняется распределение по энергиям водородных связей в сторону связей с более высокой энергией. В присутствии сахарозы этот процесс происходит в более широком интервале температур.

Сахароза в методе спиновых зондов может также использоваться как вязкостный агент при определении размеров эффективного эллипсоида вращения, которым экстраполируется спиновый зонд [Вассерман, Коварский, 1986]. Время корреляции вращающейся частицы радиуса r определяется по закону Стокса вязкостью раствора: $\tau_c = 4\pi\eta r^3 / kT$. Построение изотерм зависимости $\tau^{\text{эфф}} = \varphi(\eta / T)$ для зонда 5DSA в комплексе с наночастицами ShC при 10 и 18 °С позволило оценить эффективный радиус Стокса r спин-зонда в 0,25 нм, что хорошо соответствует известному размеру молекулы 5DSA. Также при экстраполяции изотерм τ_c к нулевым значениям η/T имеем нулевые значения времени корреляции в пределах ошибки измерений, т. е. изотермы описываются законом Стокса. Это может означать, что при данных температурах подвижность спин-зонда не ограничена в заметной степени стерическими барьерами и близка к вращательному диффузионному пределу, а доступ сахарозы к спин-зонду не затруднен и она действует как вязкостный агент по отношению к его подвижности. Вместе с тем изотермы, снятые при более высоких температурах, дают отрицательные значения τ_c при $(\eta/T) \rightarrow 0$. При этом существенно возрастает разброс экспериментальных точек: коэффициент корреляции R уменьшается с 0,99 до 0,86–0,94. Это означает, что при температурах выше 20 °С подвижность зонда хотя и зависит от присутствия сахарозы, но ограничена либо возникающими при этих температурах стерическими барьерами, либо доступом к зонду сахарозы, т. е. оказывает не связанное с механизмом вязкости влияние на динамику спин-зонда.

На рисунке 8 представлены зависимости параметра порядка S спин-зонда 5DSA в комплексе с наночастицами ShC от концентрации сахарозы. Во всех случаях имеем монотонное увеличение S с ростом концентрации сахарозы, причем принципиальных отличий в поведении зависимостей при разных температурах не наблюдается. Следовательно, сахароза при всех исследованных температурах оказывает влияние на подвижность зонда, определяющееся ее содержанием в среде. Очевидно, здесь реализуется другой механизм опосредованного воздействия содержания сахарозы на динамику зонда, возможно, наряду с вязкостным. И все же изменение характера отношения $2a_0^N$ (рис. 7) при температуре около 20 °C указывает на то, что в системе происходят превращения в сфере взаимодействий зонда и растворителя.

На рисунке 9 в координатах Аррениуса представлены температурные зависимости частоты вращения спин-зонда $1/\tau^{\text{эфф}}$ в бессахарозной дисперсии наночастиц ShC и при внесении в дисперсию сахарозы. Видно, что при отсутствии либо в присутствии 10 % сахарозы зависимости имеют форму сигмоиды вида $1/(1 + \exp(-kT(t - t_0) / \lambda))$, где t_0 – температура перегиба линии, λ – эмпирический параметр, k – константа Больцмана. Экстраполяция линейными участками в диапазоне высоких $t > t_0$ и низких $t < t_0$ температур позволяет оценить энергию активации $E_1 \approx 12,2$ кДж/моль, предэкспоненциальный множитель $1/\tau_0 \approx 7 \cdot 10^{14} \text{ с.}^{-1}$ и $E_2 \approx 7,5$ кДж/моль и $1/\tau_0 \approx 2 \cdot 10^{13} \text{ с.}^{-1}$ соответственно. Форма сигмоиды заметно изменяется при внесении сахарозы. При концентрации 20 % зависимость становится линейной и характеризуется единым значением энергии активации, близким к значению для низкотемпературной зоны. При этом переход около 35 °C исчезает или сдвигается в диапазон более низких или более высоких температур. Зависимость сигмоидного типа может отражать распределение зонда между двумя динамическими состояниями.

Обсуждение

Общий вид спектров ЭПР нерастворимого в воде спин-зонда 5DSA свидетельствует о том, что он хорошо сорбируется (связывается) не только с САБ, но и с НЧ ShC, т. е. НЧ имеют высокую сорбционную способность по отношению к стеариновой ЖК. Это обеспечивает достаточный для исследований интенсивный сигнал (спектр) ЭПР зонда.

Подвижность спин-зонда на НЧ ShC довольно велика и близка к вращательному диффузионному пределу, поскольку вычисленный по

параметрам спектра ЭПР радиус Стокса близок к молекулярным размерам зонда. Это говорит о быстрой вращательной диффузии зонда в водном окружении без стерических ограничений, а также об экспонированности зонда (его нитроксильной группы) в растворитель. При этом, судя по высоким значениям константы СТС a_0^N , образуется водородная связь нитроксильной группы NO^+ с H_2O .

Введение любых добавок в дисперсию ShC (кислота, щелочь, NaCl, мочевины, сахароза, САБ) приводит к снижению подвижности (иммобилизации) зонда, хотя и в разной степени.

Судя по аррениусовским зависимостям частоты вращения (рис. 9), спин-зонд на НЧ ShC имеет более одного (минимум два) состояния, различающихся по подвижности, в зависимости от температуры и присутствия молекул растворенных в дисперсии веществ. Перераспределение между этими состояниями, вероятно, происходит при температуре около 20 °C (293 K), т. к. зависимости большинства параметров спектра ЭПР зонда имеют при этой температуре особенности: скачок константы СТС в области 20 °C, что может быть обусловлено изменением состояния гидратной оболочки, связанной с перестройкой системы водородных связей; переход к невязкостному характеру влияния сахарозы на время корреляции и параметр порядка. Такие особенности указывают на превращения в системе связей «зонд – растворитель» с участием Н-связи нитроксильной группы зонда NO^+ с H_2O .

Основной эффект САБ на динамику зонда (исходя из формы спектров (рис. 1), характера насыщения спектров, отношения А/В (рис. 2)) в дополнение к тем, которые имеют место в присутствии только малых биологически значимых молекул и ионов, состоит в том, что происходит частичный перенос зонда между САБ и ShC. В результате устанавливается равновесие в распределении зонда по центрам связывания на белке и наноглереде. Уровень этого баланса определяется в первую очередь соотношением концентрация ShC и САБ. В это, судя по величинам константы a_0^N и деполяризации окружения зонда, определенный вклад вносит белковая корона, образующаяся за счет сорбции белка на НЧ при совместном присутствии белка и наноглереда в дисперсии. При этом состояние белка в короне отличается от состояния в растворе, т. к. степень деполяризации окружения зонда в составе комплекса белок – НЧ повышена.

Механизм иммобилизации зонда на НЧ в случае САБ и других биологически значимых молекул очевидно различен. В случае сахарозы, мочевины и ионов наиболее вероятно воздействие на

подвижность зонда через влияние на гидратацию НЧ. Это связано с тем, что все эти компоненты дисперсионной среды способны оказывать дегидратационное воздействие, взаимодействуя, например, по дефектным краям непланарных графеновых фрагментов и изменяя степень гидрофильности и поверхностную энергию наночастиц ShC. С другой стороны, эффект иммобилизации совершенно отсутствует при частичной дегидратации путем концентрирования дисперсии. Также вероятен вклад фактора коллоидной устойчивости дисперсии. Так, в щелочной среде при высоких pH дзета-потенциал наночастиц, как правило, велик (~40 мВ) и коллоидная устойчивость высокая. В кислой среде дзета-потенциал <30 мВ, устойчивость дисперсии значительно ниже и близка к границе устойчивости. Кроме того, однотипность изменений может быть обусловлена влиянием добавок на устойчивость прослоек дисперсионной среды (воды), препятствующих контакту гидрофобных поверхностей графеноподобного углерода. Это следует из того, что сахароза и NaCl способны повышать поверхностное натяжение и влиять на расклинивающее давление прослоек воды [Рожков, 1991], а мочевины и изменения pH влияют на состояние и прочность водородных связей. Это также может приводить к различию механизмов действия.

Механизм же иммобилизации в случае САБ связан с переносом части высокоподвижного зонда с НЧ ShC на САБ, где его подвижность ограничена по причине локализации в белковых полостях.

Таким образом, в смешанной дисперсии шунгитового наноуглерода и сывороточного альбумина возможен перенос жирной кислоты с белка на наноуглерод и наоборот в зависимости от соотношения их концентраций, то есть имеет место конкуренция белка и наноуглерода за жирную кислоту. При этом эффект наблюдается при концентрации ShC на два порядка меньше концентрации белка. Это означает возможность использования нанодисперсии шунгитового углерода для влияния на связывание и перенос жирной кислоты сывороточным альбумином, то есть для воздействия на транспортную функцию белка. Этот результат согласуется с данными, полученными нами методом дифференциальной сканирующей калориметрии для таких же смешанных дисперсий [Горюнов и др., 2016]. Более того, применение дополнительных растворенных веществ может позволить регулировать это влияние, как это наблюдается в случае с сахарозой (рис. 2).

В порядке обсуждения также необходимо отметить, что нелинейность либо сигмоидный характер аррениусовских зависимостей частоты

вращательной или поступательной диффузии спиновых зондов от температуры может свидетельствовать о наличии фазового перехода в таких системах, как это имеет место в полимерных растворах [Вассерман, Коварский, 1986] или растворах глобулярных белков [Rozhkov, Goryunov, 2012]. Активационные зависимости в координатах Аррениуса на рисунке 9 не имеют особенностей в диапазоне около 20 °С, в то время как на эту особенность указывают данные рисунка 7. Возможно, это обусловлено тем, что и кластеры, и метастабильная фаза существуют независимо в низкотемпературной области. При этом кластеры играют роль своего рода ПАВ [Щукин и др., 1982] для низкотемпературной фазы, если последняя представлена каплями микроскопических размеров. В этом случае формируется наноземля из кластеров, стабилизирующая эти капли более плотной метастабильной фазы. Поэтому исчезновение последней после 20 °С не влияет на динамику зонда. Вместе с тем точка перегиба активационных кривых в координатах Аррениуса наблюдается в диапазоне температур выше 305 К. Согласно предложенной нами ранее фазовой диаграмме (ФД) для дисперсии фуллеренов и ShC [Rozhkova et al., 2016], этот диапазон может соответствовать закритической (мезофазной) области ФД, в которой происходят структурно-динамические изменения раствора, соответствующие закономерностям закритического фазового перехода. В частности, можно предположить наличие линии Френкеля, разделяющей два различающихся по времени релаксации динамических состояния дисперсии ShC в закритической области [Brazhkin et al., 2012]. При этом промежуточное, коллоидное состояние мезофазы может быть представлено исключительно динамическими кластерами и различными олигомерами, получающимися в результате агрегации стопочных структур графеноподобного углерода.

Заключение

При внесении различных по химической природе биологически значимых веществ в нанодисперсию ShC наблюдается иммобилизация структур на поверхности наночастиц ShC, в частности, происходят превращения в системе водородных связей спин-зонда с водой растворителя. При введении САБ в дисперсию ShC происходит взаимодействие с переносом лиганда: обмен спин-зондом на основе жирной кислоты между белком и наноуглеродом. Направление переноса и уровень баланса обмена определяются соотношением концентраций белка и наноуглерода, а также присутствием малых органических молекул (сахароза).

Особенности, наблюдаемые на зависимостях параметров спектра ЭПР спин-зонда 5DSA, могут быть связаны и с фазовыми превращениями в нанодисперсии в целом. По своему поведению дисперсии наночастиц ShC имеют некоторое сходство с мицеллярными системами, в которых истинная растворимость и критическая концентрация мицеллообразования молекул ВОГ чрезвычайно мала, но за счет объединения вытянутых стопок, обладающих дипольным моментом и полярными группами, в кластеры осуществляется экранирование неполярных поверхностей от прямого контакта с объемной водой. Это ведет к существенному снижению поверхностного натяжения, и существование таких кластеров становится термодинамически оправданно [Щукин и др., 1982]. Аналогичный эффект характерен и для белковых систем, хотя растворимость последних несравненно выше. Вероятно, обнаруженная рядом методов кластерная природа наночастиц ShC [Rozhkova et al., 2016] и глобулярных белков [Rozhkov, Goryunov, 2012] может находить свое отражение в нелинейности аррениусовских зависимостей энергии активации диффузии спиновых зондов в широком диапазоне температур. Изменение состояния гидратации может быть сопряжено с термоиндуцированным разрушением структур воды в метастабильной кристаллосольватной низкотемпературной фазе, обнаруженной нами ранее в диапазоне 1–18 °С, и переходом к кластерной форме организации при более высоких температурах. В ней сохраняются остатки молекул воды в полостях, обладающие более прочными водородными связями, в том числе с N-O[•] группой нитроксильных радикалов. Эти молекулы воды могут формировать структурный барьер, препятствующий непосредственному гидрофобному контакту неполярных участков наночастиц ShC.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ 0221-2014-0010).

Литература

- Вассерман А. М., Коварский А. Л. Спиновые метки и зонды в физикохимии полимеров. М.: Наука, 1986. 246 с.
- Горюнов А. С., Рожков С. П., Суханова Г. А., Борисова А. Г. Термодинамические эффекты взаимодействия сывороточного альбумина с шунгитовым нанокремнеземом // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 11. С. 33–38. doi: 10.17076/eb428
- Лихтенштейн Г. И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии. М.: Наука, 1974. 256 с.

Рожков С. П. Стабилизация белка сахарозой по данному методу спиновой метки // Биофизика. 1991. Т. 36, № 4. С. 571–576.

Рожкова Н. Н. Нанокремнезем шунгитов. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. 100 с.

Рожков С. П., Ковалевский В. В., Рожкова Н. Н. Фуллеренсодержащие фазы, получаемые из водных дисперсий наночастиц углерода // Журнал физической химии. 2007. Т. 81, № 6. С. 952–958.

Щукин Е. Д., Перцов А. В., Амелина Е. А. Коллоидная химия. М.: МГУ, 1982. 250 с.

Arcioni A., Vacchiocchi C., Grossi L. et al. Electron spin resonance study of order and dynamics in a nematic liquid crystal containing a dispersed aerosol // J. Phys. Chem. B. 2002. Vol. 106 (36). P. 9245–9251. doi: 10.1021/jp020554j

Brazhkin V. V., Fomin Yu. D., Lyapin A. G. et al. Two liquid states of matter: a dynamic line on a phase diagram // Physical Review. E. 2012. Vol. 85, no. 3. P. 031203. doi: 10.1103/PhysRevE.85.031203

Dhami A. K., Bhat S., Sharma A. et al. Spin probe ESR dynamics of single walled carbon nanotubes // Spectrochimica Acta. Part A. 2008. Vol. 69. P. 1178–1182. doi: 10.1016/j.saa.2007.06.034

Kim J. E., Han T. H., Lee S. H. et al. Graphene oxide liquid crystals // Angew. Chem. Int. Ed. 2011. Vol. 50. P. 3043–3047. doi: 10.1002/anie.201004692

Marsh D. Polarity and permeation profiles in lipid membranes // PNAS. 2001. Vol. 98, no. 14. P. 7777–7782. doi: 10.1073/pnas.131023798

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Salt induced thermodynamic instability, concentration heterogeneity and phase transitions in lysozyme solutions // Biophysical Chemistry. 2012. Vol. 170. P. 34–41. doi: 10.1016/j.bpc.2012.08.001

Rozhkova N. N., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Natural graphene based shungite nanocarbon // Carbon nanomaterials sourcebook. Graphene, fullerenes, nanotubes, and nanodiamond. Vol. 1 / Ed. K. D. Sattler. Boca Raton, CRC Press Taylor and Francis Group, 2016. P. 153–176. doi: 10.1201/b19679–9

Sheka E. F., Rozhkova N. N. Fractals of graphene quantum dots in photoluminescence of shungite // Int. J. Smart Nano Math. 2014. Vol. 118, no. 5. P. 735–746. doi: 10.1134/S1063776114050161

Stankovich S., Dikin D. A., Piner R. D. et al. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide // Carbon. 2007. Vol. 45. P. 1558–1565. doi: 10.1016/j.carbon.2007.02.034

Wang Z., Zhu W., Qiu Y. et al. Biological and environmental interactions of emerging two-dimensional nanomaterials // Chem. Soc. Rev. 2016. Vol. 45, no. 6. P. 1750–1780. doi: 10.1039/c5cs00914f

Zhu C., Guo S., Fang Y. et al. Reducing sugar: New functional molecules for the green synthesis of graphene nanosheets // ACS Nano. 2010. Vol. 4. P. 2429–2437. doi: 10.1021/nn1002387

Xu Y., Watermann T., Limbach H.-H. et al. Water and small organic molecules as probes for geometric confinement in well-ordered mesoporous carbon materials // Phys. Chem. Chem. Phys. 2014. Vol. 16. P. 9327–9336. doi: 10.1039/C4CP00808A

Поступила в редакцию 20.07.2016

References

Goryunov A. S., Rozhkov S. P., Sukhanova G. A., Borisova A. G. Termodinamicheskie jeffekty vzaimodejstvija syvorotochnogo al'bmina s shungitovym nanouglerodom [Thermodynamic effects of serum albumin interaction with shungite nanocarbon]. *Trudy KarNC RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2016. No 11. P. 33–38. doi: 10.17076/eb428

Lihtenshtejn G. I. Metod spinovyh metok v molekulyarnoj biologii [Spin label technique in molecular biology]. Moscow: Nauka, 1974. 256 p.

Rozhkov S. P. Stabilizacija belka saharozoj po danym metoda spinovoj metki [Protein stabilization by sucrose according to the data of spin label technique]. *Biofizika [Biophysics]*. 1991. Vol. 36, no. 4. P. 571–576.

Rozhkova N. N. Nanouglerod shungitov [Shungite nanocarbon]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2011. 100 p.

Rozhkov S. P., Kovalevskij V. V., Rozhkova N. N. Fullerenosoderzhashhie fazy, poluchaemye iz vodnyh dispersij nanochastich ugleroda [Fullerene-containing phases obtained from aqueous dispersion of carbon nanoparticles]. *Zhurnal fizicheskoy himii [Russian Journal of Physical Chemistry]*. 2007. Vol. 81, no. 6. P. 952–958. doi: 10.1134/S0036024407060209

Shhukin E. D., Percov A. V., Amelina E. A. Kolloidnaja himija [Colloid Chemistry]. Moscow: MGU, 1982. 250 p.

Wasserman A. M., Kovarsky A. A. Spinovye metki i zondy v fizikohimii polimerov [Spin labels and probes in polymer physicochemistry]. Moscow: Nauka, 1986. 246 p.

Arcioni A., Bacchiocchi C., Grossi L. et al. Electron spin resonance study of order and dynamics in a nematic liquid crystal containing a dispersed aerosol. *J. Phys. Chem. B*. 2002. Vol. 106 (36). P. 9245–9251. doi: 10.1021/jp020554j

Brazhkin V. V., Fomin Yu. D., Lyapin A. G. et al. Two liquid states of matter: a dynamic line on a phase diagram. *Physical Review. E*. 2012. Vol. 85, no. 3. P. 031203. doi: 10.1103/PhysRevE.85.031203

Dhami A. K., Bhat S., Sharma A. et al. Spin probe ESR dynamics of single walled carbon nanotubes.

Spectrochimica Acta. Part A. 2008. Vol. 69. P. 1178–1182. doi: 10.1016/j.saa.2007.06.034

Kim J. E., Han T. H., Lee S. H. et al. Graphene oxide liquid crystals. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011. Vol. 50. P. 3043–3047. doi: 10.1002/anie.201004692

Marsh D. Polarity and permeation profiles in lipid membranes. *PNAS*. 2001. Vol. 98, no. 14. P. 7777–7782. doi: 10.1073/pnas.131023798

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Salt induced thermodynamic instability, concentration heterogeneity and phase transitions in lysozyme solutions. *Biophysical Chemistry*. 2012. Vol. 170. P. 34–41. doi: 10.1016/j.bpc.2012.08.001

Rozhkova N. N., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Natural graphene based shungite nanocarbon. Carbon nanomaterials sourcebook. Graphene, fullerenes, nanotubes, and nanodiamond. Vol. I. Ed. K. D. Sattler. Boca Raton, CRC Press Taylor and Francis Group, 2016. P. 153–176. doi: 10.1201/b19679-9

Sheka E. F., Rozhkova N. N. Fractals of graphene quantum dots in photoluminescence of shungite. *Int. J. Smart Nano Math*. 2014. Vol. 118, no. 5. P. 735–746. doi: 10.1134/S1063776114050161

Stankovich S., Dikin D. A., Piner R. D. et al. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon*. 2007. Vol. 45. P. 1558–1565. doi: 10.1016/j.carbon.2007.02.034

Wang Z., Zhu W., Qiu Y., Yi X., von dem Bussche A., Kane A., Gao H., Koski K., Hurt R. Biological and environmental interactions of emerging two-dimensional nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.* 2016. Vol. 45, no. 6. P. 1750–1780. doi: 10.1039/c5cs00914f

Zhu C., Guo S., Fang Y. et al. Reducing sugar: New functional molecules for the green synthesis of graphene nanosheets. *ACS Nano*. 2010. Vol. 4. P. 2429–2437. doi: 10.1021/nn1002387

Xu Y., Watermann T., Limbach H.-H. et al. Water and small organic molecules as probes for geometric confinement in well-ordered mesoporous carbon materials. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014. Vol. 16. P. 9327–9336. doi: 10.1039/C4CP00808A

Received July 20, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Рожков Сергей Павлович

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: rozhkov@krc.karelia.ru

Горюнов Андрей Сергеевич

ведущий научный сотрудник, к. ф.-м. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: goryunov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 765264

CONTRIBUTORS:

Rozhkov, Sergey

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: rozhkov@krc.karelia.ru

Goryunov, Andrey

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: goryunov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 765264

УДК 634.956,58:631.8

ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА СВОЙСТВА ПОЧВ И ПРОДУКТИВНОСТЬ НАСАЖДЕНИЙ В ДОЛГОСРОЧНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ В СРЕДНЕТАЕЖНОЙ ПОДЗОНЕ КАРЕЛИИ

А. Н. Солодовников, Н. Г. Федорец, А. И. Соколов

Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Последствие многолетнего внесения различных доз и сочетаний минеральных удобрений (NPK, N) в культурах сосны на песчаных альфегумусовых оподзоленных подбурах изучалось в среднетаежной подзоне Карелии, в районе оз. Риндозеро. Культуры сосны, созданные посевом в 1962 г., удобрялись в 1970, 1975, 1979 и 1985 годах, по схеме: N, NPK и контроль (без удобрения). К моменту проведения исследований на опытных участках сформировались чистые сосновые древостои 53-летнего возраста. Через 30 лет после окончания применения удобрений на каждом опытном участке площадью 0,5 га в 10-кратной повторности отбирали образцы подстилки для определения ее запасов, а также закладывали по три почвенных разреза, из которых по генетическим горизонтам отбирали образцы для химического анализа. В почвах опытных участков наиболее значимые по сравнению с контролем изменения почвенных свойств отмечены в подстилке и подподстилочном элювиальном горизонте. Выявлено значительное увеличение производительности сформировавшихся сосновых древостоев, в наибольшей степени – при внесении комплексных удобрений (NPK). Статистическая обработка данных показала значимое увеличение запаса лесных подстилок при внесении всех сочетаний минеральных удобрений по сравнению с контролем. Увеличились средние величины диаметра и высоты насаждений, а также запас древостоя.

Ключевые слова: культуры сосны; последствие; многолетнее применение удобрений; подбуры; лесные подстилки; продуктивность.

A. N. Solodovnikov, N. G. Fedorets, A. I. Sokolov. MINERAL FERTILIZERS' AFTER-EFFECT ON SOIL PROPERTIES AND STAND PRODUCTIVITY IN A LONG-TERM EXPERIMENT IN KARELIAN MIDDLE TAIGA

The after-effect of long-term application of various doses and combinations of mineral fertilizers (NPK, N) to pine crops on sandy Al-Fe-humus podzolized podbur soils was studied in the middle taiga of Karelia, near Lake Rindozero. The pine crops established by seeding in 1962 were fertilized in 1970, 1975, 1979 and 1985. The setup was N, NPK, and control (not fertilized). By the time of the survey the sample plots were occupied by 53-year-old pure pine stands. Thirty years after the last treatment, 10 replications of forest floor samples were taken from each 0.5 ha plot to determine the stock, and 3 soil pits were made in each plot to take samples from specific genetic horizons for chemical analysis. In the sample plots, the most significant changes compared to the control were

observed in the forest floor and the underlying eluvial horizon. The productivity of the resultant pine stands was promoted considerably, especially by NPK fertilization. Statistical treatment of the data revealed a significant increase in the forest floor stock upon fertilization in all the treatments as compared to the control. Mean tree diameter and height, as well as the stands' growing stock were enlarged.

Key words: pine crops; after-effect; long-term fertilization; podburs; forest floor; productivity.

Изучением влияния минеральных удобрений на рост и развитие хвойных культур в питомниках и на вырубках, а также повышением продуктивности приспевающих насаждений интересовались как отечественные, так и зарубежные исследователи [Wehrman, 1961; Турчин и др., 1964; Макаров, 1966; Schwarz, 1969; Сляднев, 1970; Шумаков, Федорова, 1970; Viro, 1972]. Большое внимание уделялось воздействию на гидротермические, водно-физические и физико-химические свойства лесных почв различных форм, доз и способов внесения удобрений. В Карелии также на протяжении многих лет проводили экспериментальные исследования воздействия минеральных удобрений на продуктивность древесных насаждений и плодородие лесных почв [Левкина, 1964; Куликова, 1977; Федорец, Морозова, 1985; Чернобровкина, 2001]. В настоящее время исследователи продолжают уделять внимание данной проблеме [Nilsson, Allen, 2003; Will et al., 2006; Коновалов, Зарубина, 2011; Lindkvist et al., 2011; Johansson et al., 2013 и другие], но в связи с повышенными требованиями к экологии окружающей среды, дороговизной удобрений и большим объемом уже накопленных знаний акцент проблемы смещается на поиски путей рационального и безопасного в долгосрочной перспективе использования удобрений. Целью настоящих исследований явился анализ результатов многолетних стационарных опытов, отражающих последствие удобрений на качество почвы и продуктивность древесных насаждений.

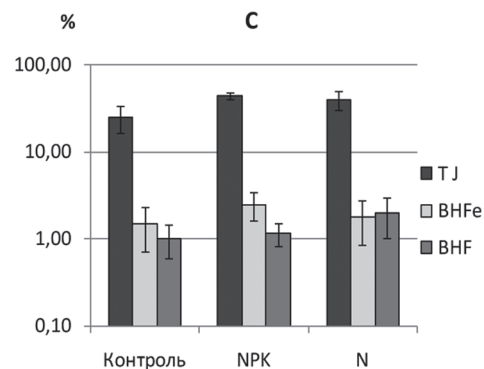
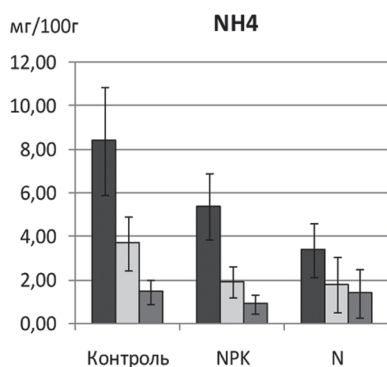
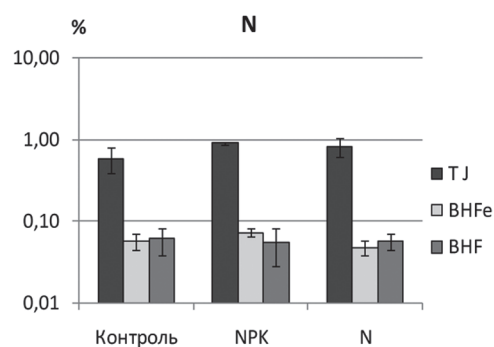
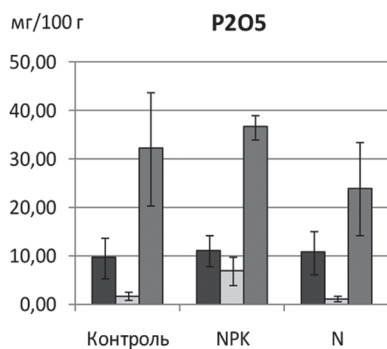
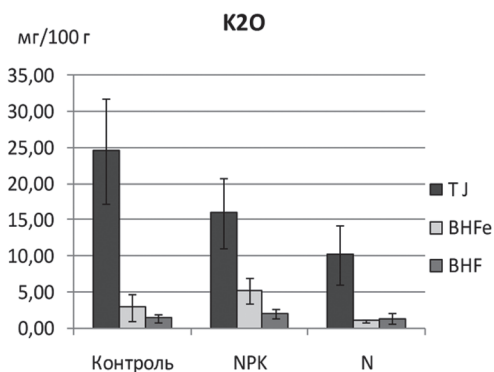
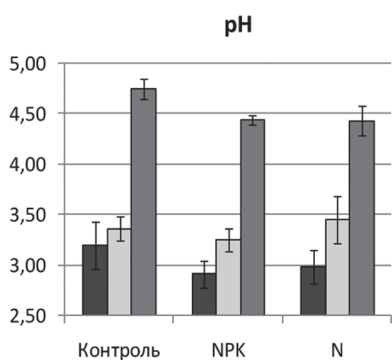
Объекты и методика

Для изучения роста и развития культур сосны (*Pinus sylvestris* L.) в среднетаежной подзоне под воздействием различных доз и сочетаний минеральных удобрений были заложены многолетние опыты в районе оз. Риндозеро в Кондопожском районе Карелии. Исследования проходили на песчаных альфегумусовых оподзоленных подбурях на озерно-ледниковых песчаных отложениях на месте сосняков брусничных (табл. 1) с составом древостоя 10С+Б, IV класса бонитета. После рубки древостоя и пожара здесь сформировался вересково-паловый тип вырубки. В напочвенном покрове доминировал вереск обыкновенный (*Calluna vulgaris*). Мохово-лишайниковый покров при пожаре сгорел, и «минерализованные» участки зарастали политриховыми мхами (*Polytrichum juniperinum* Hedw., *Polytrichum piliferum* Hedw.). Из лиственных встречались семенная и порослевая береза (*Betula pendula* Roth.) и осина (*Populus tremula*), которые впоследствии были вырублены [Шубин, 1977].

Культуры сосны созданы посевом в 1962 г. по полосам, подготовленным якорным покровосдирателем тяжелого типа. Ширина полос 0,8–1,2 м, расстояние между полосами 1,5–2,2 м. Посев произведен сеялкой от плуга ПКЛ-70. Используются семена II класса сортности местного сбора. Расход семян 0,8 кг/га. В 1970 г. перед внесением удобрений были вырублены крупные экземпляры березы.

Таблица 1. Агрохимические показатели альфегумусового подбуря оподзоленного песчаного после рубки сосняка брусничного до внесения минеральных удобрений (1961 г.)

Горизонт	Глубина взятия образца, см	C	N	pH сол.	ГК	S	V, %	NH ₄	P ₂ O ₅	K ₂ O
		%			мг-экв. · 100 г ⁻¹			мг · 100 г ⁻¹		
TJ	0–1	17,3	0,79	3,2	50,0	13,0	26,6	10,0	20,5	63,6
BHFe	1–6 (9)	1,02	0,03	3,8	2,6	1,3	33,3	1,0	0,60	1,2
BHF	9–17	0,36	0,01	4,8	2,4	1,1	31,4	2,0	17,6	0,5
BC	17–20	0,48	0,02	4,9	1,8	0,5	21,7	1,2	16,4	0,5
C	54–60	0,23	0,01	4,9	0,9	1,9	67,8	0,5	17,1	2,5



Агрохимические показатели в горизонтах почв через 30 лет после многолетнего внесения минеральных удобрений

Удобрение вносили в конце мая – начале июня в 1970, 1975, 1979 и 1985 гг. Схема опыта: N, NPK и контроль (без удобрения). Дозы удобрений: в 1970 г. азота и калия – 60, фосфора – 120 кг/га действующего вещества; в 1975 г. по 60 кг/га каждого из элементов питания; с 1979 г. дозы увеличены вдвое, при этом опытные делянки были разделены пополам и на них применены две формы азотных удобрений – мочевина и аммиачная селитра гранулированные. На всех участках использовали гранулированные суперфосфат и мочевины, а также хлористый калий. Удобрения разбрасывали вручную по поверхности почвы [Шубин и др., 1991].

Последствие удобрений на таксационные показатели сформировавшихся сосняков

и свойства почв изучали через 30 лет после последнего внесения удобрений, в 2014 году. На каждом опытном участке площадью 0,5 га в 10-кратной повторности отбирали образцы подстилки для определения ее запасов, а также закладывали по три почвенных разреза, из которых по генетическим горизонтам отбирали образцы для химического анализа. В почве определены pH солевой вытяжки потенциометрически, содержание гумуса по Тюрину, общего азота по Кьельдалю, доступных соединений фосфора колориметрически и калия на пламенном фотометре в вытяжке 0,2N HCl [Агрохимические методы..., 1975]. Результаты обработаны статистически при помощи пакетов программ Microsoft Excel и Statistica. Проведены расчеты среднеарифметических

Таблица 2. Запас подстилок через 30 лет после многолетнего внесения минеральных удобрений, т/га

Вариант опыта	Среднее	Станд. отклон.	Макс.	Мин.	Значимость (p) сравнения с контролем
Контроль	16,53	6,17	26,36	4,52	-
NPK	20,01	5,78	34,70	11,05	0,08
N	20,88	5,81	32,43	10,20	0,03

Таблица 3. Таксационная характеристика культур сосны в различных вариантах опыта

Вариант опыта	Густота стояния, тыс. шт./га	Диаметр, см	Высота, м	Полнота, м ²	Запас древесно-стоя, м ³ /га	Класс бонитета
Контроль	3,16	8,3	8,9	19,6	113	IV.4
NPK	2,66	10,4	11	20,5	167	III.6
N	3,42	8,7	9,2	22,9	133	IV.4

Примечание. Различия достоверны на уровне значимости < 0,001.

значений почвенных параметров, пределы их колебания, среднеквадратичное отклонение. С помощью критерия Стьюдента определена существенность различий между определенными параметрами почв на контроле и удобренных участках.

Результаты и обсуждение

Внесение минеральных азотных удобрений существенно отразилось на свойствах почв. Усилились процессы разложения лесных подстилок, повысилось содержание общих форм азота, а также стало более узким отношение C : N. Увеличились запасы подвижных азотсодержащих соединений и уменьшилось количество негидролизующего азота в верхнем 50-см слое почв. Влияние азотных удобрений на азотный фонд почв прослеживается в течение двух лет. Отмечено снижение обменной кислотности в верхних горизонтах почв. Значительных изменений в содержании подвижных соединений фосфора и калия не наблюдалось [Федорец, 1983]. Было отмечено, что внесение азотных удобрений способствует повышению фотосинтетической деятельности хвои, улучшает ассимиляционный аппарат сосны и способствует более интенсивному росту [Новицкая и др., 1974].

К моменту проведения исследований на опытном участке сформировались чистые сосновые древостои 53-летнего возраста, так как в стадии молодняка были вырублены все лиственные. Сосновые насаждения, сформировавшиеся на изучаемых участках за период исследования, оказывают существенное влияние на свойства почвы, что делает невозможным оценку действия удобрений по исходным почвенным показателям. В связи с этим сравнение уровня кислотности, содержания элементов минерального питания и гумуса проводили

между почвами удобренных участков и контрольного (неудобренного) варианта. Спустя 30 лет после последнего внесения удобрений установлено значимое снижение (8,9 %) обменной кислотности лесных подстилок в варианте с NPK. В иллювиальном горизонте наблюдается значимое снижение (около 6,5 %) рН солевого в обоих вариантах опыта (рис.).

Отмечается обеднение подстилки и минерального подподстилочного горизонта ВНFe аммонийным азотом в опытах с внесением NPK (на 36 и 48 % соответственно) и N (на 60 и 51 % соответственно) по сравнению с контролем, вероятно, в связи с активным использованием древесностоем и растениями напочвенного покрова в процессе роста. Интересно отметить более высокие (в 4 раза) по сравнению с контролем показатели содержания подвижных соединений фосфора в горизонте ВНFe на варианте с применением комплексного удобрения (NPK).

Как и в случае с аммонийным азотом, на удобренных участках наблюдается значимое снижение (NPK на 35 %, N на 58 %) содержания подвижного калия в подстилках по сравнению с контролем. Однако в минеральном горизонте ВНFe ситуация меняется: в варианте с NPK наблюдается повышенное на 77 % содержание калия, тогда как в варианте с N калия на 65 % меньше, чем в контрольном варианте.

Согласно исследованиям, проведенным в Финляндии, обеспеченность фосфором саженцев сосны обыкновенной может быть улучшена на протяжении более 30 лет с однократным внесением фосфорного удобрения, в то время как обеспечение калием потребует двукратного внесения калийных удобрений в течение периода ротации древостоя [Silfverberg, Moilanen, 2008].

По сравнению с контролем в вариантах с применением удобрений в подстилках

значимо выше содержание углерода (NPK на 78 %, N на 58 %) и общего азота (NPK на 54 %, N на 41 %), при этом также четко прослеживается обогащение подподстилочного горизонта как углеродом (на 67 %), так и общим азотом (на 27 %) в варианте с NPK. В иллювиальном горизонте можно отметить почти двукратный прирост общего углерода в варианте N по сравнению с контролем, при значимости $p = 0,066$. Шведские исследователи выявили накопление общего азота в лесной подстилке и углерода в минеральном подподстилочном горизонте при удобрении культур сосны обыкновенной высокими дозами мочевины [Nohrstedt et al., 1998].

Определение запасов лесной подстилки на опытных участках показало, что во всех вариантах опыта с применением удобрений они значительно выше (<20 %), чем в контроле (табл. 2). По-видимому, это связано в первую очередь с увеличением вегетативной массы сосны и растений напочвенного покрова, соответственно и опада, в процессе интенсивного роста древесных растений при обогащении почвы элементами минерального питания, и прежде всего азотом. Поскольку соединения азота находятся в первом минимуме в лесных почвах Карелии, именно внесение азотных удобрений наиболее благоприятно отражается на росте и развитии сосновых древостоев [Федорец, Бахмет, 2003].

Наибольшее по сравнению с контролем превышение средних величин высоты, диаметра ствола и полноты было выявлено в варианте с NPK. Также в вариантах опыта, где использовалось полное удобрение, был наиболее высоким запас древостоя, несмотря на меньшую густоту стояния по сравнению с контролем (табл. 3). В варианте с N увеличены по сравнению с контролем диаметр ствола, полнота и запас древостоя, но различие не так очевидно.

Сосняки брусничные, которые были вырублены перед проведением опыта с удобрениями, произрастали по IV.2 классу бонитета. Сформировавшиеся сосновые насаждения в варианте с NPK имеют бонитет III.6, тогда как в вариантах с N и в контроле бонитет (IV.4) близок к исходному.

Выводы

Проведенное исследование агрохимических свойств песчаных альфегумусовых оподзоленных подбуров позволило выявить особенности последствия многолетнего внесения различных видов минеральных удобрений в почвы сосновых насаждений через 30 лет после

последнего внесения. Почвы сосновых биогеоценозов, несмотря на их песчаный гранулометрический состав и вероятность потерь элементов питания из внесенных минеральных удобрений с внутриводосточным стоком, претерпевают в основном положительные изменения от воздействия удобрений.

Наибольшие по сравнению с контролем изменения отмечены в подстилке и подподстилочном иллювиальном горизонте. В подстилке значимо увеличилось содержание углерода и азота в варианте как с N, так и с NPK, тогда как содержание калия, напротив, уменьшилось. В иллювиальном горизонте наблюдается значимо увеличенное содержание C, N, P_2O_5 , K_2O , но только в почвах варианта с NPK. В иллювиальном горизонте отмечен двукратный прирост общего углерода в варианте с N.

Применение удобрений привело к увеличению кислотности в подстилке (NPK) и иллювиальном горизонте (N, NPK), способствовало 20-процентному увеличению запаса лесных подстилок в обоих вариантах опыта по сравнению с контролем, а также положительно сказалось на продуктивности сосновых насаждений. В вариантах с NPK и с N по сравнению с контролем увеличились средние величины диаметра (на 25 и 5 % соответственно) и высоты (на 24 и 3 %) насаждений, а также запас древостоя (на 48 и 18 %).

Представленный материал был получен при выполнении государственных заданий Института леса КарНЦ РАН (темы №№ 0220-2014-0006; 0220-2014-0002).

Литература

- Агрохимические методы исследования почв / Под ред. А. В. Соколова. М.: Наука, 1975. 656 с.*
- Коновалов В. Н., Зарубина Л. В. Эколого-физиологические особенности хвойных на удобренных почвах. Архангельск: С(А)ФУ, 2011. 308 с.*
- Куликова В. К. Изменение агрохимических свойств почв при внесении минеральных удобрений // Повышение эффективности лесовосстановительных мероприятий на Севере. Петрозаводск: КФ АН СССР, 1977. С. 24–41.*
- Левкина Т. И. К вопросу об отношении сеянцев древесных пород к реакции среды и известкованию почв лесных питомников // Возобновление леса на вырубках и выращивание сеянцев в питомниках. Петрозаводск: Карельск. кн. изд-во, 1964. С. 203–212.*
- Макаров Б. Н. Воздушный режим дерново-подзолистой почвы // Почвоведение. 1966. № 11. С. 98–107.*
- Новицкая Ю. Е., Чикина П. Ф., Царегородцева С. О. Влияние азотных удобрений на физиологическое состояние сосны // Сосновые леса Карелии*

и повышение их продуктивности. Петрозаводск: КФ АН СССР, 1974. 256 с.

Сляднев А. П. Влияние аммиачной и калийной селитры на рост сосны // Изв. высш. учебн. завед. Лесной журнал. 1970. № 3. С. 17–22.

Турчин Ф. К., Корицкая И. А., Жидких Г. Г. Превращение азотных удобрений в почве и их использование растениями // Докл. советских почвоведов к VIII Международному конгрессу почвоведов. Плодородие и мелиорация почв. М., 1964. Вып. I. С. 121–132.

Федорец Н. Г. Влияние азотных удобрений на химические свойства почв сосновых лесов // Влияние хозяйственных мероприятий на лесные почвы Карелии. Петрозаводск: КФ АН СССР, 1983. С. 77–88.

Федорец Н. Г., Бахмет О. Н. Экологические особенности трансформации соединений углерода и азота в лесных почвах / Ред. С. А. Шоба. Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2003. 240 с.

Федорец Н. Г., Морозова Р. М. Биологический круговорот азота в сосновых биогеоценозах флювиогляциальных равнин // Исследование почв лесных ландшафтов Карелии. Петрозаводск: КФ АН СССР, 1985. С. 146–156.

Чернобровкина Н. П. Экофизиологическая характеристика использования азота сосной обыкновенной. СПб.: Наука, 2001. С. 95–120.

Шубин В. И. Влияние удобрений на рост культур сосны на песчаных почвах // Повышение эффективности лесовосстановительных мероприятий на севере. Петрозаводск: КФ АН СССР, 1977. 184 с.

Шубин В. И., Гелес И. С., Крутов В. И. и др. Повышение производительности культур сосны и ели на вырубках / Ред. Н. И. Казимиров. Петрозаводск: Карел. науч. центр АН СССР, 1991. 176 с.

Шумаков Э. И., Федорова Е. Л. Применение минеральных удобрений в лесу. М.: Лесн. пром., 1970. 89 с.

Johansson K., Ring E., Högbon L. Effects of pre-harvest fertilization and subsequent soil scarification on the growth of planted *Pinus sylvestris* seedlings and ground vegetation after clear-felling // *Silva Fennica* 2013. Vol. 47, no. 4. doi: 10.14214/sf.1016

Lindkvist A., Kardel O., Nordlund C. Intensive forestry as progress or decay? An analysis of the debate about forest fertilization in Sweden, 1960–2010 // *Forests*. 2011. Vol. 2. P. 112–146.

Nilsson U., Allen L. Short- and long-term effects of site preparation, fertilization and vegetation control on growth and stand development of planted loblolly pine // *Forest Ecology and Management*. 2003. Vol. 175. P. 367–377.

Nohrstedt H.-Ö., Börjesson G. Respiration in a forest soil 27 years after fertilization with different doses of urea // *Silva Fennica*. 1998. No. 32 (4). P. 383–388.

Schwarz G. Kulturdüngungsversuche und ihre Ergebnisse // *Allgemeine Forstzeitschrift*, 1969. Vol. 80, no. 9. P. 212–215.

Silfverberg K., Moilanen M. Long-term nutrient status of PK fertilized Scots pine stands on drained peatlands in North-Central Finland // *Suo. Helsinki*. 2008. Vol. 59 (3). P. 71–88.

Viro P. J. Die Walddüngung auf finnischen Mineralboden // *Folia Forest*. 1972. Vol. 138 (19). P. 138–199.

Wehrman J. Mineralstoffernahrung der Kiefer auf Heideboden // *Allgemeine Forstzeitschrift*. 1961. Vol. 16. P. 50.

Will R. E., Markewitz D., Hendrick R. L. et al. Nitrogen and phosphorus dynamics for 13-year-old loblolly pine stands, receiving complete competition control and annual N fertilizer // *Forest Ecology and Management*. 2006. Vol. 227. P. 155–168.

Поступила в редакцию 09.09.2016

References

Agrokhimicheskie metody issledovaniya pochv [Agrochemical methods of soil research]. Ed. A. V. Sokolov. Moscow: Nauka, 1975. 656 p.

Chernobrovkina N. P. Ekofiziologicheskaya kharakteristika ispol'zovaniya azota sosnoi obyknovvennoi [Ecological and physiological characteristics of nitrogen use by common pines]. St. Peterburg: Nauka, 2001. P. 95–120.

Fedorets N. G., Bakhmet O. N. Ekologicheskie osobennosti transformatsii soedinenii ugleroda i azota v lesnykh pochvakh [Ecological characteristics of transformation of carbon and nitrogen compounds in forest soils]. Ed. S. A. Shoba. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2003. 240 p.

Fedorets N. G., Morozova R. M. Biologicheskii krugovorot azota v osnovnykh biogeotsenozakh flyuvioglyatsial'nykh ravnin [Biological nitrogen cycle in pine biogeocenoses of glaciofluvial plains]. Issledovanie pochv lesnykh landshaftov Karelii [Studies of the Forest Landscapes Soils in Karelia]. Petrozavodsk: Kar. fil. AN SSSR, 1985. P. 146–156.

Fedorets N. G. Vliyaniye azotnykh udobrenii na khimicheskie svoystva pochv sosnovykh lesov [Impact of

nitrogen fertilizers on chemical properties of soils in pine forests]. Vliyaniye khozyaistvennykh meropriyatii na lesnye pochvy Karelii [Impact of Economic Activities on Forest Soils in Karelia]. Petrozavodsk: Kar. fil. AN SSSR, 1983. P. 77–88.

Konovalov V. N., Zarubina L. V. Ekologo-fiziologicheskie osobennosti khvoinykh na udobrennykh pochvakh [Ecological and physiological characteristics of the coniferae in fertilized soils]. Arkhangel'sk: S(A)FU, 2011. 308 p.

Kulikova V. K. Izmeneniye agrokhimicheskikh svoistv pochv pri vnesenii mineral'nykh udobrenii [Changes in agrochemical properties of soils induced by mineral fertilizers application]. Povysheniye effektivnosti lesvosstanovitel'nykh meropriyatii na severe [Improving the Performance of Reforestation Activities in the North]. Petrozavodsk: Kar. fil. AN SSSR, 1977. P. 24–41.

Levkina T. I. K voprosu ob otnoshenii seyantsev drevesnykh porod k reaktzii sredy i izvestkovaniyu pochv lesnykh pitomnikov [On woody species seedlings response to environment reaction and soil liming in forest nurseries]. Vozobnovleniye lesa na vyrubkakh

i vyrashchivanie seyantsev v pitomnikakh [Reforestation of Felled Sites and Cultivation of Seedlings in Nurseries]. Petrozavodsk: Kar. kn. izd-vo, 1964. P. 203–212.

Makarov B. N. Vozdushnyi rezhim derno-podzolic-toi pochvy [Air regime of sod-podzolic soil]. *Pochvovedenie [Eurasian Soil Science]*. 1966. No. 11. P. 98–107.

Novitskaya Yu. E., Chikina P. F., Tsaregorodtseva S. O. Vliyanie azotnykh udobrenii na fiziologicheskoe sostoyanie sosny [Nitrogen fertilizers impact on the physiological condition of pines]. *Sosnovye lesa Karelii i povyshenie ikh produktivnosti [Pine Forests in Karelia and Increasing their Productivity]*. Petrozavodsk: Kar. fil. AN SSSR, 1974. 256 p.

Shubin V. I., Geles I. S., Krutov V. I., Morozova R. M., Sokolov A. I. Povyshenie proizvoditel'nosti kul'tur sosny i eli na vyrubkakh [Increasing pine and spruce productivity on felled sites]. Petrozavodsk: Kar. RC of RAS, 1991. 176 p.

Shubin V. I. Vliyanie udobrenii na rost kul'tur sosny na peschanykh pochvakh [Impact of sandy soil fertilization on pine growth]. *Povyshenie effektivnosti lesovosstanovitel'nykh meropriyatii na severe [Improving the Performance of Reforestation Activities in the North]*. Petrozavodsk: Kar. fil. AN SSSR, 1977. 184 p.

Shumakov E. I., Fedorova E. L. Primenenie mineral'nykh udobrenii v lesu [Application of mineral fertilizers in forest]. Moscow: Lesn. prom., 1970. 89 p.

Shyadnev A. P. Vliyanie ammiachnoi i kaliinoi selitry na rost sosny [Impact of ammonium nitrate and potassium nitrate on pine growth]. *Izvestiya vysshih uchebnykh zavedeniy. Lesnoi zhurnal [Bull. of Higher Ed. Inst. Forestry Journal]*. 1970. No. 3. P. 17–22.

Turchin F. K., Koritskaya I. A., Zhidkikh G. G. Prevrashchenie azotnykh udobrenii v pochve i ikh ispol'zovanie rasteniyami [Transformation of nitrogen fertilizers in soil and their use by plants]. Dokl. sovetskikh pochvovedov k VIII Mezhdunarodnomu kongressu pochvovedov. Plodorodie i melioratsiya pochv [VIII International Soil Science Congress, Collection of Papers by Soviet

Soil Scientists. Fertility and Soil Melioration]. Moscow. 1964. Iss. 1. P. 121–132.

Johansson K., Ring E., Hogbom L. Effects of pre-harvest fertilization and subsequent soil scarification on the growth of planted *Pinus sylvestris* seedlings and ground vegetation after clear-felling. *Silva Fennica*. 2013. Vol. 47, no. 4. doi: 10.14214/sf.1016

Lindkvist A., Kardell O., Nordlund C. Intensive forestry as progress or decay? An analysis of the debate about forest fertilization in Sweden, 1960–2010. *Forests*. 2011. Vol. 2. P. 112–146.

Nilsson U., Allen L. Short- and long-term effects of site preparation, fertilization and vegetation control on growth and stand development of planted loblolly pine. *Forest Ecology and Management*. 2003. Vol. 175. P. 367–377.

Nohrstedt H.-Ö., Börjesson G. Respiration in a forest soil 27 years after fertilization with different doses of urea. *Silva Fennica*. 1998. No. 32 (4). P. 383–388.

Schwarz G. Kulturdüngungsversuche und ihre Ergebnisse. *Allgemeine Forstzeitschrift*. 1969. Vol. 80, no. 9. P. 212–215.

Silfverberg K., Moilanen M. Long-term nutrient status of PK fertilized Scots pine stands on drained peatlands in North-Central Finland. *Suo*. Helsinki. Vol. 59 (3). 2008. P. 71–88.

Viro P. J. Die Walddüngung auf finnischen Mineralboden. *Folia Forest*. 1972. Vol. 138 (19). P. 138–199.

Wehrman J. Mineralstoffernahrung der Kiefer auf Heideboden. *Allgemeine Forstzeitschrift*. 1961. Vol. 16. P. 50.

Will R. E., Markewitz D., Hendrick R. L., Meason D. F., Crocker T. R., Borders B. E. Nitrogen and phosphorus dynamics for 13-year-old loblolly pine stands, receiving complete competition control and annual N fertilizer. *Forest Ecology and Management*. 2006. Vol. 227. P. 155–168.

Received September 09, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Солодовников Антон Николаевич

научный сотрудник лаб. лесного почвоведения, к. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: solod@krc.karelia.ru

Федорец Наталия Глебовна

заведующая лаб. лесного почвоведения, д. с.-х. н., проф.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

Соколов Александр Иванович

заведующий лаб. динамики и продуктивности таежных лесов, д. с.-х. н., доцент
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sokolov@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Solodovnikov, Anton

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: solod@krc.karelia.ru

Fedorets, Nataliya

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

Sokolov, Aleksandr

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sokolov@krc.karelia.ru

УДК 582.632:581.132:581.52

ИССЛЕДОВАНИЕ CO₂-ГАЗООБМЕНА ДЕРЕВЬЕВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В УСЛОВИЯХ НИЗКОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ В ПОСАДКАХ С РАЗНЫМ ПЛОДОРОДИЕМ ПОЧВЫ

В. К. Болондинский, Л. М. Виликайнен

Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Проведена сравнительная оценка CO₂-газообмена у листьев затененных ветвей карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*) на двух культурах 40–50-летнего возраста при различных уровнях минерального питания. Для каждого из участков сравнивались также параметры CO₂-газообмена световых и теневых листьев. Характеристики CO₂-газообмена теневых листьев различались по своим показателям в зависимости от содержания основных минеральных веществ (N, P, K) в почве. При улучшении плодородия почвы средние величины фотосинтеза теневых листьев возрастали с 1,22 до 2,74 мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹, темнового дыхания – с 0,43 до 0,69 мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹. Величины фотосинтеза световых листьев существенно не различались ($p > 0,05$), а дыхание возрастало с –1,54 до –2,63 мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹. По мере возрастания плодородия почвы изменялись и параметры моделей световых кривых фотосинтеза: уменьшались константа насыщения с 100–120 до 40–60 мкмоль·м⁻²·с⁻¹, световой компенсационный пункт – с 12–20 до 6–8 мкмоль·м⁻²·с⁻¹, что свидетельствует о более эффективной работе фотосинтетического аппарата при отсутствии лимитирования питательных веществ. Зафиксированы значимые различия всех величин у световых и теневых листьев на каждом из участков. Показатели использования ФАР при фотосинтезе у световых и темновых листьев участка с более высоким содержанием NPK составили соответственно 6,1 и 53,1 мкмоль CO₂·(ммоль фотонов)⁻¹, темнового дыхания –2,63 и –0,66 мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹, светового компенсационного пункта 45,8 и 5,91 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Величины количества каротиноидов (*c*) и хлорофилла *Xl* (*a+b*) у теневых и световых листьев в пересчете на сырой вес не имели достоверных различий. Средние величины отношения *Xl* (*a+b*)/*c* у теневых листьев были достоверно в 1,5 раза больше, чем у световых. При расчете на единицу площади из-за уменьшения толщины теневых листьев *Xl* (*a+b*) ниже у теневых листьев по сравнению с растущими на свету. Оценка углеродного баланса нижних затененных ветвей на участках с относительно высоким плодородием почвы показала, что он оставался положительным при среднедневных значениях ФАР 25 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Карельская береза, растущая на почвах с относительно высоким плодородием, более эффективно использует низкие значения ФАР, чем на почвах с низким содержанием питательных веществ, и благодаря морфологическим и физиологическим адаптациям короткостебельные и кустовидные формы с узорчатой структурой древесины могут выживать в условиях сильного затенения.

Ключевые слова: *Betula pendula* var. *carelica*; CO₂-газообмен; дыхание; световые кривые фотосинтеза; хлорофилл.

V. K. Bolondinskii, L. M. Viliainen. A STUDY OF CO₂ GAS EXCHANGE IN KARELIAN BIRCH UNDER LOW SOLAR RADIATION CONDITIONS IN PLANTATIONS WITH DIFFERENT LEVELS OF SOIL FERTILITY

Comparative estimation of CO₂ gas exchange in leaves on shaded branches of Karelian birch (*Betula pendula* var. *carelica*) was carried out in two 40–50-year-old plantations with different levels of mineral nutrition. In both plantations, CO₂ gas exchange parameters were also compared between sunlit and shaded leaves. Characteristics of CO₂ gas exchange in shaded leaves varied depending on the content of mineral substances (N, P, K) in the soil. With increasing soil fertility, mean values of photosynthesis in shaded leaves increased from 1.22 to 2.74 mmol·m⁻²·c⁻¹, dark respiration – from 0.43 to 0.69 mmol·m⁻²·c⁻¹. Mean values of photosynthesis in sunlit leaves did not differ significantly ($p > 0.05$) between these two plantations, but respiration varied from –1.54 to –2.63 mmol·m⁻²·c⁻¹. The parameters of photosynthetic light response curves changed with an increase in soil fertility: the constant of saturation decreased from 100–120 to 20–60 mmol·m⁻²·c⁻¹, light compensation point – from 12–20 to 6–8 mmol·m⁻²·c⁻¹, which is evidence of more effective operation of the photosynthetic apparatus where nutrition was not a limiting factor. Significant differences in the parameters of photosynthetic light response curves were revealed between sunlit and shaded leaves in both plantations. In the plantation with a higher NPK level, the rate of photosynthetically active radiation (*PAR*) utilization for photosynthesis was 6.1 and 53.1 mmol CO₂·(mmol photons)⁻¹ in sunlit and shaded leaves, respectively. Dark respiration was –2.63 and –0.66 mmol m⁻²·c⁻¹, light compensation point – 45.8 and 5.91 mmol·m⁻¹·c⁻¹ for sunlit and shaded leaves, respectively. Based on fresh weight, the amounts of carotenoids (*c*) and chlorophyll *chl* (*a+b*) in the shaded and sunlit leaves had no significant differences. Mean values of the *chl* (*a+b*)/*c* ratio in shaded leaves were 1.5 times that of sunlit leaves. Based on leaf area, because of lower thickness of shaded leaves, the amount of *chl* (*a+b*) was 1.4 times lower in shaded leaves in comparison with sunlit leaves. Assessment of the carbon balance of the shaded branches showed that the balance remains positive when the daily mean values of photosynthetically active radiation are 18–25 mmol·m⁻²·s⁻¹. The Karelian birch trees growing on comparatively fertile soil utilize the low values of solar radiation more effectively than those growing on nutrient-poor soil, and owing to morphological and physiological adaptations the short-stemmed and shrubby birches with figured wood can survive in a very shaded environment.

Key words: *Betula pendula* var. *carelica*; CO₂ gas exchange; respiration; light response curve for net photosynthesis; chlorophyll.

Введение

Генофонд карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, обладающей высокоценной узорчатой древесиной, в природных условиях к настоящему времени в значительной степени утрачен [Ветчинникова и др., 2013]. Последние десятилетия большое значение придается искусственному разведению карельской березы. Хотя к 1986 году общая площадь лесных культур составляла в Карелии около 5,5 тыс. га, выход ценной древесины невелик, и республика вынуждена ее импортировать. Известно, что в культурах карельской березы, несмотря на сильное зарастание участков осиною, елью и другими сопутствующими породами, произрастающими на почвах с относительно высокой плодородностью, во втором ярусе встречаются экземпляры с узорчатой древесиной. В то же время в культурах на бедных почвах при ухудшении лесорастительных

условий короткоствольные формы усыхают, не достигая товарного вида [Любавская, 1978; Евдокимов, 1989]. Одна из причин этого – низкая эффективность работы фотосинтетического аппарата в условиях низкой освещенности, связанная с недостатком питательных веществ.

В насаждениях большинство форм карельской березы из-за ограничений роста не могут конкурировать с березой повислой и другими древесными видами и существуют в пределах своего ареала в довольно узкой экологической нише – на границе леса, в составе низкополнотных насаждений, на террасированных склонах [Любавская, 1978]. Являясь, как и береза повислая, светолюбивой породой, она в условиях умеренного затенения благодаря адапционным механизмам эффективно использует низкие значения освещенности и поддерживает CO₂-газообмен на приемлемом уровне [Болондинский, Виликайнен, 2014].

Высказано предположение, что ареал карельской березы привязан к средним по плодородию почвам. Формирование узорчатой древесины карельской березы происходит при условии поддержания в камбиальной зоне определенного C/N отношения, а именно при наличии избытка сахаров на фоне некоторого дефицита азотного питания [Новицкая, 2008].

Большинство лесных почв северо-западной зоны крайне бедны питательными элементами, особенно аммиачным азотом, и не обеспечивают ими в нужном количестве древесные растения [Коновалов, Зарубина, 2011]. Минеральное питание влияет на фотосинтез как непосредственно, так и косвенно. При хорошей обеспеченности питательными элементами синтез хлорофилла в растении стимулируется, усиливается деятельность устьиц и увеличивается общая поверхность листьев. Неблагоприятные условия питания снижают эффективность работы единицы хлорофилла, поэтому решающее значение для оценки возможной активности фотосинтеза листа и растения в целом имеют концентрация фотосинтетических пигментов и размер ассимиляционной поверхности. Отмечается, что наибольшее влияние на содержание хлорофилла оказывает недостаток азота. Особенно четко это проявляется у нижних, старых листьев. Недостаток калия незначительно изменяет содержание пигментов в листьях. Исключение фосфора из питательной смеси приводит, как правило, к повышению содержания пигментов. Вероятно, недостаток фосфора сильно угнетает рост листовых пластинок, но почти не отражается на биосинтезе хлорофилла. Дефицит N и P сокращает общий размер листа на 15–30 %, недостаток K – до 50 % [Жакоте, 1974].

В работе [Hoogesteger, 2006], выполненной на березе повислой, скорость фотосинтеза коррелировала с концентрацией азота в листьях. Различия в концентрации азота в листьях были пропорциональны различиям в скоростях фотосинтеза, что приводило к примерно одинаковой фотосинтетической продукции на единицу листовых азота или фосфора во всех вариантах обработки. Похожие данные по азоту и фотосинтезу при дефолиации саженцев березы приводятся в работе [Ovaska et al., 1993].

В работе [Wang et al., 1998] на саженцах березы бумажной (*Betula papyrifera* Marsh.), адаптированных к определенным условиям температуры, водного режима и фотопериода, измеряли нетто-фотосинтез, устьичную проводимость, эффективность использования воды и эффективность использования азота при различных режимах

водообеспечения и содержания питательных веществ в почве. При высокой обеспеченности влагой и питательными веществами фотосинтез был в пределах от 8,5 до 9,9 мкмоль $CO_2 \cdot m^{-2} \cdot c$. Фотосинтез деревьев при низкой влажности почвы и высокой обеспеченности питательными веществами составлял около 45 % от величин в прежнем варианте.

Такие характеристики, как продолжительность жизни листа, относительная скорость роста, нетто-фотосинтез и темновое дыхание, удельная листовая поверхность (отношение площади проекции листовой к массе листовой), играют большую роль в адаптации растения к местам обитания с высокими и низкими ресурсами [Reich et al., 1992]. Пластичность этих характеристик в значительной мере связана с содержанием азота в листьях и корнях [Reich et al., 1996].

В работе, где исследование CO_2 -газообмена у березы повислой проводилось на протяжении вегетационного сезона, показано, что интенсивность дыхания листа быстро снижалась в течение первых шести недель развития листьев [Oleksyn et al., 2000]. За этот период времени рассчитанное на площадь дыхание, приведенное к 20 °C, снижалось примерно в 10 раз – от 2,7 до 0,3 мкмоль $CO_2 \cdot m^{-2} \cdot c^{-1}$. После достижения своей нижней точки в середине июня дыхание листа увеличивалось до конца ростовых процессов. Основные изменения максимального фотосинтеза, светового компенсационного пункта (СКП) и других параметров световых кривых, а также темнового дыхания происходят во время формирования листа. За этот период CO_2 -газообмен увеличивался с 3,5 до 9,1 мкмоль $CO_2 \cdot m^{-2} \cdot c^{-1}$, СКП снижался более чем в 10 раз – от 196 до 18 мкмоль $m^{-2} \cdot c^{-1}$. Различия в этих параметрах в течение периода фотосинтетической зрелости до появления первых визуальных симптомов старения были относительно малы.

Считается, что все виды приспособляются к росту в условиях низкого света путем уменьшения дыхания, что теоретически должно снизить потери углерода в бедных ресурсами условиях [Muraoka, Koizumi, 2005]. Фотосинтетическая способность листовой площади увеличивается в соответствии с увеличением поглощения света в разных местах в пологе [Niinemets, Tenhunen, 1997]. Это может рассматриваться как адаптационная реакция, максимизирующая фотосинтез всего полога. Изменение фотосинтетической способности листовой площади по световому градиенту не только увеличивает прирост углерода в пологе, но и подразумевает увеличение возможности

благополучно рассеять потенциально разрушительную энергию возбуждения через фотосинтез при увеличении уровня света. В условиях с ограниченными ресурсами (например, азота) высокая фотосинтетическая способность листьев сопряжена со значительными энергетическими затратами на построение аппарата, включающего комплексы гашения.

Связь между поступлением азота из почвы и его концентрацией в листе достаточно сложна и опосредована внешними факторами среды, например влажностью воздуха [Sellin et al., 2013]. При низкой влажности воздуха, вызывающей прикрытие устьиц, транспирационный поток, с которым поступают питательные вещества, снижается, что наряду с уменьшением устьичной проводимости является причиной уменьшения фотосинтеза. При таких условиях даже на богатых азотом участках в листьях содержалось меньше N и P, и они были фотосинтетически менее активны [Godbold et al., 2014]. Снижение фотосинтетической способности при повышенной влажности воздуха зафиксировано только в дождливое лето [Niglas et al., 2014].

В целом в литературе содержатся довольно противоречивые сведения о влиянии содержания почвенного азота и других минеральных веществ на процессы CO_2 -газообмена у древесных растений, и работ, где бы исследовалась карельская береза, практически нет. Проведенные нами измерения CO_2 -газообмена у саженцев на участках с разными дозами внесенных минеральных удобрений не показали достоверных различий в средних величинах фотосинтеза [Болондинский, 2014]. Причины этого коренятся в неравномерном распределении доз, перехватывании части подкормки травянистым покровом, вымывании удобрений дождями и т. д. Более значимые результаты могут быть получены на сформировавшихся древостоях с различными лесорастительными условиями. В нашу задачу входило исследование световой зависимости фотосинтеза у деревьев карельской березы в условиях разной обеспеченности элементами минерального питания.

Материалы и методы

Характеристика объектов

На территории Агробиологической станции КарНЦ РАН, расположенной на южной окраине г. Петрозаводска, где в 1950–70-е годы на бывших сельскохозяйственных угодьях были заложены плантации карельской березы, нами были выбраны два участка, отличающиеся по

плодородию почвы. Участок 1 – пологий склон площадью примерно 0,35 га. Карельская береза была высажена здесь в начале 60-х годов. После неоднократных прореживаний к 80-м годам остались березы с визуально проявившимися признаками «карелистости». В 2010-е годы березы прямоствольной формы с древесинной, имевшей очень слабо выраженную узорчатость, достигли высоты 18–20 м и среднего диаметра на уровне груди 22 см. Кроны начинались на высоте 8–10 м. Тридцать лет назад под их пологом еще оставались березы кустообразной, шаровидной и других форм, многие из которых имели ярко выраженные признаки узорчатости. По мере ухудшения радиационных условий от периферии к центру участка эти деревья усыхали, не достигнув товарного вида. В данный момент деревья с признаками «карелистости» остались лишь на периферии участка, в основном по юго-восточному и частично по осветленному северо-западному краю. В 15–20 м от краев участка и далее к центру все низкорослые деревья карельской березы к настоящему времени погибли.

Участок 2, вытянутый с востока на запад и имевший в ширину около 35 м, представлял собой смешанный древостой карельской березы с примесью черемухи, осины и ивы, в том числе и в подлеске. На этом участке как на опушке, где деревья освещены в течение нескольких часов солнечными лучами, так и в тени произрастает много карельских берез 40-летнего возраста с ярко выраженными признаками «карелистости». У прямоствольных берез участка 2, достигающих высоты 15 м, в отличие от берез участка 1, нижние ветви кроны росли в 1,5–2,5 м от поверхности земли, то есть существовали, как и короткоствольные березы, при очень низкой освещенности. Развитие древостоя участка 2 шло так же, как на участке 1, однако усыхание карельской березы под пологом леса не носило такого массового характера, как на участке 1, и к настоящему времени сохранилось значительное число особей с узорчатой структурой высотой от 3 до 8 м и диаметром ствола у корневой шейки до 20 см.

Исследования CO_2 -газообмена проводили в 2009–2015 гг. на участке 1 на листьях в нижней части кроны 15-метровых деревьев, растущих в центре, а также на короткоствольных березах на его юго-восточной границе, где эти изогнутые, наклоненные к свету березы освещались солнцем в течение 4–5 часов. На участке 2 исследовались короткоствольные березы (средний диаметр у корневой шейки 12,5 см, высота 2,8–3,2 м), растущие в тени, и березы на южной опушке, частично освещенные солнцем

в дневное время. Кроме того, фотосинтез измерялся на нижних затененных ветвях доминирующего дерева высотой около 15 м, с диаметром ствола у корневой шейки 34 см, на уровне груди – 24 см. Небольшие (до 1 м) ветви начались в 1,5 м от земли. Признаки аномальности у доминирующего дерева были выражены гораздо ярче, чем у длинноствольных деревьев участка 1, но в меньшей степени, чем у короткоствольных берез.

Измерение солнечной радиации

Для определения усредненных величин фотосинтетически активной радиации (*ФАР*) под пологом древостоя у исследуемых ветвей берез нами использовался датчик *ФАР*, входящий в систему LI-6200, который перед измерениями CO_2 -газообмена в течение 3 минут медленно передвигали в пространстве над объектом. За это время снималось около 90 значений *ФАР*. Во время измерений CO_2 -газообмена также измерялось среднее значение *ФАР*, попадавшей на лист во время фиксации фотосинтеза. Распределение *ФАР* рядом с исследуемыми объектами дополнительно изучалось при различных сценариях погоды в промежутках между измерениями фотосинтеза.

Вплоть до последнего десятилетия корректное измерение солнечной радиации в межкروновом пространстве являлось сложной технической задачей [Цельникер, 1978; Palva et al., 2001]. В последнее время такого рода исследования проводятся с использованием современных ИТ-технологий. Для более точного измерения солнечной радиации у измеряемых объектов нами было разработано устройство [Болондинский, Яковлев, 2013], состоящее из пластмассовой штанги длиной 210 см, на которой на одинаковом расстоянии (40 см) располагались фоточувствительные элементы. Мы использовали фотосопротивления типа GL5528, которые в области низких значений радиации имели в логарифмических координатах практически линейную характеристику. Датчики проводами соединялись с микроконтроллером, сигнал с них записывался на карту MicroSD, которая периодически извлекалась из блока для копирования в компьютер.

Градуировку датчиков проводили в ясную погоду с использованием эталонной пары «пиранометр Янишевского – гальванометр», а также люксметра (Ю-116). *ФАР* измеряли датчиком системы LI-6200 (Лайкор, США). Используя градуировочные кривые, рассчитывали величины интегральной солнечной радиации и *ФАР*. В условиях затененности погрешность

измерений общей радиации под пологом леса составляла 12–15 %, а *ФАР* – 8–10 %.

Штангу с датчиками передвигали в течение трех минут на разных высотах в центре участка 1 с достаточно однородной освещенностью, а также на его опушке, где освещенность претерпевала сильные колебания. Скорость перемещения составляла примерно один метр в секунду. Аналогичную процедуру проделывали у опытных деревьев на участке 2. С датчиков на штанге снималось около 500 показаний в минуту. Датчиком Лайкора фиксировали только по 27 значений в минуту.

Измерения CO_2 -газообмена

Измерения CO_2 -газообмена проводились в 2009–2015 гг. в период активных ростовых процессов с помощью портативной фотосинтетической системы Li-6200 (LiCor, USA). Камеру с листом ориентировали прямо на солнце и покрывали разным количеством слоев ткани или тканями разной плотности. После каждого уменьшения освещенности измеряли все показатели, регистрируемые прибором (*ФАР*, CO_2 -газообмен, концентрация CO_2 в камере, температура и влажность воздуха в камере и т. д.). Эксперименты в основном проводили в безоблачные дни в дневной динамике с 10 до 16 часов.

Световую кривую фотосинтеза моделировали с помощью нелинейного регрессионного анализа гиперболой (функция Микаэлиса – Ментен):

$$P(I(t)) = a_1 + b_1 \times I(t) / (I(t) + b_2),$$

где a_1 – параметр, характеризующий CO_2 -газообмен при $I(\text{ФАР}) = 0$, т. е. уровень дыхания (R); b_1 – величина фотосинтеза при насыщающих значениях *ФАР* (P_{\max}); b_2 (константа насыщения) – параметр, равный величине I , при которой $P = 0,5P_{\max}$ и является характеристикой скорости насыщения световой кривой; t – время. Все параметры модели имеют определенный физиологический смысл. Формально b_1 – теоретически возможный максимум фотосинтеза при освещенности, стремящейся к бесконечности. Обычно он близок к величине скорости фотосинтеза при максимально возможной в природе величине освещенности. Световой компенсационный пункт (*СКП*) – интенсивность света, при которой суммарный CO_2 -газообмен ($P(I(t))$) равен нулю, – определяли по формуле: $I_{P=0} = -a_1 \cdot b_2 / (a_1 + b_1)$. Рассчитывался также показатель использования *ФАР* при фотосинтезе – количество $\mu\text{моль CO}_2 \cdot (\text{ммоль фотонов})^{-1}$ [Лархер, 1978].

Содержание хлорофиллов и суммы каротиноидов в ацетоновой вытяжке определяли спектрофотометрически (СФ-2000, ОКБ «Спектр», Россия). Навеску свежего растительного материала готовили в 80%-м ацетоне. Формулы для расчета содержания пигментов подбирали исходя из используемого растворителя (80% ацетон) и максимумов поглощения, выявленных нами по спектрам. Расчет пигментов проводился по формулам Lichtenthaler [1987], приводимым у Гавриленко, Жигалова [2003]. Расчет содержания пигментов производили в мг на грамм сырого веса листа.

Содержание азота в 5–15-сантиметровом слое почвы (N) определяли титриметрическим методом по Кьельдалю [Методическое руководство..., 1990], калия (K) – методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-7000 (Shimadzu, Япония), фосфора (P) – спектрофотометрическим методом с молибденовой синью (СФ-2000). Определение содержания азота (N) в листьях выполняли с помощью элементарного анализатора PE-2410 (Perkin Elmer, США). Данные представлены в процентах от сухого веса образцов. Повторность проб трехкратная. Данные были получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитическая лаборатория» ИЛ КарНЦ РАН.

Проверку гипотез и оценку существенных различий между средними величинами осуществляли с помощью критерия Стьюдента при 5-процентном уровне значимости.

Результаты и обсуждение

Исследование основных элементов минерального питания в почве, выполнявшееся в июле–августе каждый год за время проведения эксперимента, показало, что среднее содержание азота в почве на участках 1 и 2 составило соответственно 0,19 и 0,42 % (рис. 1). Максимальные величины у некоторых деревьев доходили соответственно до 0,25 и 0,56 %, но в центре участка 1 отклонения от среднего были менее значительными. Вариабельность показаний на участке 2 была выше, чем на участке 1. Содержание фосфора составило соответственно 0,11 и 0,16 %, калия – 0,04 и 0,06 %. На опытном участке, находящемся в 30 м выше участка 2, получены близкие величины содержания азота и других элементов [Мошкина, 2012].

Содержание азота на участке 2 у освещенных листьев второй генерации в фазу завершения роста составило $3,27 \pm 0,18$ %, у затененных – $3,91 \pm 0,42$ %. Известно, что свет влияет и на уровень фермента нитратредуктазы.

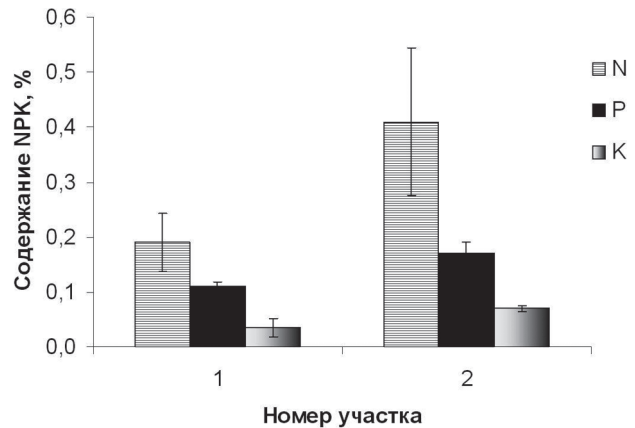


Рис. 1. Содержание в почве азота, фосфора и калия на двух участках с посадками карельской березы 1960–70-х гг.

Показано, что при низкой освещенности активность фермента снижается и нитраты накапливаются в клетке [Larcher, 1995]. У освещенных листьев участка 1 содержание азота в фазу роста листьев составляло $2,27 \pm 0,10$ % [Придача, Позднякова, 2010], что указывает на определенную корреляцию содержания азота в листьях и почве. На плодородных почвах содержание азота в листьях выше, чем на бедных, что влияет на метаболизм процессов. В целом ряде работ показано воздействие минеральных элементов, и прежде всего азота, на активацию блокирования многочисленных ферментных систем, ответственных за фотосинтетическое фотофосфорилирование, восстановление углекислоты при фотохимических реакциях в хлоропластах [Чернобровкина, 2001]. Наиболее ярко это проявляется при лимитировании одного или нескольких факторов среды, например освещенности.

Измерение солнечной радиации, проведенное с помощью штанги датчиками в центре участка 1, показало слабое возрастание освещенности по мере приближения штанги от земли к кронам деревьев. В пространстве у нижних ветвей кроны экспериментального дерева средние значения ΦAP в полдень были на уровне $50 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (табл. 1). В 1,5 м от поверхности земли средняя суммарная освещенность составляла $108 \pm 22 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, а ΦAP – $45 \pm 13 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. При измерении штангой под кронами у нижних веток датчики попадали на прямое солнце за 3 минуты в 5–7 % измерений, то есть количество бликов было достаточно велико и они могли значительно увеличить поглощение CO_2 листьями. В то же время между бликами ΦAP составляло под кронами $30\text{--}35 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. В значительной степени нижние ветви существовали благодаря солнечным бликам.

Таблица 1. Средние значения факторов внешней среды и величин CO₂-газообмена у деревьев карельской березы на участках 1 и 2

	H	T	D	ФАР	Ph	R	K _p
	%	°C	Па	мкмоль·м ⁻² ·с ⁻¹			
участок 1							
Затененные нижние ветви деревьев, растущих в центре участка							
M	60	20	1078	47	1,22	-0,43	43,4
σ	12,5	3,9	214	15	0,43	0,12	18,2
Освещенные ветви деревьев, растущих на ю-з границе участка							
M	58	19	1102	1453	7,17	-1,54	6,4
σ	2,3	2,1	170	180	0,95	1,02	1,5
участок 2							
Затененные ветви короткоствольных деревьев в нижнем ярусе							
M	58	15,5	796	65	2,31	-0,66	53,1
σ	5	4,8	337	35	1,23	0,12	24,2
Затененные нижние ветви доминирующего дерева							
M	58	15,5	796	60	2,74	-0,69	59,3
σ	5	4,8	337	31	1,11	0,14	22,1
Освещенные ветви деревьев, растущих на южной границе участка							
M	54	21	1142	1771	8,16	-2,63	6,1
σ	1	3,1	157	18	0,95	1,55	1,4

Примечание. H, T, D – относительная влажность, температура и дефицит водяного пара воздуха соответственно; Ph и R – нетто-фотосинтез и темновое дыхание листа; K_p – показатель использования ФАР при фотосинтезе (мкмоль CO₂/ммоль фотонов). Здесь и далее M – среднее значение, σ – стандартное отклонение.

В 20 м от юго-восточного края участка в солнечный день освещенность была выше, чем в центре, особенно на высоте 7 м. При этом кроны деревьев начинались примерно на 0,5 м ниже, чем в центре участка. Короткоствольные березы, а также отставшие в росте прямоствольные усохли здесь позднее, чем в центре участка. Освещенность участка 1 с северо-западной стороны в 20 м от края была очень близка к освещенности в центре участка. Под кронами освещенность мало изменялась с высотой и на уровне земли составляла примерно 94 % от освещенности непосредственно под кронами. По юго-западному краю участка у низкоствольных деревьев карельской березы верхние ветви освещались солнечными лучами в течение пяти часов, нижние ветви частично затенялись находившимся перед ними ольшаником. При попадании их в тень ФАР большую часть времени колебалась в диапазоне 150–250 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ (табл. 1), что составляет 8–12 % от максимально возможной ФАР.

В наиболее темных местах участка 2 ФАР в солнечный день не превышала 40 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Некоторые листья находились большую часть дня при ФАР 25–30 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. На листья большинства короткоствольных деревьев в глубине участка солнечные блики попадали достаточно редко.

При ФАР = 50 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ CO₂-газообмен в нижней части кроны деревьев в центре

участка 1 составил 2,6 мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹, у затененных нижних ветвей короткоствольного и доминирующего дерева участка 2 – соответственно 3,6 и 4,5 мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹. Приведение к определенному значению ФАР в диапазоне 40–100 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ допустимо, поскольку в начальной части световой кривой зависимость фотосинтеза носила практически линейный характер. Из-за очень большой вариабельности освещенности на различных ветвях короткоствольного дерева участка 2 значимых различий получить не удалось (p > 0,05). На плодородной почве солнечная радиация используется теневыми листьями более эффективно, и скорость фотосинтеза коррелировала с концентрацией азота в почве и в листьях, как это отмечается в целом ряде работ [Ovaska et al., 1993; Hoogesteger, 2006 и др.].

Измерения проводились в основном при хорошей оводненности почвы, при температуре и относительной влажности воздуха, близких к оптимальным. При почвенной засухе на участке 1 фотосинтез у ветвей в нижней части кроны снижался более чем в два раза. На участке 2 снижение было значительно меньшим (на 20–30 %). Этому способствовали прежде всего почвенные условия: более мощный гумусовый слой на суглинистом грунте. Доминирующее дерево на участке 2 имело мощную корневую систему, достигающую водоносных слоев, и снижение CO₂-газообмена его нижних ветвей

не превышало 10 %. Таким образом, при высокой обеспеченности питательными веществами уменьшение фотосинтеза при низкой влажности почвы было менее значительным, чем у растений, произраставших на бедной почве. Наблюдаемое в некоторых работах в подобной ситуации [Wang et al., 1998] снижение устьичной проводимости и транспирации говорит об увеличении эффективности использования воды при достаточном количестве азота, что повышает жизнеспособность карельской березы в экстремальных условиях.

При одинаковой температуре воздуха величины темного дыхания у теневых листьев двух участков различались незначительно. Более значимые различия получены при сравнении затененных и освещенных солнцем листьев на каждом из участков. Эффективность использования света возрастала по мере ухудшения световых условий. Дыхание же, напротив, снижалось и в диапазоне ΦAP 20–50 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ составляло 0,5–0,7 $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, в то время как в диапазоне 1200–1800 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ было в несколько раз выше (табл. 1).

Наиболее тщательно обследованы деревья на участке 2. Измерения фотосинтеза, проведенные на листьях нижних ветвей высоких деревьев и короткоствольного дерева карельской березы в условиях сильной затененности, показали, что они были способны поглощать углекислоту при очень малых значениях ΦAP . Листья у них имели положительный CO_2 -газообмен даже при ΦAP , равной 10 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Эта величина составляла менее 0,5 % от значений, получаемых при освещении датчика прямыми солнечными лучами. У некоторых листьев при ΦAP , равной 7 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, мы фиксировали фотосинтез около 0,5 $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Интенсивность освещения вокруг опытных деревьев оценивали при разных сценариях погоды: в солнечный день без облаков, при переменной облачности, при сплошной высокой облачности и при низкой облачности. Средняя величина ΦAP в условиях тени у опытных объектов в солнечный день составила 47 ± 23 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Однако с северо-восточной стороны опытного низкорослого дерева карельской березы среднее значение ΦAP было 78 ± 11 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Малая изменчивость последней величины обусловлена небольшим просветом с северной стороны. Фотосинтез у таких листьев был на 30–40 % выше, чем у листьев, находившихся на противоположной стороне дерева в тени при 20–25 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Возможно, это была одна из причин, позволяющих данному дереву существовать в столь стесненных световых условиях.

При средних максимальных значениях ΦAP , составлявших у исследуемых ветвей 65 ± 35 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, средние величины фотосинтеза были невелики – $2,31 \pm 1,23$ $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (табл. 1). При этом коэффициент K_p (показатель использования ΦAP при фотосинтезе) имел очень большое значение – $53,1 \pm 24,2$ $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot(\text{ммоль фотонов})^{-1}$, что более чем в 8 раз превышало подобный коэффициент у саженцев карельской березы на открытых участках [Болондинский, Виликайнен, 2014]. У деревьев, которые росли на границе участка 2 и некоторое время хорошо освещались, K_p составил 6,1 $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot(\text{ммоль фотонов})^{-1}$. Эта величина характерна для большинства объектов на открытых местах, которые мы исследовали ранее [Болондинский, Виликайнен, 2011]. Теневые листья характеризовались и гораздо более низкими величинами темного дыхания – 0,66 $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, в то время как у освещенных солнцем листьев на краю участка оно составляло 2,63 $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. В результате, хотя освещенность различалась более чем в 30 раз, брутто-фотосинтез у теневых листьев был всего в 3,7 раза ниже, чем у освещенных. Подобные адаптации к свету характерны для теневыносливых растений [Larcher, 1995].

Модели световых кривых фотосинтеза у карельских берез, построенные по начальному участку световой кривой (табл. 2), подтверждают высокую способность карельской березы использовать малые дозы солнечной радиации. Адаптационным признаком являлось низкое значение коэффициента a , характеризующего темное дыхание. Значение асимптоты гиперболы (b_1) – максимально возможный фотосинтез при очень больших значениях ΦAP – составило 12,8 $\text{мкмоль}\text{CO}_2\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Это почти в 2,3 раза меньше, чем максимальные величины, полученные нами у саженцев, растущих на открытом месте в период интенсивного роста [Болондинский, 2014]. Такое снижение отчасти обусловлено тем, что модельные расчеты сделаны по данным, полученным в первую половину августа, когда интенсивный рост исследуемых деревьев закончился.

Все параметры световых кривых имеют тесную связь с уровнем солнечной радиации, при которой произрастали деревья. Особенно ярко это проявлялось на участке 2, где по мере ухода с открытого места в глубь леса уменьшались все параметры и их производные, например, компенсационный пункт (рис. 2).

Световой компенсационный пункт (СКП) у теневых листьев был очень низок – в пределах 5,91–8,83 $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, в то время как

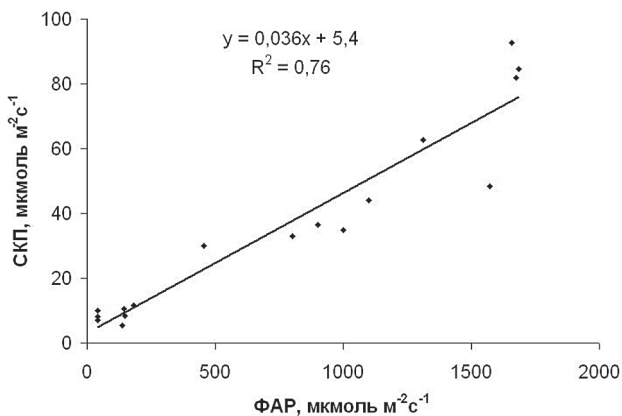


Рис. 2. Зависимость светового компенсационного пункта (СКП) от уровня ФАР, при котором произрастают деревья карельской березы, на участке 2

у контрольных деревьев на свету его средняя величина в июле–августе достигала 52 ± 14 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Снижение светового компенсационного пункта до очень низких значений является важным адаптационным признаком карельской березы, позволяющим ей существовать под пологом леса достаточно длительное время. Пластичность этой и других характеристик в значительной мере связана с содержанием азота в почве, корнях и листьях [Reich et al., 1996].

Проведенное нами ранее [Болондинский, Виликайнен, 2014] сравнение параметров световых кривых у березы повислой и карельской березы выявило целый ряд различий. Фотосинтетический аппарат саженцев карельской березы при переносе их с открытого места в тень лучше адаптировался к низкой освещенности, чем у саженцев березы повислой. Были получены достоверные различия величин светового компенсационного пункта и константы насыщения. У карельской березы наблюдалась повышенная по сравнению с березой повислой способность переносить затенение.

Хотя и не удалось показать значимых различий, содержание пигментов у теневых листьев березы повислой было больше, чем у карельской березы. В работе Ю. Л. Цельникер [1978], где исследовался фотосинтез саженцев ряда пород (осины, дуба, ивы, ели, карельской березы), растущих под пологом леса, было обнаружено, что угол наклона световых кривых при расчете фотосинтеза на 1 мг хлорофилла у карельской березы был примерно в 2 раза выше, чем у других лиственных пород. Это увеличение происходило за счет возрастания числа фотосинтетических единиц на 1 дм² площади листа, а не за счет большего поглощения ФАР.

У теневых листьев карельской березы на участке 1 содержание хлорофилла было

несколько повышенным, а каротиноидов – заниженным по сравнению с хорошо освещенными саженцами, высаженными на поле, где сумма Хл (a+b) составила 1,47 мг·г⁻¹, а каротиноидов – 0,35 мг·г⁻¹. Лишь на южной части участка, где деревья в течение нескольких часов находились на солнце, сумма Хл (a+b) составила 1,54 мг·г⁻¹, что было близко к открытому участку. На участке 2 величины Хл a и Хл b увеличивались по сравнению с участком 1. При этом величины Хл (a+b) были высокими для деревьев, растущих как по южному краю участка и освещенных солнцем, так и в глубине участка, где инсоляция не превышала 2 % от полного освещения – соответственно 1,71 и 1,95 мг·г⁻¹. Содержание Хл a в этих двух вариантах было на уровне 1,3–1,4, а содержание Хл b все-таки было меньше у освещенных деревьев. Столь небольшое увеличение суммы Хл (a+b) у карельской березы при произрастании в условиях очень низкой освещенности не вполне ясно. У большинства хвойных и некоторых лиственных пород содержание хлорофилла у теневых листьев, по литературным данным, увеличивается иногда в 1,8–2,1 раза [Larcher, 1995]. В какой-то мере причина столь небольших изменений содержания хлорофиллов, особенно Хл a, может быть объяснена тем, что вес единицы площади листьев в условиях тени был на 30–40 % меньше по сравнению с хорошо освещенными листьями. На саженцах, произраставших на открытых участках, где вносили удобрения, он был даже в два раза выше. Уменьшение толщины листьев можно рассматривать как своего рода адаптационный эффект в условиях очень низкой освещенности. Если бы мы рассчитывали содержание хлорофилла не на сырой вес, а на единицу площади, то оно было бы ниже у теневых листьев. Если СО₂-газообмен измерять не на площадь, а на 1 мг хлорофилла, как это делалось в уже упомянутой работе [Цельникер, 1978], то фотосинтез у теневых листьев значительно увеличился бы и разница между световыми и теневыми листьями стала бы не столь существенной. Ответ на вопрос, является ли это специфической адаптацией карельской березы или присуще другим лиственным породам, требует дополнительных исследований.

Для участков 1 и 2 получены высокие величины отношения Хл (a + b) / с – 8,4 и 9,4 мг·г⁻¹ соответственно. Это примерно в полтора раза превышает значения для саженцев, растущих в поле. При возрастании содержания хлорофиллов количество каротиноидов несколько снижалось, что вело к увеличению отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам. Это вполне объяснимо, так как каротиноиды в первую

Таблица 2. Средние значения параметров моделей световых кривых фотосинтеза у деревьев карельской березы, растущих в тени и на границе участков

	a_1	b_1	b_2	r^2	I_{\max}	R_{\max}	P_{\max}	СКП
	мкмоль·м ⁻² ·с ⁻¹			%	мкмоль·м ⁻² ·с ⁻¹			
участок 1								
Затененные нижние ветви деревьев, растущих в центре участка								
М	-0,51	6,4	114,3	90,7	67	-0,51	1,9	12,1
σ	0,18	2,47	32,6	5,3	43	0,12	0,27	1,92
Освещенные ветви деревьев, растущих на ю-з границе участка								
М	-1,7	10,4	210	91,6	1550	-1,6	7,2	41,2
σ	0,19	2,14	49,6	4,4	151	0,07	0,84	5,83
участок 2								
Затененные ветви короткоствольных деревьев в нижнем ярусе								
М	-0,57	9,3	42,1	94,8	80	-0,43	2,9	5,91
σ	0,15	2,18	15,8	5,3	42	0,13	0,51	1,77
Затененные нижние ветви доминирующего дерева								
М	-0,62	7,19	95,4	92,9	85	-0,71	2,79	8,83
σ	0,16	2,23	35,6	4,3	52	0,02	0,34	1,83
Освещенные ветви деревьев, растущих на южной границе участка								
М	-1,8	12,8	280	94,1	1805	-2,4	8,4	45,8
σ	0,21	2,49	45,6	4,7	82	18	0,94	3,83

Примечание. a_1 , b_1 , b_2 – значения параметров моделей световых кривых (см. объяснения в тексте); r^2 – коэффициент детерминации; I_{\max} , P_{\max} , R_{\max} – соответственно максимальные значения ФАР, фотосинтеза и абсолютной величины дыхания в момент снятия световой кривой, СКП – световой компенсационный пункт.

очередь играют защитную роль при избыточной солнечной радиации. В теневых условиях листья в такого рода защите нуждались мало, однако концентрация каротиноидов уменьшалась всего на 10–15 %, что говорит о важности этих пигментов для листьев, растущих при пониженной освещенности.

Проведенное параллельно с исследованием CO_2 -газообмена теневых листьев на участке 2 измерение выделения углекислоты с поверхности ветвей [Болондинский, Виликайнен, 2015] показало, что оно, так же как и дыхание листьев, значительно ниже, чем у деревьев, растущих на свету. Приблизительная оценка баланса CO_2 у ветвей, находящихся в тени, выявила, что он достаточно напряженный по сравнению с балансом ветвей, находящихся на свету. При низкой освещенности поглощение ветвью углекислоты становится сравнимо с ее выделением.

Средняя интенсивность дыхания ветвей составила в начале июля $1,1 \pm 0,3$ мкмоль $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Среднедневная величина фотосинтеза составляла около 2 мкмоль $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Ветвь с 23 листьями общей площадью 184 см², толщиной у основания 1,2 см за сутки поглощала 2119 мкмоль CO_2 . Листья за ночь выделяли 158 мкмоль CO_2 , а скелетная часть за сутки – около 1356 мкмоль CO_2 . Баланс такой ветки составлял с точностью около 10 % 604 мкмоль CO_2 . Выделялось примерно 71 % от

поглощенного CO_2 . Таким образом, ветвь довольно значительную часть вырабатываемых листьями сахаров отдавала на нужды дерева. Рассчитанные величины баланса в период белых ночей являются максимальными для данной ветви. В конце июля при неизменных средних величинах дыхания и фотосинтеза в связи с уменьшением длины дня доля выделения CO_2 от величины поглощения возросла до 80 %, а в конце августа до 85 %. При этом учитывалось снижение как средних величин фотосинтеза, так и дыхания. Таким образом, ветвь, находящаяся при 40–45 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ ФАР, имела всегда положительный баланс и могла поставлять некоторое количество сахаров на нужды дерева. В целом величины оттекающих сахаров невелики, и дерево существует в основном за счет более освещенных ветвей. При еще меньшей освещенности ($\text{ФАР} < 25$ мкмоль·м⁻²·с⁻¹) средние величины фотосинтеза будут меньше 1,5 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ и выделение углекислоты будет очень близко к величине поглощения (>90 %). В этом случае баланс ветви становится близок к нулю и возникает опасность ее усыхания, что мы часто и наблюдали.

Имеется еще одна причина усыхания ветвей. В том случае, если фитофаги (березовый северный пилильщик, березовая пяденица и др.) уничтожат в конце июня хотя бы 25 % листы нашей ветви, величина баланса при неизменности средних величин фотосинтеза и дыхания

составит $114 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2}$, а выделение – 92 % от величины поглощения. В этом случае положение в июле станет критическим, и если ветвь не восстановит хотя бы часть потерянных листьев, она может засохнуть.

Заключение

В силу аномальности ростовых процессов большинство форм карельской березы не могут выдержать конкуренции с прямостоячей формой березы и оказываются во втором ярусе, в стесненных световых условиях. Существует определенная взаимосвязь между содержанием в почве доступного азота и других минеральных веществ и порогом освещенности, до которого низкорослые формы могут расти, развиваться и в конечном счете давать товарную узорчатую древесину. Это возможно благодаря морфологическим адаптациям, основной из которых является уменьшение толщины листа по мере ухудшения лесорастительных условий. Но на первом месте стоят физиологические адаптации, которые наиболее ярко проявились в посадках с относительно высоким содержанием в корнеобитаемом слое почвы основных минеральных веществ, прежде всего азота (на уровне 0,5 %). По мере снижения освещенности возрастало количество хлорофилла на 1 г сырого веса листа. Средние величины отношения $chl(a + b) / c$ у теневых листьев были достоверно в 1,5 раза больше, чем у световых. Показатели использования ФАР при фотосинтезе у световых и темновых листьев участка с более высоким содержанием *НПК* составили соответственно 6,1 и 53,1 $\text{ммоль} \text{CO}_2$ (ммоль фотонов) $^{-1}$, темнового дыхания – 2,63 и –0,66 $\text{ммоль} \text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, светового компенсационного пункта 45,8 и 5,91 $\text{ммоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

При возрастании содержания азота в 5–15-см слое почвы с 0,19 до 0,42 % средние величины фотосинтеза теневых листьев возрастали с 1,22 до 2,74 $\text{ммоль} \text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, темнового дыхания – с 0,43 до 0,69 $\text{ммоль} \text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Величины фотосинтеза световых листьев существенно не различались ($p > 0,05$), а дыхание возрастало с –1,54 до –2,63 $\text{ммоль} \text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. По мере возрастания плодородия почвы изменялись и параметры моделей световых кривых фотосинтеза: уменьшались константа насыщения со 100–120 до 40–60 $\text{ммоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, световой компенсационный пункт с 12–20 до 6–8 $\text{ммоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. В результате на почвах с содержанием азота 0,16–0,18 % карельская береза начинала усыхать, не достигнув товарной зрелости, при средних уровнях ФАР от 100 до 120 $\text{ммоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. При

содержании азота 0,40–0,50 % деревья сохраняли свою жизнеспособность при ФАР 50–60 $\text{ммоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Стареют эти деревья раньше, чем доминирующие, но, как правило, их ранняя гибель происходит не из-за отрицательного углеродного баланса, а по другим причинам. Возможность ассимиляционного аппарата эффективно использовать слабый свет позволяет им поддерживать углеродный баланс на приемлемом уровне при постепенном ухудшении световых условий. Однако неспособность в таких условиях создавать достаточные запасы ассимилятов повышает вероятность гибели этих деревьев, например, в теплую зиму, когда имеют место оттепели и высокие потери на дыхание.

Таким образом, благодаря морфологическим и физиологическим адаптациям на почвах с относительно высоким плодородием в нижнем ярусе длительное время могут произрастать и достигать товарного вида короткоствольные формы карельской березы с плотно-узорчатой структурой древесины.

Авторы выражают глубокую благодарность Н. А. Галибиной, С. М. Шредерс, И. Н. Софроновой, Т. Г. Баишниковой за помощь в подготовке образцов и проведение химических анализов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН (тема № 0220-2014-0001).

Литература

Болондинский В. К. Исследование зависимости CO_2 -газообмена от интенсивности солнечной радиации у карельской березы и березы повислой // Современное состояние, тенденции развития, рациональное использование и сохранение биологического разнообразия растительного мира: материалы междунауч. конф. Минск, 2014. С. 170–174.

Болондинский В. К., Виликайнен Л. М. Исследование дыхания ветвей и стволов карельской березы и березы повислой // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 6. С. 66–79. doi: 10.17076/eb249

Болондинский В. К., Виликайнен Л. М. Исследование световой зависимости фотосинтеза у карельской березы и березы повислой в условиях разной обеспеченности элементами минерального питания // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 207–213.

Болондинский В. К., Виликайнен Л. М. Исследование CO_2 -газообмена листьев березы повислой и карельской березы в условиях засухи 2010 г. // Труды КарНЦ РАН. 2011. № 3. С. 12–15.

Болондинский В. К., Яковлев В. В. Измерение фотосинтетически активной радиации в лесном ценозе // Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной

среде: материалы всерос. конф. Иркутск, 2013. С. 452–454.

Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Кузнецова Т. Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 312 с.

Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия, 2003. 256 с.

Евдокимов А. П. Биология культуры карельской березы. Л.: Изд-во Лен. ун-та, 1989. 224 с.

Жакоте А. Г. Минеральное питание и активность фотосинтетического аппарата растений. Кишинев: Штиинца, 1974. 156 с.

Коновалов В. Н., Зарубина Л. В. Эколого-физиологические особенности хвойных на удобренных почвах. Архангельск: С(А)ФУ, 2011. 338 с.

Лархер В. Экология растений. М.: Мир, 1978. 384 с.

Любавская А. Я. Карельская береза. М.: Лесная промышленность, 1978. 157 с.

Методическое руководство по ускоренному анализу золы растений и определению азота. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 1990. 45 с.

Мошкина Е. В. Оценка свойств дерново-подзолистой почвы под посадками березы в опыте с применением минеральных удобрений // Ресурсный потенциал растениеводства – основа обеспечения продовольственной безопасности: Труды международной заочной научно-практической конференции. Петрозаводск: ПетрГУ, 2012. С. 124–127

Новицкая Л. Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 143 с.

Придача В. Б., Позднякова С. В. Метрические параметры листьев и биохимические особенности *Betula pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* и их сезонная динамика // Ботанический журнал. 2010. Т. 95, № 11. С. 1595–1605.

Цельникер Ю. Л. Физиологические основы теневыносливости древесных растений. Л.: Наука, 1978. 215 с.

Чернобровкина Н. П. Экофизиологическая характеристика использования азота сосной обыкновенной. СПб.: Наука, 2001. 172 с.

Godbold D., Tullus A., Kupper P. et al. Elevated atmospheric CO₂ and humidity delay leaf fall in *Betula pendula*, but not in *Alnus glutinosa* or *Populus tremula* × *tremuloides* // Annals of Forest Science. 2014. Vol. 71. P. 831–842.

Hoogesteger J. Tree ring dynamics in mountain birch // Licentiate thesis, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Report from the Department of Crop Production Ecology (VPE) Swedish University of Agricultural Sciences (SLU) Uppsala, 2006. No. 5. P. 1–33.

Larcher W. Physiological plant ecology. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 506 p.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // Methods Enzymol. 1987. Vol. 148. P. 350–382.

Muraoka H., Koizumi H. Photosynthetic and structural characteristics of canopy and shrub trees in a cool-temperate deciduous broadleaved forest: Implication to the ecosystem carbon gain // Agricultural and Forest Meteorology. 2005. Vol. 134. P. 39–59.

Niglas A., Kupper P., Tullus A., Sellin A. Responses of sap flow, leaf gas exchange and growth of hybrid aspen to elevated atmospheric humidity under field conditions // AoB PLANTS 2014. 6: plu021. doi: 10.1093/aobpla/plu021

Niinemets U., Tenhunen J. D. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum* // Plant, Cell and Environment. 1997. Vol. 20. P. 845–866.

Oleksyn J., Zytowski R., Reich P. B. et al. Ontogenetic patterns of leaf CO₂ exchange, morphology and chemistry in *Betula pendula* trees // Trees. 2000. Vol. 14. P. 271–281.

Ovaska J., Ruuska S., Rintamäki E., Vapaavuori E. Combined effects of partial defoliation and nutrient availability on cloned *Betula pendula* saplings. II. Changes in net photosynthesis and related biochemical properties // J. Exp. Bot. 1993. Vol. 44. P. 1395–1402.

Palva L., Markkanen T., Siivola E. et al. Tree scale distributed multipoint measuring system of photosynthetically active radiation // Agricultural and Forest Meteorology. 2001. Vol. 106. P. 71–80.

Reich P. B., Walters M. B., Ellsworth D. S. Leaf lifespan in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems // Ecological Monographs. 1992. Vol. 62. P. 365–392.

Reich P. B., Oleksyn J., Tjoelker M. G. Needle respiration and nitrogen concentration in Scots pine populations from a broad latitudinal range: a common garden test with field-grown trees // Functional Ecology. 1996. Vol. 10. P. 768–776.

Sellin A., Tullus A., Niglas A. et al. Humidity-driven changes in growth rate, photosynthetic capacity, hydraulic properties and other functional traits in silver birch (*Betula pendula*) // Ecological Research. 2013. Vol. 28. P. 523–535. doi: 10.1007/s11284-013-1041-1

Wang J. R., Hawkins C. D. B., Letchford T. Photosynthesis, water and nitrogen use efficiencies of four paper birch (*Betula papyrifera*) populations grown under different soil moisture and nutrient regimes // Forest Ecol. Manag. 1998. Vol. 112, no. 3. P. 233–244.

Поступила в редакцию 01.11.2016

References

Bolondinskij V. K. Issledovanie zavisimosti SO₂-ga-zoobmena ot intensivnosti solnechnoj radiacii u karel'skoj berezy i berezy povisloj [Study of SO₂ gas exchange response to solar radiation intensity in the

Karelian birch and the silver birch]. Sovremennoe sostojanie, tendencii razvitija, racional'noe ispol'zovanie i sohranenie biologicheskogo raznoobrazija rastitel'nogo mira: materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii

[Current State, Development Trends, Rational Use, and Conservation of Flora Biodiversity: Proceed. of the Int. Sci. Conf.]. Minsk, 2014. P. 170–174.

Bolondinskij V. K., Jakovlev V. V. Izmerenie fotosinteticheski aktivnoj radiacii v lesnom cenoze [Measurement of photosynthetically active radiation in forest cenosis]. Faktory ustojchivosti rastenij v jekstremal'nyh prirodnyh uslovijah i tehnogennoj srede: materialy vserossijskoj konferencii [Factors of Plant Resistance under Extreme Conditions in Technogenic Environment: Proceed. of the All-Russian Conf.]. Irkutsk, 2013. P. 452–454.

Bolondinskij V. K., Vilikajnen L. M. Issledovanie dyhanija vetvej i stvolov karel'skoj berezy i berezy povisloj [Study of twigs and stems respiration in the Karelian birch and the silver birch]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2015. No. 6. P. 66–79. doi: 10.17076/eb249

Bolondinskij V. K., Vilikajnen L. M. Issledovanie SO₂-gazoobmena list'ev berezy povisloj i karel'skoj berezy v uslovijah zasuhi 2010 g. [Study of SO₂ gas exchange in the leaves of the silver birch and the Karelian birch under drought of 2010]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2011. No. 3. P. 12–15.

Bolondinskij V. K., Vilikajnen L. M. Issledovanie svetovoj zavisimosti fotosinteza u karel'skoj berezy i berezy povisloj v uslovijah raznoj obespechennosti jelementami mineral'nogo pitaniya [Study of photosynthesis light dependence in the Karelian birch and the silver birch in different mineral nutrient availability settings]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2014. No. 5. P. 207–213.

Cel'niker Ju. L. Fiziologicheskie osnovy tenevynoslivosti drevesnyh rastenij [Physiological bases of woody plants shade tolerance]. Leningrad: Nauka, 1978. 215 p.

Chernobrovkina N. P. Jekofiziologicheskaja harakteristika ispol'zovanija azota sosnoj obyknovnojoj [Ecophysiological characteristics of nitrogen use by the Scots pine]. St. Petersburg: Nauka, 2001. 172 p.

Evdokimov A. P. Biologija kul'tury karel'skoj berezy [Biology of the Karelian birch]. Leningrad: Izd-vo Len. un-ta, 1989. 224 p.

Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. Bol'shoj praktikum po fotosintezu [Practical course on photosynthesis]. Moscow: Akademija, 2003. 256 p.

Konovalov V. N., Zarubina L. V. Jekologo-fiziologicheskie osobennosti hvojnnyh na udobrennyh pochvah [Ecological and physiological features of the conifers in fertilized soils]. Arhangel'sk: S(A)FU, 2011. 338 p.

Larher V. Jekologija rastenij [Plant ecology]. Moscow: Mir, 1978. 384 p.

Ljubavskaja A. Ja. Karel'skaja bereza [The Karelian birch]. Moscow: Lesnaja promyshlennost', 1978. 157 p.

Metodicheskoe rukovodstvo po uskorennomu analizu zoly rastenij i opredeleniju azota [Methodology guidelines for express analysis of plant ashes and nitrogen identification]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 1990. 45 p.

Moshkina E. V. Ocenka svojstv dernovo-podzolistoj pochvy pod posadkami berezy v opyte s primeneniem mineral'nyh udobrenij [Quality assessment of sod-podzolic soils for birch planting treated with mineral fertilizers as an experiment]. Resursnyj potencial rastnievodstva – osnova obespechenija prodovol'stvennoj

bezopasnosti: Trudy Mezhdunarodnoj zaochnoj nauchno-prakticheskoy konferencii [Resource Potential of Plant Cultivation – Base of Food Security: Proceed. of the Int. Remote Res. and Pr. Conf.]. Petrozavodsk: Izd-vo PetrGU, 2012. P. 124–127.

Novickaja L. L. Karel'skaja bereza: mehanizmy rosta i razvitija strukturnyh anomalij [The Karelian birch: mechanisms of growth and structural anomalies development]. Petrozavodsk: Verso, 2008. 143 p.

Pridacha V. B., Pozdnjakova S. V. Metricheskie parametry list'ev i biohimicheskie osobennosti *Betula pendula* var. *pendula* i *B. pendula* var. *carelica* i ih sezonnaja dinamika [Metric parameters of leaves and biochemical peculiarities of the *Betula pendula* var. *pendula* and *B. pendula* var. *carelica* and their seasonal dynamics]. *Botanicheskij zhurnal [Botanical Journal]*. 2010. Vol. 95, no. 11. P. 1595–1605.

Vetchinnikova L. V., Titov A. F., Kuznecova T. Ju. Karel'skaja bereza: biologicheskie osobennosti, dinamika resursov i vosproizvodstvo [The Karelian birch: biological peculiarities, resource dynamics, and reproduction]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2013. 312 p.

Zhakote A. G. Mineral'noe pitanie i aktivnost' fotosinteticheskogo apparata rastenij [Mineral nutrition and activity of plants photosynthetic apparatus]. Kishinev: Shtiinca, 1974. 156 p.

Godbold D., Tullus A., Kupper P., Söber J., Ostonen I., Godbold J. A., Lukac M., Ahmed I. U., Smith A. R. Elevated atmospheric CO₂ and humidity delay leaf fall in *Betula pendula*, but not in *Alnus glutinosa* or *Populus tremula* × *tremuloides*. *Annals of Forest Science*. 2014. Vol. 71. P. 831–842.

Hoogesteger J. Tree ring dynamics in mountain birch. Licentiate thesis, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Report from the Department of Crop Production Ecology (VPE) Swedish University of Agricultural Sciences (SLU) Uppsala, 2006. No. 5. P. 1–33.

Larcher W. Physiological plant ecology. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 506 p.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Methods Enzymol.* 1987. Vol. 148. P. 350–382.

Muraoka H., Koizumi H. Photosynthetic and structural characteristics of canopy and shrub trees in a cool-temperate deciduous broadleaved forest: Implication to the ecosystem carbon gain. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2005. Vol. 134. P. 39–59.

Niglas A., Kupper P., Tullus A., Sellin A. Responses of sap flow, leaf gas exchange and growth of hybrid aspen to elevated atmospheric humidity under field conditions. *AoB PLANTS* 2014. 6: plu021. doi: 10.1093/aobpla/plu021

Niinemets U., Tenhunen J. D. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant, Cell and Environment*. 1997. Vol. 20. P. 845–866.

Oleksyn J., Zytковиak R., Reich P. B., Tjoelker M. G., Karolewski P. Ontogenetic patterns of leaf CO₂ exchange, morphology and chemistry in *Betula pendula* trees. *Trees*. 2000. Vol. 14. P. 271–281.

Ovaska J., Ruuska S., Rintamäki E., Vapaavuori E. Combined effects of partial defoliation and nutrient

availability on cloned *Betula pendula* saplings. II. Changes in net photosynthesis and related biochemical properties. *J. Exp. Bot.* 1993. Vol. 44. P. 1395–1402.

Palva L., Markkanen T., Siivola E., Garam E., Linnavuo M., Nevas S., Manoochehry F., Palmroth S., Rajala K., Ruotoistenmäki H., Vuorivirta T., Seppälä I., Vesala T., Hari P., Sepponen R. Tree scale distributed multipoint measuring system of photosynthetically active radiation. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2001. Vol. 106. P. 71–80.

Reich P. B., Walters M. B., Ellsworth D. S. Leaf lifespan in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*. 1992. Vol. 62. P. 365–392.

Reich P. B., Oleksyn J., Tjoelker M. G. Needle respiration and nitrogen concentration in Scots pine

populations from a broad latitudinal range: a common garden test with field-grown trees. *Functional Ecology*. 1996. Vol. 10. P. 768–776.

Sellin A., Tullus A., Niglas A., Öunapuu E., Karusion A., Lõhmus K. Humidity-driven changes in growth rate, photosynthetic capacity, hydraulic properties and other functional traits in silver birch (*Betula pendula*). *Ecological Research*. 2013. Vol. 28. P. 523–535. doi: 10.1007/s11284-013-1041-1

Wang J. R., Hawkins C. D. B., Letchford T. Photosynthesis, water and nitrogen use efficiencies of four paper birch (*Betula papyrifera*) populations grown under different soil moisture and nutrient regimes. *Forest Ecol. Manag.* 1998. Vol. 112, no. 3. P. 233–244.

Received November 01, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Болондинский Виктор Константинович

научный сотрудник, к. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: bolond@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Виликайнен Людмила Матвеевна

физик
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vilikainen@mail.ru
тел.: (8142) 768160

CONTRIBUTORS:

Bolondinskii, Viktor

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., Petrozavodsk, Karelia, Russia, 185910
e-mail: bolond@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 768160

Vilikainen, Lyudmila

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., Petrozavodsk, Karelia, Russia, 185910
e-mail: vilikainen@mail.ru
tel.: (8142) 768160

УДК 581.174.1:58.036.5

КРАТКОВРЕМЕННОЕ ОХЛАЖДЕНИЕ ПРОРОСТКОВ ИЛИ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ В УЛЬТРАСТРУКТУРЕ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЛИСТА

Ю. В. Венжик, А. Ф. Титов, В. В. Таланова

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

В условиях контролируемой среды изучали влияние кратковременного охлаждения (2 °С, 10 минут) проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) или только их корневой системы на холодоустойчивость и ультраструктуру клеток мезофилла листа. Установлено, что холодоустойчивость клеток листьев в последствии 10-минутного охлаждения проростков или корней начинает увеличиваться соответственно через 1 и 5 ч, достигая максимума через 24 ч. При этом в клетках мезофилла листьев уже в первые минуты и часы после охлаждения происходит целый ряд ультраструктурных перестроек, выявляемых с помощью электронной микроскопии. К ним относятся изменения формы и плотности хлоропластов, митохондрий и пероксисом, увеличение размеров митохондрий и хлоропластов, появление в них выростов и инвагинаций, скопление митохондрий и пероксисом около пластид. Помимо этого, кратковременное охлаждение проростков или корней вызывало в хлоропластах листьев изменения в тилакоидной системе. Так, через 24 ч после охлаждения проростков в их хлоропластах зафиксировано увеличение протяженности фотосинтетических мембран и коэффициента гранальности (за счет длины тилакоидов гранальных мембран). Под влиянием локального охлаждения корней, наоборот, уменьшалась длина фотосинтетических мембран, однако коэффициент гранальности заметно возрастал вследствие уменьшения длины мембран тилакоидов стромы. Сопоставление ультраструктурных преобразований, происходящих в клетках листьев при кратковременном и длительном охлаждении проростков пшеницы или только их корневой системы, позволило заключить, что в зависимости от характера (типа) низкотемпературного воздействия в растениях реализуются различные адаптивные программы, которые могут включать в себя как сходные (однотипные), так и разные изменения в ультраструктурной организации клеток листьев.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; кратковременное охлаждение; холодоустойчивость; хлоропласты; митохондрии; пероксисомы.

Yu. V. Venzhik, A. F. Titov, V. V. Talanova. SHORT-TERM CHILLING OF WHEAT SEEDLINGS OR ROOTS AFFECTS THE ULTRASTRUCTURE OF MESOPHYLL CELLS

The effects of short-term chilling (2 °С, 10 min) of seedlings or roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) on the cold tolerance and ultrastructure of mesophyll cells were studied under controlled conditions. The results indicated that the cold tolerance of leaf cells started to increase respectively 1 and 5 h after short-term chilling of seedling or roots, reaching a maximum after 24 h. In addition, a number of ultrastructural rearrangements in mesophyll cells were detected by electron microscopy during the first minutes and hours after

short-term chilling. These included changes in the shape and density of chloroplasts, mitochondria and peroxisomes, enlargement of mitochondria and chloroplasts, emergence of protuberances and invaginations in chloroplasts, accumulation of mitochondria and peroxisomes near plastids. At the same time, short-term chilling of wheat seedlings or roots caused changes in the thylakoid system of leaf chloroplasts. Thus, the extent of photosynthetic membranes and the index of grana stacking of chloroplasts increased 24 h after short-term chilling of seedlings (due to the extent of appressed membranes). Local chilling of roots, on the contrary, caused a reduction of the length of photosynthetic membranes, but the index of grana stacking increased as a result of decreasing length of non-appressed membranes. A comparison of ultrastructural changes occurring in leaf cells at short-term and long-term chilling of wheat seedlings or only the root system suggested that a number of different adaptive programs depending on the character (type) of low-temperature treatment are realized in the plants. They can include both similar (of the same type) and different changes in the ultrastructure of leaf cells.

Key words: *Triticum aestivum* L.; short-term chilling; cold tolerance; chloroplasts; mitochondria; peroxisomes.

Введение

Температура является одним из наиболее важных экологических факторов, оказывающих постоянное влияние практически на все стороны жизнедеятельности растений. Неслучайно ее действию на растения посвящены многочисленные исследования [Титов и др., 2006; Трунова, 2007; Титов, Таланова, 2009; Heidarvand, Maali Amiri, 2010; Ruelland, Zachowsky, 2010; Yadav, 2010; Theocharis et al., 2012; Crosatti et al., 2013]. При этом очень долго считалось, что кратковременные (секунды, минуты) воздействия неблагоприятных температур не способны вызывать глубоких изменений в структурно-функциональной организации растений, подобных тем, которые происходят при ее более продолжительном (часы, сутки) действии. Однако в последние годы, по мере появления и накопления новых экспериментальных данных, эта точка зрения подверглась существенной коррекции. Так, оказалось, что низкие температуры, действуя в течение всего нескольких минут, способны вызывать замедление роста [Веселов и др., 2002], фотосинтеза [Li et al., 2004], изменения в водном обмене [Wilkinson et al., 2001] и активности антиоксидантной системы [Li et al., 2013] и др. Более того, даже если кратковременное охлаждение носило локальный характер, то есть ему подвергалось не все растение, а только его отдельные органы или части, то и в этом случае происходили определенные функциональные (физиолого-биохимические) изменения, в том числе в органах и частях растения, которые непосредственно не испытывали воздействия неблагоприятной температуры [Al-Hamdani, Thomas, 2000; Veselova et al., 2003; Lee et al., 2004; Титов, Таланова, 2011]. Учитывая, что подобные изменения

могут сопровождаться теми или иными структурными преобразованиями, мы исследовали, как влияет кратковременное (10 мин) охлаждение проростков пшеницы или только их корней на холодоустойчивость и ультраструктуру клеток мезофилла листа.

Материалы и методы

Опыты проводили с недельными проростками пшеницы (*Triticum aestivum* L.) морозостойкого сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе в камере искусственного климата при температуре воздуха 25 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности 180 мкмоль/м²·с и фотопериоде 14 ч. Затем проростки или только их корни подвергали в течение 10 мин воздействию температуры 2 °С. Все измерения проводили на первом листе проростков в последствии охлаждения в течение суток.

О холодоустойчивости клеток листа судили по температуре, вызывающей гибель 50 % палисадных клеток листовых высечек (ЛТ₅₀) после их 5-мин промораживания в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/–20 («Интерм», Россия) при последовательном снижении температуры с интервалом 0,4 °С [Балагурова и др., 1982]. Жизнеспособность клеток оценивали по коагуляции цитоплазмы и деструкции хлоропластов с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) с объективом 40×.

Для трансмиссионной электронной микроскопии высечки из средней части листа фиксировали 3%-м глутаральдегидом на фосфатном буфере (рН 7,2) с постфиксацией в 2%-м растворе OsO₄ и обезвоживали в серии спиртов

и ацетона по стандартной процедуре. Ультратонкие срезы листа получали на микротоме Ultracut E (Reichert, Австрия), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе Hitachi 600 (Япония). Морфометрический анализ ультраструктуры проводили на клетках 1-го субэпидермального слоя мезофилла по стандартным методикам [Kutik et al., 2004; Garbero et al., 2012]. Общую длину фотосинтетических мембран в хлоропласте рассчитывали как сумму длин мембран тилакоидов в гранах и стромальных тилакоидов. Коэффициент гранальности хлоропластов определяли как отношение длины мембран тилакоидов в гранах к длине мембран тилакоидов, контактирующих со стромой.

Биологическая повторность в пределах одного варианта отдельного опыта при оценке

Таблица 1. Динамика холодоустойчивости клеток листьев в последствии 10-минутного охлаждения (2 °С) проростков или корней пшеницы

Экспозиция при 25 °С, ч	Холодоустойчивость (ЛТ ₅₀), °С	
	охлаждение проростков	охлаждение корней
Контроль	-5,2 ± 0,1	-5,2 ± 0,1
1	-5,8 ± 0,1*	-5,4 ± 0,1
5	-6,2 ± 0,1*	-6,1 ± 0,1*
24	-6,4 ± 0,1*	-6,2 ± 0,1*

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: *отличия от контрольного варианта достоверны при $p \leq 0,05$.

устойчивости составляла 6, а каждый опыт повторяли не менее 3 раз. Анализ ультраструктуры в каждом варианте опыта проводили на 20–25 клетках мезофилла. В таблицах приведены средние арифметические значения и их

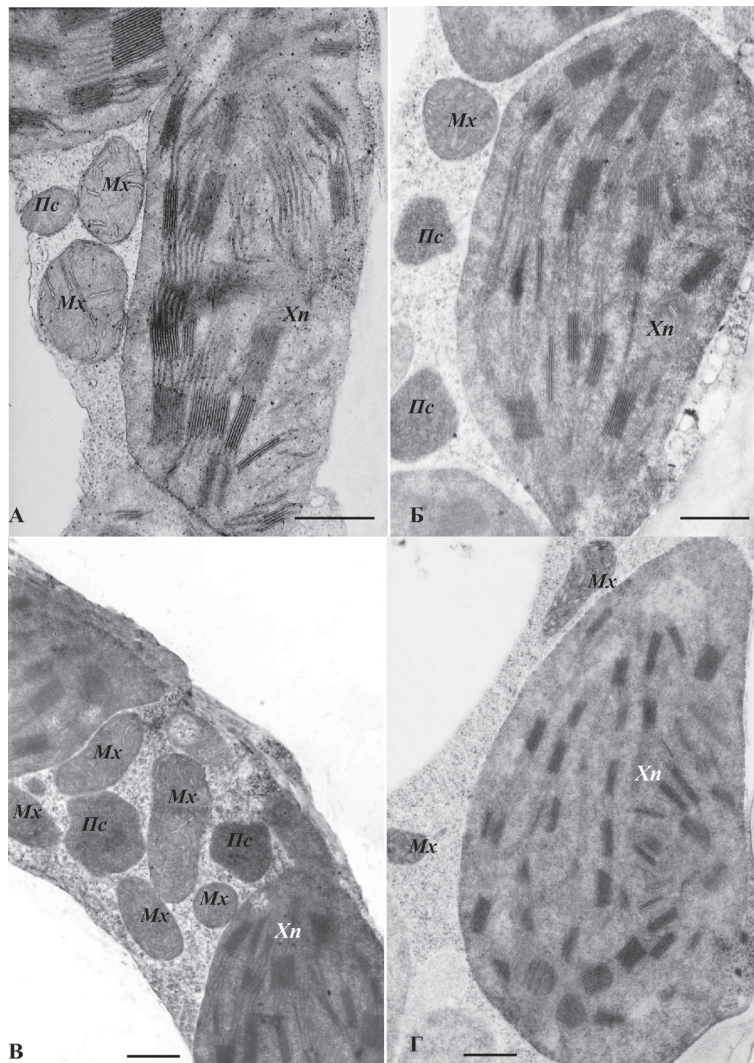


Рис. 1. Ультраструктура клеток мезофилла листа в последствии 10-минутного охлаждения (2 °С) проростков пшеницы: **А** – контрольный вариант; **Б** и **В** – сразу после охлаждения; **Г** – через 1 ч после охлаждения. *Хп* – хлоропласт, *Мх* – митохондрия, *Пс* – пероксисома. Масштабная линейка 0,5 мкм

стандартные ошибки. В статье обсуждаются только величины, достоверные при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены с использованием научного оборудования ЦКП НО Института биологии КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты

Проведенные исследования показали, что холодоустойчивость клеток листьев в последствии 10-минутного охлаждения (2°C) проростков и корней пшеницы возрастала уже через 1 и 5 ч соответственно (табл. 1). В дальнейшем она продолжала увеличиваться, достигая максимума к концу первых суток после

охлаждения. Существенно, что величина и динамика прироста устойчивости в обоих вариантах опыта была почти одинаковой (табл. 1).

Ультраструктура клеток мезофилла листа недельных проростков пшеницы контрольного варианта (выращенных при 25°C) была типичной (рис. 1, А): в хлоропластах правильной линзовидной формы четко просматривалась развитая тилакоидная система, погруженная в мелкозернистую строму. В округлых митохондриях были заметны кристы, а небольшие округлые пероксисомы имели более плотную структуру, чем митохондрии (рис. 1, А). Сразу после охлаждения проростков в клетках их листьев обнаружены изменения, прежде всего касающиеся формы и плотности органелл. В частности, хлоропласты клеток мезофилла несколько округлялись (рис. 1, Б), а некоторые

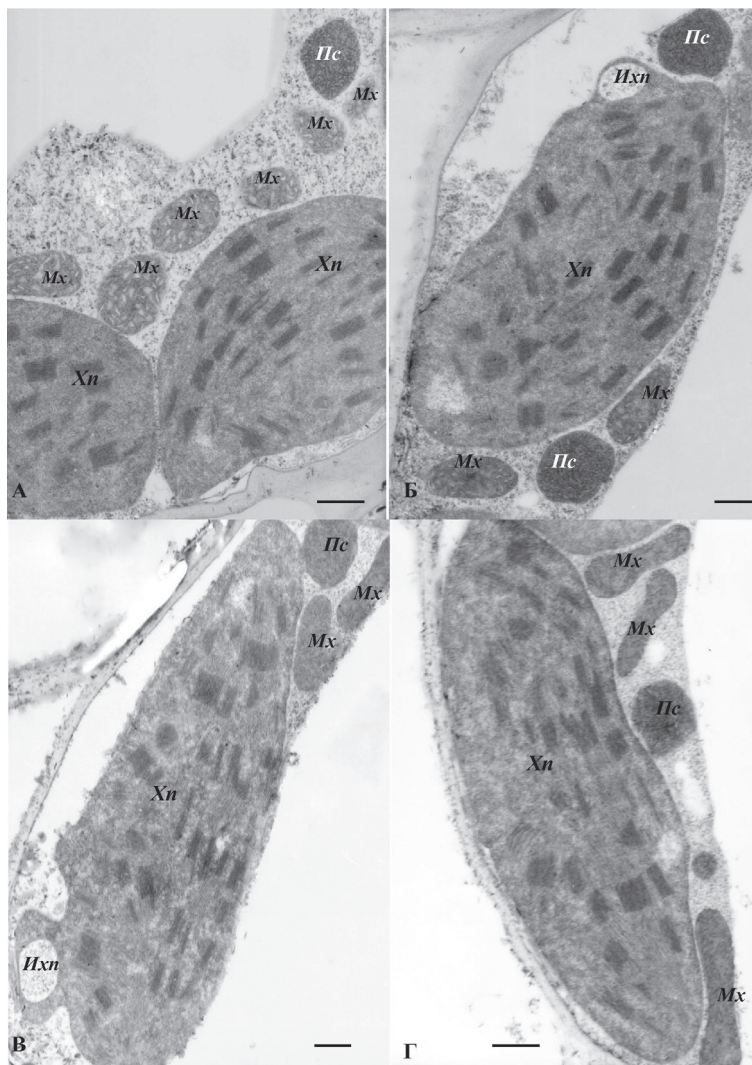


Рис. 2. Ультраструктура клеток мезофилла листа в последствии 10-минутного охлаждения (2°C) проростков пшеницы: **А** и **Б** – через 5 ч; **В** и **Г** – через 24 ч после охлаждения. *Хп* – хлоропласт, *Мх* – митохондрия, *Пс* – пероксисома, *Ихп* – инвагинация хлоропласта. Масштабная линейка 0,5 мкм

митохондрии приобретали более вытянутую форму (рис. 1, В), менялась также и форма пероксисом (рис. 1, В). При этом плотность митохондрий и пероксисом увеличивалась, вследствие чего кристы в митохондриях становились почти незаметными (рис. 1, В). Повсеместно встречались скопления органелл (рис. 1, В), нехарактерные для клеток мезофилла неохлаждавшихся проростков. Спустя 1 ч после охлаждения строма хлоропластов уплотнялась и в ней плохо просматривалась тилакоидная система (рис. 1, Г). Выявленные изменения сохранялись и через 5 ч, и спустя сутки после холодного воздействия, при этом в хлоропластах появлялись инвагинации, содержащие фрагменты цитоплазмы (рис. 2).

Изменения в структуре клеток мезофилла листа проростков обнаружены и после кратковременного охлаждения только корневой системы, но они проявлялись позже, чем в

последействии охлаждения всего проростка. В частности, сразу же после локального охлаждения корней и в течение первого часа после него (рис. 3, А) в ультраструктуре клеток мезофилла изменений не происходило. Спустя 5 ч плотность хлоропластов, митохондрий и пероксисом в клетках мезофилла увеличивалась, а в пластидах появлялись многочисленные выросты и инвагинации с участками цитоплазмы (рис. 3, Б). Аналогичные изменения в ультраструктуре клеток листа проростков отмечены и через сутки после охлаждения корней (рис. 3, В). Кроме того, в клетках мезофилла встречались многочисленные скопления митохондрий и пероксисом, нередко измененной формы, локализованные около хлоропластов (рис. 3, Г).

Наличие ультраструктурных изменений в клетках мезофилла листа у проростков пшеницы, обусловленных кратковременным охлаждением всего проростка или только его корней,

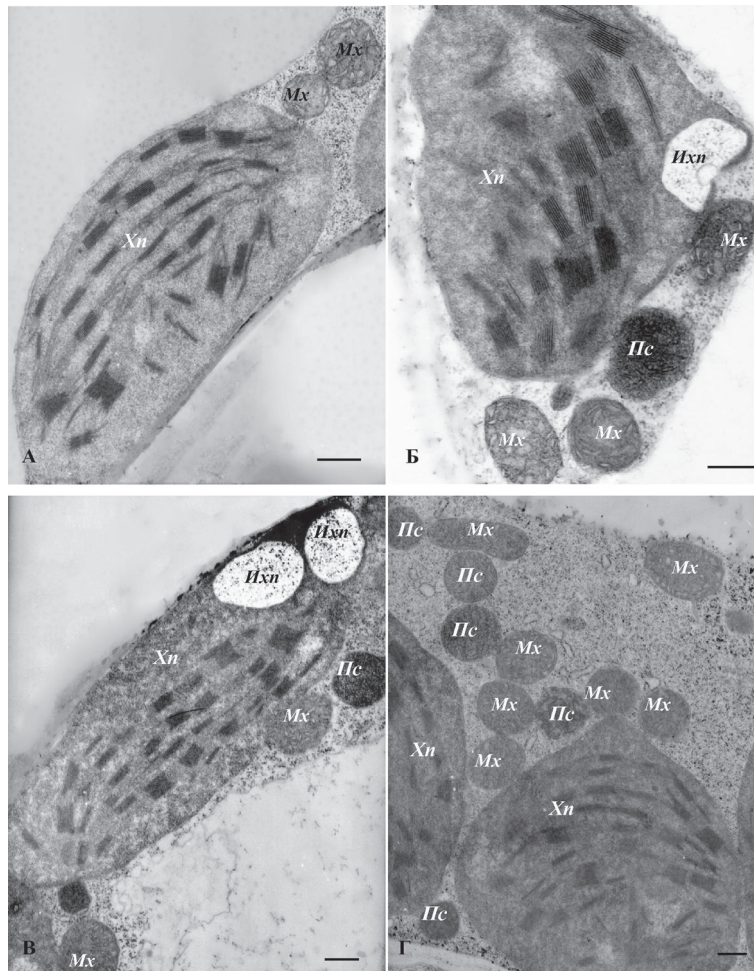


Рис. 3. Ультраструктура клеток мезофилла листа в последействии 10-минутного охлаждения (2 °С) корней пшеницы: **А** – через 1 ч; **Б** – через 5 ч; **В** и **Г** – через 24 ч после охлаждения корней. *Хп* – хлоропласт, *Мх* – митохондрия, *Пс* – пероксисома, *Ихп* – инвагинация хлоропласта. Масштабная линейка 0,5 мкм

Таблица 2. Ультраструктура клеток мезофилла листа в последствии 10-минутного охлаждения (2 °С) проростков или корней пшеницы

Показатель	Контроль	Охлаждение проростков	Охлаждение корней
Площадь среза хлоропласта, мкм ²	10,0 ± 0,7	13,5 ± 1,1*	12,7 ± 0,5*
Площадь среза митохондрии, мкм ²	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,03*	0,6 ± 0,04*
Площадь среза пероксисомы, мкм ²	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Число хлоропластов на срезе клетки, шт.	9 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число митохондрий на срезе клетки, шт.	8 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число пероксисом на срезе клетки, шт.	2 ± 0,3	2 ± 0,3	3 ± 0,4

Примечание. Здесь и в табл. 3: все параметры ультраструктуры измеряли через 24 ч после охлаждения.

Таблица 3. Ультраструктура хлоропластов в клетках мезофилла листа в последствии 10-минутного охлаждения (2 °С) проростков или корней пшеницы

Показатель	Контроль	Охлаждение проростков	Охлаждение корней
Число гран на срезе, шт.	28 ± 2	28 ± 2	27 ± 2
Диаметр грани, мкм	0,38 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,36 ± 0,01
Высота грани, мкм	0,13 ± 0,01	0,18 ± 0,01*	0,15 ± 0,01
Длина мембран гранальных тилакоидов, мкм	95,6 ± 10,2	127,0 ± 4,9*	86,4 ± 4,5
Общая длина фотосинтетических мембран, мкм	175,3 ± 15,1	208,7 ± 5,6*	129,5 ± 7,5*
Коэффициент гранальности	1,2	1,6*	2,0*

Таблица 4. Изменения холодоустойчивости и ультраструктуры клеток мезофилла листа в зависимости от характера (типа) холодого воздействия на проростки пшеницы

Показатель	Длительное охлаждение*		Кратковременное охлаждение	
	растений	корней	растений	корней
Холодоустойчивость	Увеличивается	Увеличивается	Увеличивается	Увеличивается
Форма хлоропластов, митохондрий, пероксисом	Изменяется	Изменяется	Изменяется	Изменяется
Плотность хлоропластов, митохондрий, пероксисом	Увеличивается	Увеличивается	Увеличивается	Увеличивается
Размеры хлоропластов	Увеличиваются	Увеличиваются	Увеличиваются	Увеличиваются
Выросты и инвагинации в хлоропластах	Появляются	Появляются	Появляются	Появляются
Скопления митохондрий и пероксисом около пластид	Появляются	Появляются	Появляются	Появляются
Размеры пероксисом	Увеличиваются	Увеличиваются	Не изменяются	Не изменяются
Размеры митохондрий	Не изменяются	Увеличиваются	Увеличиваются	Увеличиваются
Тилакоидная система хлоропластов	Снижается гранальность	Увеличивается гранальность (за счет увеличения длины мембран тилакоидов гран)	Увеличивается гранальность (за счет увеличения длины мембран тилакоидов гран)	Увеличивается гранальность (за счет уменьшения длины мембран тилакоидов стромы)

Примечание. *Показатели холодоустойчивости и ультраструктуры клеток мезофилла при длительном охлаждении проростков пшеницы или локальном охлаждении их корней приводятся на основании результатов предыдущих исследований [Венжик и др., 2008, 2012; Venzhik et al., 2014, 2016].

подтверждают и результаты морфометрического анализа, проведенного через 24 ч после холодого воздействия (табл. 2). В обоих вариантах опыта к этому моменту происходило заметное увеличение размеров хлоропластов и митохондрий (табл. 2), хотя достоверных изменений в размерах пероксисом, а также в количестве органелл на срезах клеток мезофилла не выявлено (табл. 2). Помимо этого, через 24 ч после охлаждения проростков в хлоропластах

их листьев зафиксировано увеличение протяженности фотосинтетических мембран и коэффициента гранальности хлоропластов за счет длины тилакоидов гранальных мембран (табл. 3). При этом увеличивалась и высота гран, но их количество на срезе хлоропласта оставалось неизменным (табл. 3). После локального воздействия низкой температуры на корни в хлоропластах мезофилла листа, наоборот, уменьшалась длина фотосинтетических

мембран (табл. 3), однако коэффициент гра-
нальности хлоропластов заметно возрастал
вследствие уменьшения длины мембран тила-
коидов стромы (табл. 3).

Обсуждение

Результаты проведенного исследования
показали, что 10-минутное охлаждение (2 °С)
проростков пшеницы или только их корневой
системы наряду с увеличением устойчивости
клеток листьев к краткосрочному проморажи-
ванию вызывает в них целый ряд ультраструк-
турных изменений, часть из которых выявля-
лась уже в первые минуты и часы после холодо-
вого воздействия (рис. 1–3; табл. 1–3).

Сопоставление этих данных с полученны-
ми ранее при длительном (до 7 сут) охлажде-
нии проростков пшеницы или только их корней
[Венжик и др., 2008, 2012; Venzhik et al., 2014,
2016] позволяет говорить, что некоторые из на-
блюдаемых под влиянием низкой температуры
ультраструктурных изменений являются общи-
ми (однотипными) (табл. 4). К ним, в частности,
можно отнести изменение формы и плотнос-
ти хлоропластов, митохондрий и пероксисом,
увеличение размеров пластид, появление в
них выростов и инвагинаций, скопление ми-
тохондрий и пероксисом около хлоропластов
(табл. 4). С другой стороны, проявление ульт-
раструктурных изменений, касающихся, на-
пример, размеров митохондрий и пероксисом,
а также тилакоидной системы хлоропластов,
находилось в зависимости от продолжительно-
сти холодого воздействия (табл. 4). Учитывая
однотипный характер изменения холодоус-
тойчивости (табл. 4), выявленные структурные
перестройки, очевидно, можно рассматривать
как адаптивные, сопровождающие функцио-
нальные (физиолого-биохимические) измене-
ния в растениях, вызванные как длительным
или кратковременным охлаждением, действу-
ющим непосредственно, так и обусловленные
сигналом о воздействии холода, поступающим
из корней в лист.

Так, «разбухание» пластид (т. е. их округле-
ние) наряду с увеличением размеров считают
универсальным маркером холодого воз-
действия [Kratsch, Wise, 2000; Трунова, 2007;
Yu et al., 2011; Vella et al., 2012; Попов и др.,
2016], которое наблюдали у холодостойких
[Ristic, Ashworth, 1993; Yu et al., 2011; Венжик
и др., 2012; Vella et al., 2012] и теплолюбивых
растений [Ishikava, 1996; Kratsh, Wise, 2000;
Попов и др., 2016]. Как правило, изменения та-
кого рода сопровождаются увеличением плот-
ности стромы и свидетельствуют о быстрых

перестройках в ее химическом составе, в том
числе об усиленном синтезе белков и фермен-
тов [Kaplan, Guy, 2004; Трунова, 2007; Li et al.,
2011; Vella et al., 2012], и они выступают в ка-
честве косвенного показателя интенсификации
ферментативных процессов [Kratsh, Wise, 2000;
Cui et al., 2012].

Форма митохондрий также считается высо-
кодинамичным структурным показателем [Lo-
gan, Leaver, 2000; Van Gestel, Verbelen, 2002; Lo-
gan, 2006, 2010]. У теплолюбивых растений из-
менение формы митохондрий сопровождается
«высвечиванием» матрикса и исчезновением
крист, что рассматривается в качестве симп-
тома повреждения [Ishikava, 1996; Krasch, Wise,
2000]. У холодостойких растений, таких как
арабидопсис или пшеница, изменение формы
митохондрий на вытянутую, «гантелевидную»
или даже «чашевидную» носит обратимый ха-
рактер [Yu et al., 2011; Vella et al., 2012]. Пред-
полагается, что такая форма органелл способ-
ствует увеличению площади их поверхности и
облегчает обмен метаболитами с цитоплазмой
[Yu et al., 2011; Vella et al., 2012]. Как показано в
наших исследованиях, изменение формы мито-
хондрий и наблюдаемое уплотнение их матрикса
под влиянием неблагоприятных температур
может сопровождаться увеличением размеров
митохондрий (табл. 4), что свидетельствует о
повышении дыхательной способности расте-
ний [Кислюк и др., 1995; Armstrong et al., 2006].
Интересно, что при длительном охлаждении
проростков пшеницы не зафиксировано уве-
личения размеров митохондрий (табл. 4), но
на срезах клеток отмечено увеличение их коли-
чества [Венжик и др., 2008].

Важным свойством пероксисом считается
их высокая пластичность, позволяющая изме-
нять форму и локализацию в клетке в неблаго-
приятных условиях [Del Rio et al., 2006; Реунов,
2014]. Именно пероксисомы являются основ-
ными генераторами активных форм кислорода
(АФК), но с другой стороны, они же участвуют
в нейтрализации АФК с помощью антиокси-
дантных ферментов [Nyathi, Baker, 2006; Palma
et al., 2009]. Поэтому изменение формы, плот-
ности и локализации пероксисом, отмеченное
нами (табл. 4), можно рассматривать как ин-
дикатор изменений в окислительно- восстано-
вительном балансе клеток [Rodriguez-Serrano
et al., 2009; Реунов, 2014]. Однако то, что уве-
личение размеров пероксисом происходило
только при длительном действии низкой тем-
пературы (табл. 4), может косвенно указывать
на более активную работу антиоксидантной
системы при длительном охлаждении растений
по сравнению с кратковременным.

Многочисленные скопления пероксисом и митохондрий около хлоропластов, зафиксированные во всех вариантах охлаждения, свидетельствуют об усилении контактов между этими органеллами. Выросты и инвагинации, появляющиеся при этом в хлоропластах, способствуют увеличению поверхности пластид и, в свою очередь, облегчают обмен метаболитами с цитоплазмой и другими органеллами клетки [Buchner et al., 2007; Holzinger et al., 2007; Lütz, Engel, 2007].

Помимо перечисленных выше структурных преобразований и длительное, и кратковременное охлаждение проростков или только корней пшеницы вызывало изменения в тилакоидной системе хлоропластов. При продолжительном действии низкой температуры на проростки в их листьях формировались хлоропласты со сниженным коэффициентом гранальности (табл. 4), в которых мембраны тилакоидов стромы преобладали над гранальными мембранами. Такого рода мембранная перестройка является проявлением защитно-приспособительных реакций, направленных на сохранение функциональной активности более холодочувствительной фотосистемы II [Kratsch, Wise, 2000; Трунова, 2007; Венжик и др., 2012; Vella et al., 2012], поскольку в гранальных мембранах соотношение липиды/белки почти в 2 раза ниже, чем в мембранах тилакоидов стромы [Мокроносков и др., 2006], а следовательно, они более плотные и быстрее повреждаются холодом. Кроме того, уменьшение размеров гран в хлоропластах растений, подвергаемых длительному охлаждению, направлено на защиту мембран от избыточной генерации АФК в стрессовых условиях [Попов и др., 2016].

В отличие от этого кратковременное охлаждение проростков или корней пшеницы не вызывало формирования подобной, предположительно более адаптированной к холоду, структуры хлоропластов, а наоборот, приводило к формированию пластид с повышенной «гранальностью» (табл. 4). Заметим, что аналогичная перестройка тилакоидной системы зафиксирована в хлоропластах листьев пшеницы и при длительном действии низкой температуры только на корни (табл. 4). Однако подчеркнем, что процесс формирования хлоропластов с повышенной «гранальностью» происходил в разных вариантах опытов неодинаково – за счет увеличения длины мембран гранальных тилакоидов (после кратковременного охлаждения проростков, а также при длительном действии низкой температуры только на корни) или в результате уменьшения длины мембран

тилакоидов стромы (после кратковременного охлаждения корней) (табл. 4).

В настоящее время значение такой структурной трансформации хлоропластов остается не вполне ясным. Тем не менее именно способность к быстрым мембранным перестройкам, по мнению некоторых авторов, является важным элементом устойчивости растений к неблагоприятным факторам [Hudak, Salaj, 1999], а возможность «запускать» такого рода изменения в хлоропластах считается одним из механизмов, снижающих вероятность фотоингибирования и обеспечивающих оптимизацию процесса фотосинтеза в стрессовых условиях [Pribil et al., 2014].

Заключение

В целом проведенные исследования показали, что даже кратковременное охлаждение проростков или корней пшеницы индуцирует увеличение холодоустойчивости клеток листьев, которое сопровождается комплексом ультраструктурных изменений. Сопоставление ультраструктурных преобразований, наблюдаемых в клетках листьев при кратковременном и длительном охлаждении проростков пшеницы или только их корневой системы, позволило установить, что часть из них являются общими для этих видов холодового воздействия. К ним, в частности, относятся изменения формы и плотности хлоропластов, митохондрий и пероксисом, увеличение размеров пластид, появление в них выростов и инвагинаций, скопление митохондрий и пероксисом около пластид. С другой стороны, проявление других ультраструктурных изменений, таких как увеличение размеров митохондрий и пероксисом, перестройка тилакоидной системы хлоропластов, зависело от продолжительности охлаждения и от того, носило оно общий или локальный характер. Повидимому, в зависимости от характера (типа) низкотемпературного воздействия в клетках растений реализуются различные адаптивные программы, которые могут включать в себя как сходные (однотипные), так и разные изменения в ультраструктурной организации клеток листьев. Наличие разных адаптивных программ и разных адаптивных стратегий может рассматриваться как свидетельство наличия у холодостойких растений значительного адаптивного потенциала, который сформировался в процессе их эволюции и благодаря которому они способны успешно переносить как кратковременное, так и длительное воздействие холода в период активной вегетации, т. е. в период, когда растения к этому наименее подготовлены.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания по теме № 0221-2014-0032.

Литература

Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1982. 6 с.

Венжик Ю. В., Фролова С. А., Котеева Н. К., Мирославов Е. А., Титов А. Ф. Структурно-функциональные особенности растений *Triticum aestivum* L. (Poaceae) на начальном этапе холодовой адаптации // Бот. журн. 2008. Т. 93, № 9. С. 1367–1377.

Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В., Мирославов Е. А., Котеева Н. К. Структурно-функциональная реорганизация фотосинтетического аппарата растений пшеницы при холодовой адаптации // Цитология. 2012. Т. 54, № 12. С. 916–924.

Веселов Д. С., Сабиржанова И. Б., Ахиярова Г. Р., Веселова С. В., Фархутдинов Р. Г., Мустафина А. Р., Митриченко А. Н., Дедов А. В., Веселов С. Ю., Кудоярова Г. Р. Роль гормонов в быстром ростовом ответе растений пшеницы на осмотический и холодовой шок // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 4. С. 572–576.

Кислюк И. М., Мирославов Е. А., Палеева Т. В. Стимуляция дыхания листьев пшеницы и пролиферация митохондрий в их клетках под влиянием охлаждения // Физиология растений. 1995. Т. 42, № 4. С. 603–606.

Мокроносков А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Академия, 2006. 448 с.

Попов В. Н., Антипина Н. В., Астахова Н. В. Изменения ультраструктуры хлоропластов растений табака в процессе защиты от окислительного стресса при гипотермии // Физиология растений. 2016. Т. 63, № 3. С. 319–326. doi: 10.7868/s0015330316030118

Реунов А. В. Пероксисомы растений: роль в метаболизме активных форм кислорода и опосредованных ими процессах // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134, № 1. С. 48–60.

Титов А. Ф., Акимова Т. В., Таланова В. В., Топчиева Л. В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.

Титов А. Ф., Таланова В. В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. 206 с.

Титов А. Ф., Таланова В. В. Локальное действие высоких и низких температур на растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. 166 с.

Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс. М.: Наука, 2007. 54 с.

Al-Hamdani S. H., Thomas T. S. Influence of root chilling on winter and spring wheat growth and carbon dioxide assimilation // Acta Agricult. Scandinavica. 2000. Vol. 50. P. 149–154.

Armstrong A. F., Logan D., Tobin A. K., O'Toole P., Atkin O. K. Heterogeneity of plant mitochondrial responses underpinning respiratory acclimation to the cold in *Arabidopsis thaliana* leaves // Plant Cell Environ. 2006. Vol. 29. P. 940–949. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01475.x

Buchner O., Holzinger A., Lütz C. Effects of temperature and light on the formation of chloroplast protrusions in leaf mesophyll cells of high alpine plants // Plant Cell Environ. 2007. Vol. 30. P. 1347–1356. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01707.x

Crosatti C., Rizza F., Badeck F. W., Mazzucotelli E., Cattivelli L. Harden the chloroplast to protect the plant // Physiol. Plant. 2013. Vol. 147. P. 55–63. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x

Cui H., Ma W., Hu J., Li Y., Zheng Y. Chilling tolerance evaluation, and physiological and ultrastructural changes under chilling stress in tobacco // Afr. J. Agricult. Res. 2012. Vol. 7. P. 3349–3359. doi: 10.5897/ajar11.1481

Del Río L. A., Sandalio L. M., Corpas F. J., Palma J. M., Barroso J. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling // Plant Physiology. 2006. Vol. 141. P. 330–335.

Garbero M., Andrade A., Reinoso H., Fernández B., Cuesta C., Granda V., Escudero C., Abdala G., Pedranzani H. Differential effect of short-term cold stress on growth, anatomy, and hormone levels in cold-sensitive versus resistance cultivars of *Digiteria eriantha* // Acta Physiol. Plant. 2012. Vol. 34. P. 2079–2091. doi: 10.1007/s11738-012-1007-x

Heidarvand L., Maali Amili R. What happens in plant molecules responses to cold stress // Acta Physiol. Plant. 2010. Vol. 32. P. 419–431. doi: 10.1007/s11738-009-0451-8

Holzinger A., Buchner O., Lütz C., Hanson M. R. Temperature-sensitive formation of chloroplast protrusions and stromules in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana* // Protoplasma. 2007. Vol. 230. P. 23–30. doi: 10.1007/s00709-006-0222-y

Hudak J., Salaj J. Effect of low temperature on the structure of plant cells // Hand book of plant and crop stress. New York: Marcel Dekker, Inc. 1999. P. 441–464.

Ishikava H. A. Ultrastructural features of chilling injury: injured cells and the early events during chilling of suppression-cultured mung bean cells // Am. J. Bot. 1996. Vol. 83. P. 825–835.

Kaplan F., Guy C. L. Beta-amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock // Plant Physiol. 2004. Vol. 135. P. 1674–1684. doi: 10.1104/pp.104.040808

Kratsch H. A., Wise R. R. The ultrastructure of chilling stress // Plant Cell Environ. 2000. Vol. 23. P. 337–350. doi: 10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x

Kutik J., Hala D., Kocova M., Rothova O., Haise D., Wilhelmova N., Ticha I. Ultrastructure and dimensions of chloroplasts in leaves of three maize (*Zea mays* L.) inbred lines and their F1 hybrids grown under moderate chilling stress // Photosynthetica. 2004. Vol. 42. P. 447–455. doi: 10.1023/b:phot.0000046165.15048.a4

Lee S. H., Singh A. D., Chung G. C., Ahn S. J., Noh E. K., Stendie E. Exposure of roots of cucumber

(*Cucumis sativus*) to low temperature severely reduced root pressure, hydraulic conductivity and active transport of nutrients // *Physiol. Plant.* 2004. Vol. 120. P. 413–422. doi: 10.1111/j.0031-9317.2004.00248.x

Li X.-G., Wang X.-M., Meng Q.-W., Zou Q. Factors limiting photosynthetic recovery in sweet pepper leaves after short-term chilling stress under low irradiance // *Photosynthetica.* 2004. Vol. 42. P. 257–262. doi: 10.1023/b:phot.0000040598.48732.af

Li T. A., Xu S. L., Oses-Prieto J. A., Putil S., Xu P., Wang R. L., Li K. H., Maltby D. A., An L. H., Burlingame A. L., Deng Z. P., Wang Z. Y. Proteomics analysis reveals post-translational mechanisms for cold-induced metabolic changes in *Arabidopsis* // *Mol. Plant.* 2011. Vol. 4. P. 361–374. doi: 10.1093/mp/ssq078

Li Z.-G., Yuan L.-X., Wang Q.-L., Ding Z.-L., Dong C.-Y. Combined action of antioxidant defense system and osmolytes in chilling shock-induced chilling tolerance in *Jatropha curcas* seedlings // *Acta Physiol. Plant.* 2013. Vol. 35. P. 2127–2136. doi: 10.1007/s11738-013-1249-2

Logan D. C. Plant mitochondrial dynamics // *Biochem. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1763. P. 430–441.

Logan D. C. Mitochondrial fusion, division and positioning in plants // *Biochem. Soc. Transd.* 2010. Vol. 38. P. 789–795. doi: 10.1042/bst0380789

Logan D. C., Leaver C. J. Mitochondria-targeted GFP highlights the heterogeneity of mitochondrial shape, size and movement within living plant cells // *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51. P. 865–871. doi: 10.1093/jxb/51.346.865

Lütz C., Engel L. Changes of chloroplasts ultrastructure in some light-alpine plants: adaptation to metabolic demands and climate // *Protoplasma.* 2007. Vol. 231. P. 183–192. doi: 10.1007/s00709-007-0249-8

Nyathi Y., Baker A. Plant peroxisomes as a source of signaling molecules // *Biochem. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1763. P. 1478–1495. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.08.031

Palma J. M., Corpas F. J., Del Río L. A. Proteome of plant peroxisomes: a new perspectives on the role of these organelles in cell biology // *Proteomics.* 2009. Vol. 9. P. 2301–2312. doi: 10.1002/pmic.200700732

Pribil M., Labs M., Leister D. Structure and dynamics of thylakoids in land plants // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1955–1972. doi: 10.1093/jxb/eru090

Ristic Z., Ashworth E. N. Changes in leaf ultrastructure and carbohydrates in *Arabidopsis thaliana* L. (Heun) cv. *Columbia* during rapid cold acclimation // *Protoplasma.* 1993. Vol. 172. P. 111–123. doi: 10.1007/bf01379368

Rodríguez-Serrano M., Romero-Puertas M. C., Sparkes I., Hawes Ch. Peroxisome dynamics in Arabi-

dopsis plants under oxidative stress induced by cadmium // *Free radical biology and medicine.* 2009. Vol. 47. P. 1632–1639. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.012

Ruelland E., Zachowsky A. How plant sense temperature // *Environ. Exp. Bot.* 2010. Vol. 69. P. 225–232. doi: 10.1016/j.envexbot.2010.05.011

Theocharis A., Clément Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta.* 2012. Vol. 235. P. 1091–1105. doi: 10.1007/s00425-012-1641-y

Van Gestel K., Verbelen J. P. Giant mitochondria are a response to low oxygen pressure in cells of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) // *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53. P. 1215–1218.

Vella G. F., Joss T. V., Roberts T. H. Chilling-induced ultrastructural changes to mesophyll cells of *Arabidopsis* grown under short days are almost completely reversible by plant re-warming // *Protoplasma.* 2012. Vol. 249. P. 1137–1149. doi: 10.1007/s00709-011-0363-5

Venzhik Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V., Miroslavov E. A. Ultrastructure and functional activity of chloroplasts in wheat leaves under root chilling // *Acta Physiol. Plant.* 2014. Vol. 36. P. 323–330. doi: 10.1007/s11738-013-1413-8

Venzhik Yu., Talanova V., Titov A. The effect of abscisic acid on cold tolerance and chloroplasts ultrastructure in wheat under optimal and cold stress conditions // *Acta Physiol. Plant.* 2016. Vol. 38 P. 1–10. doi: 10.1007/s11738-016-2082-1

Veselova S., Farhutdinov R., Mitrichenko A., Symonyan M., Hartung W. The effect of root cooling on hormone content and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.) // *Bulg. J. Plant Physiol.* 2003. Special Issue. P. 360–366.

Wilkinson S., Clephan A. L., Davies W. J. Rapid low-temperature stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid // *Plant Physiology.* 2001. Vol. 126. P. 195–210.

Yadav S. K. Cold stress tolerance mechanisms in plant. A review // *Agron. Sustain. Dev.* 2010. Vol. 30. P. 1566–1578. doi: 10.1051/agro/2009050

Yu J., Cang J., Zhou Z., Liu L. Anatomical structure composition between leaves of two winter wheat cultivars with different cold/freezing tolerance under low temperature stress // *J. Northeast Agr University.* 2011. Vol. 18. P. 1–3. doi: 10.1016/S1006-8104(13)60091-4

Поступила в редакцию 20.10.2016

References

Balagurova N. I., Drozdov S. N., Khilkov N. I. Metod opredeleniya ustoichivosti rastitel'nykh tkanei k promrazhivaniyu [Method for determination of plant tissues resistance to freezing]. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1982. 6 p.

Kislyuk I. M., Miroslavov E. A., Paleeva T. V. Stimulyatsiya dykhaniya list'ev pshenitsy i proliferatsiya

mitokhondrii v ikh kletkakh pod vliyaniem okhlazhdeniya [Stimulation of wheat leaves respiration and proliferation of mitochondria in their cells under cooling]. *Fiziol. rast [Russian Journal of Plant Physiology]*. 1995. Vol. 42, no. 4. P. 603–606.

Mokronosov A. T., Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. Fotosintez. Fiziologo-ekologicheskie i biokhimicheskie

aspekty [Photosynthesis. Physiological, ecological and biochemical aspects]. Moscow: Akademiya, 2006. 448 p.

Popov V. N., Antipina O. V., Astakhova N. V. Izmeneniya ul'trastruktury khloroplastov rastenii tabaka v protsesse zashchity ot oksislitel'nogo stressa pri gipotermii [Changes in chloroplasts ultrastructure of tobacco plants in the course of their protection from oxidative stress under hypothermia]. *Fiziologiya rastenii [Russian Journal of Plant Physiology]*. 2016. Vol. 63, no. 3. P. 301–307. doi: 10.7868/s0015330316030118

Reunov A. V. Peroksisomy rastenii: rol' v metabolizme aktivnykh form kisloroda i oposredovannykh imi protsessakh [Plants peroxisomes: the role in metabolism of reactive oxygen species and the processes they mediate]. *Uspekhi sovremennoi biologii [Biol. Bull. Rev.]*. 2014. Vol. 4, no. 4. P. 311–322.

Titov A. F., Akimova T. V., Talanova V. V., Topchieva L. V. Ustoichivost' rastenii v nachal'nyi period deistviya neblagopriyatnykh temperature [Plants tolerance in the initial period of extreme temperatures impact]. Moscow: Nauka, 2006. 143 p.

Titov A. F., Talanova V. V. Ustoichivost' rastenii i fitogormony [Plants tolerance and phytohormones]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2009. 206 p.

Titov A. F., Talanova V. V. Lokal'noe deistvie vysokikh i nizkikh temperatur na rasteniya [Local effect of high and low temperatures on plants]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2011. 166 p.

Trunova T. I. Rastenie i nizkotemperaturnyi stress [Plants and low-temperature stress]. Timiryazevskie chteniya [Timiryazev Readings]. Moscow: Nauka, 2007. Vol. 64. 54 p.

Venzhik Yu. V., Frolova S. A., Koteeva N. K., Miroslavov E. A., Titov A. F. Strukturno-funktsional'nye osobennosti rastenii *Triticum aestivum* L. (*Poaceae*) na nachal'nom etape kholodovoi adaptatsii [Structural and functional features of the *Triticum aestivum* (*Poaceae*) plants in the initial period of cold adaptation]. *Bot. zhurn. [Bot. Journal]*. 2008. Vol. 93, no. 9. P. 1367–1377.

Venzhik Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V., Miroslavov E. A., Koteeva N. K. Strukturno-funktsional'naya reorganizatsiya fotosinteticheskogo apparata rastenii pshenitsy pri kholodovoi adaptatsii [Structural and functional reorganization of photosynthetic apparatus of wheat plants in the course of cold adaptation]. *Tsitologiya [Cell Tissue Biol.]*. 2013. Vol. 7, no. 2. P. 168–176.

Veselov D. S., Sabirzhanova I., Akhiyarova G., Veselova S. V., Farkhutdinov R. G., Mustafina A. R., Mitrichenko A. N., Dedov A. V., Veselov S. Yu., Kudoyarova G. R. Rol' gormonov v bystrom rostovom otvete rastenii pshenitsy na osmoticheskii i kholodovoi shok [The role of hormones in fast growth responses of the wheat plants to osmotic and cold shocks]. *Fiziologiya rastenii [Russian Journal of Plant Physiology]*. 2002. Vol. 49, no. 4. P. 513–517.

Al-Hamdani S. H., Thomas T. S. Influence of root chilling on winter and spring wheat growth and carbon dioxide assimilation. *Acta Agricult. Scandinavica*. 2000. Vol. 50. P. 149–154.

Armstrong A. F., Logan D., Tobin A. K., O'Toole P., Atkin O. K. Heterogeneity of plant mitochondrial re-

sponses underpinning respiratory acclimation to the cold in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Cell Environ*. 2006. Vol. 29. P. 940–949. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01475.x

Buchner O., Holzinger A., Lütz C. Effects of temperature and light on the formation of chloroplast protrusions in leaf mesophyll cells of high alpine plants. *Plant Cell Environ*. 2007. Vol. 30. P. 1347–1356. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01707.x

Crosatti C., Rizza F., Badeck F. W., Mazzucotelli E., Cattivelli L. Harden the chloroplast to protect the plant. *Physiol. Plant*. 2013. Vol. 147. P. 55–63. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x

Cui H., Ma W., Hu J., Li Y., Zheng Y. Chilling tolerance evaluation, and physiological and ultrastructural changes under chilling stress in tobacco. *Afr. J. Agricult. Res*. 2012. Vol. 7. P. 3349–3359. doi: 10.5897/ajar11.1481

Del Río L. A., Sandalio L. M., Corpas F. J., Palma J. M., Barroso J. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiology*. 2006. Vol. 141. P. 330–335.

Garbero M., Andrade A., Reinoso H., Fernández B., Cuesta C., Granda V., Escudero C., Abdala G., Pedranzani H. Differential effect of short-term cold stress on growth, anatomy, and hormone levels in cold-sensitive versus resistance cultivars of *Digiteria eriantha*. *Acta Physiol. Plant*. 2012. Vol. 34. P. 2079–2091. doi: 10.1007/s11738-012-1007-x

Heidarvand L., Maali Amili R. What happens in plant molecules responses to cold stress. *Acta Physiol. Plant*. 2010. Vol. 32. P. 419–431. doi: 10.1007/s11738-009-0451-8

Holzinger A., Buchner O., Lütz C., Hanson M. R. Temperature-sensitive formation of chloroplast protrusions and stromules in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana*. *Protoplasma*. 2007. Vol. 230. P. 23–30. doi: 10.1007/s00709-006-0222-y

Hudak J., Salaj J. Effect of low temperature on the structure of plant cells. Hand book of plant and crop stress. New York: Marcel Dekker, Inc., 1999. P. 441–464.

Ishikava H. A. Ultrastructural features of chilling injury: injured cells and the early events during chilling of suppression-cultured mung bean cells. *Am. J. Bot*. 1996. Vol. 83. P. 825–835.

Kaplan F., Guy C. L. Beta-amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock. *Plant Physiol*. 2004. Vol. 135. P. 1674–1684. doi: 10.1104/pp.104.040808

Kratsch H. A., Wise R. R. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environ*. 2000. Vol. 23. P. 337–350. doi: 10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x

Kutik J., Hala D., Kocova M., Rothova O., Haise D., Wilhelmova N., Ticha I. Ultrastructure and dimensions of chloroplasts in leaves of three maize (*Zea mays* L.) inbred lines and their F1 hybrids grown under moderate chilling stress. *Photosynthetica*. 2004. Vol. 42. P. 447–455. doi: 10.1023/b:phot.0000046165.15048.a4

Lee S. H., Singh A. D., Chung G. C., Ahn S. J., Noh E. K., Stendie E. Exposure of roots of cucumber (*Cucumis sativus*) to low temperature severely reduced root pressure, hydraulic conductivity and active transport

of nutrients. *Physiol. Plant.* 2004. Vol. 120. P. 413–422. doi: 10.1111/j.0031-9317.2004.00248.x

Li X.-G., Wang X.-M., Meng Q.-W., Zou Q. Factors limiting photosynthetic recovery in sweet pepper leaves after short-term chilling stress under low irradiance. *Photosynthetica.* 2004. Vol. 42. P. 257–262. doi: 10.1023/b:phot.0000040598.48732.af

Li T. A., Xu S. L., Osés-Prieto J. A., Putil S., Xu P., Wang R. L., Li K. H., Maltby D. A., An L. H., Burlingame A. L., Deng Z. P., Wang Z. Y. Proteomics analysis reveals post-translational mechanisms for cold-induced metabolic changes in *Arabidopsis*. *Mol. Plant.* 2011. Vol. 4. P. 361–374. doi: 10.1093/mp/ssq078

Li Z.-G., Yuan L.-X., Wang Q.-L., Ding Z.-L., Dong C.-Y. Combined action of antioxidant defense system and osmolytes in chilling shock-induced chilling tolerance in *Jatropha curcas* seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 2013. Vol. 35. P. 2127–2136. doi: 10.1007/s11738-013-1249-2

Logan D. C. Plant mitochondrial dynamics. *Biochem. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1763. P. 430–441.

Logan D. C. Mitochondrial fusion, division and positioning in plants. *Biochem. Soc. Trans.* 2010. Vol. 38. P. 789–795. doi: 10.1042/bst0380789

Logan D. C., Leaver C. J. Mitochondria-targeted GFP highlights the heterogeneity of mitochondrial shape, size and movement within living plant cells. *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51. P. 865–871. doi: 10.1093/jexbot/51.346.865

Lütz C., Engel L. Changes of chloroplasts ultrastructure in some light-alpine plants: adaptation to metabolic demands and climate. *Protoplasma.* 2007. Vol. 231. P. 183–192. doi: 10.1007/s00709-007-0249-8

Nyathi Y., Baker A. Plant peroxisomes as a source of signaling molecules. *Biochem. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1763. P. 1478–1495. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.08.031

Palma J. M., Corpas F. J., Del Río L. A. Proteome of plant peroxisomes: a new perspectives on the role of these organelles in cell biology. *Proteomics.* 2009. Vol. 9. P. 2301–2312. doi: 10.1002/pmic.200700732

Pribil M., Labs M., Leister D. Structure and dynamics of thylakoids in land plants. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1955–1972. doi: 10.1093/jxb/eru090

Ristic Z., Ashworth E. N. Changes in leaf ultrastructure and carbohydrates in *Arabidopsis thaliana* L. (Heun) cv. Columbia during rapid cold acclimation. *Protoplasma.* 1993. Vol. 172. P. 111–123. doi: 10.1007/bf01379368

Rodríguez-Serrano M., Romero-Puertas M. C., Sparkes I., Hawes Ch. Peroxisome dynamics in *Arabidopsis* plants under oxidative stress induced by

cadmium. *Free radical biology and medicine.* 2009. Vol. 47. P. 1632–1639. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.012

Ruelland E., Zachowsky A. How plant sense temperature. *Environ. Exp. Bot.* 2010. Vol. 69. P. 225–232. doi: 10.1016/j.envexbot.2010.05.011

Theocharis A., Clément Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature. *Planta.* 2012. Vol. 235. P. 1091–1105. doi: 10.1007/s00425-012-1641-y

Van Gestel K., Verbelen J. P. Giant mitochondria are a response to low oxygen pressure in cells of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53. P. 1215–1218.

Vella G. F., Joss T. V., Roberts T. H. Chilling-induced ultrastructural changes to mesophyll cells of *Arabidopsis* grown under short days are almost completely reversible by plant re-warming. *Protoplasma.* 2012. Vol. 249. P. 1137–1149. doi: 10.1007/s00709-011-0363-5

Venzhik Y. V., Titov A. F., Talanova V. V., Miroslavov E. A. Ultrastructure and functional activity of chloroplasts in wheat leaves under root chilling. *Acta Physiol. Plant.* 2014. Vol. 36. P. 323–330. doi: 10.1007/s11738-013-1413-8

Venzhik Yu., Talanova V., Titov A. The effect of abscisic acid on cold tolerance and chloroplasts ultrastructure in wheat under optimal and cold stress conditions. *Acta Physiol. Plant.* 2016. Vol. 38 P. 1–10. doi: 10.1007/s11738-016-2082-1

Veselova S., Farhutdinov R., Mitrichenko A., Symonyan M., Hartung W. The effect of root cooling on hormone content and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *Bulg. J. Plant Physiol.* 2003. Special Issue. P. 360–366.

Wilkinson S., Clephan A. L., Davies W. J. Rapid low-temperature stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid. *Plant Physiology.* 2001. Vol. 126. P. 195–210.

Yadav S. K. Cold stress tolerance mechanisms in plant. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 2010. Vol. 30. P. 1566–1578. doi: 10.1051/agro/2009050

Yu J., Cang J., Zhou Z., Liu L. Anatomical structure composition between leaves of two winter wheat cultivars with different cold/freezing tolerance under low temperature stress. *J. Northeast Agr. University.* 2011. Vol. 18. P. 1–3. doi: 10.1016/S1006-8104(13)60091-4

Received October 20, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Венжик Юлия Валерьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Карелия, Россия,
185910

эл. почта: Jul.Venzhik@gmail.com
тел.: (8142) 762712, +79114021131

CONTRIBUTORS:

Venzhik, Yulia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: Jul.Venzhik@gmail.com
tel.: (8142) 762712, +79114021131

Титов Александр Федорович

главный научный сотрудник отдела комплексных научных исследований КарНЦ РАН, руководитель лаб. экологической физиологии растений, чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.

Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Карелия, Россия,
185910

эл. почта: titov@krc.karelia.ru

тел.: (8142) 769710

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Карелия, Россия,
185910

эл. почта: talanova@krc.karelia.ru

тел.: (8142) 762712

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: titov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762712

УДК 599.4: 577.161.1+577.161.3

СОДЕРЖАНИЕ РЕТИНОЛА И α -ТОКОФЕРОЛА У ЛЕТУЧИХ МЫШЕЙ В ПЕРИОД ГИБЕРНАЦИИ

Т. Н. Ильина, И. В. Баишникова, В. В. Белкин, А. Е. Якимова

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Зимняя спячка, позволяющая животным выживать в условиях низких температур и недостатка корма, является физиологической адаптацией, при которой наблюдается снижение уровня метаболизма, частоты сердцебиения и значительное уменьшение потребления кислорода. Считается, что основным фактором адаптации, способным защищать клетки от активных форм кислорода, может быть усиление антиоксидантных механизмов. Ограниченность сведений об антиоксидантной системе рукокрылых определила цель исследований, которая заключалась в изучении в период гибернации содержания ретинола и α -токоферола в тканях печени, почек и скелетной мышцы у пяти видов летучих мышей, обитающих и зимующих на северной периферии их ареала. Установлено, что содержание ретинола и токоферола у летучих мышей на протяжении спячки было достаточно высоким и позволило длительное время выдерживать отсутствие поступления облигатных антиоксидантов, сохраняя при этом резервы, необходимые для репродукции. Наиболее высокое содержание α -токоферола и ретинола сохраняется к весне у северного кожанка, снижение массы тела за период гибернации у него было менее значительным, чем у других видов. Существенные запасы витаминов были обнаружены в весенний период и в тканях самок других видов, в частности, ночницы Брандта. Анализ индивидуальных данных показал, что содержание ретинола и токоферола у летучих мышей имеет и половые различия – у самок оно выше, чем у самцов. У всех исследованных видов наблюдается значительная вариабельность показателей, которую можно объяснить как видовыми, так и индивидуальными различиями по степени накопления витаминов перед спячкой.

Ключевые слова: α -токоферол; ретинол; летучие мыши; спячка; антиоксиданты.

T. N. Ilyina, I. V. Baishnikova, V. V. Belkin, A. E. Yakimova. CONTENT OF RETINOL AND α -TOCOPHEROL IN BATS DURING THE PERIOD OF HIBERNATION

Hibernation, which allows animals to survive when exposed to low temperatures and lack of food, is a physiological adaptation involving reduced metabolism, heart rate and significant decrease in oxygen consumption. It is believed that the main factor for this adaptation, which enables cell protection against ROS by lowering their generation, may be intensification of antioxidant mechanisms. Still little is known about the antioxidant system of bats. Our aim was to study the retinol and α -tocopherol content in the tissues of 5 species of hibernating bats that live and spend the winter in the northern periphery of their distribution ranges. These data suggest that the retinol and tocopherol content in bats during hibernation was high enough to enable their survival despite the prolonged deprivation of obligate antioxidants, while maintaining the reserves necessary for repro-

duction. The residual content of α -tocopherol and retinol by spring was the highest in the northern bat, who lost less weight during the period of hibernation than other species. At the same time, females of other species also had quite significant reserves of these vitamins in their tissues in spring, especially so in Brandt's bats. Analysis of individual data showed that the content of retinol and tocopherol in bats was sex-specific – it was higher in females than in males. There was significant variation of the indices in all the species, which can be explained both by species- and individual differences in the degree of vitamins accumulation before hibernation.

Key words: α -tocopherol; retinol; bats; hibernation; antioxidants.

Введение

Отсутствие или дефицит пищи в зимний период является главной угрозой для большинства видов млекопитающих северной зоны, однако многие из них имеют механизмы, повышающие выживание в холодном климате. Зимняя спячка, позволяющая животным выживать в условиях низких температур и отсутствия корма, является физиологической адаптацией, при которой наблюдается снижение уровня метаболизма, сопровождающееся замедлением дыхания, снижением частоты сердцебиения и значительным уменьшением потребления кислорода. Впадающие в спячку животные в период гибернации неоднократно проходят циклы оцепенения и возбуждения, во время которых ряд биохимических и физиологических параметров восстанавливается до нормального эутермического уровня за короткий период времени без видимых повреждений [Müller et al., 2007]. При гибернации генерация активных форм кислорода (АФК) понижена, но она значительно увеличивается при периодических пробуждениях и сократительном термогенезе во время разогревания животных, так как параллельно с этим повышается уровень окислительного метаболизма. Считается, что основным фактором адаптации, способным защищать клетки от АФК путем снижения уровня их генерации, может быть усиление антиоксидантных механизмов [Кольтовер, 2009].

Неферментативные антиоксиданты, к которым относятся ретинол и токоферол, играют важную роль в метаболизме животных. Витамин А характеризуется разносторонними физиологическими эффектами и биохимическим действием, он имеет особое значение в процессе восприятия света, необходим для нормального развития плода, регуляции пролиферации и дифференциации клеток в течение всего жизненного цикла и др. Токоферол в тканях выполняет роль биологического антиоксиданта, препятствующего развитию свободнорадикальных процессов перекисного окисления

ненасыщенных тканевых липидов (ПОЛ) молекулярным кислородом [Меньщикова и др., 2006]. Считается, что токоферол является регулятором энергетического метаболизма. Накопление в осенний период токоферола, являющегося ингибитором обменных процессов, характеризует подготовку животных к зиме, а процесс впадения в спячку и выхода из нее рассматривается как результат влияния токоферола [Слоним, 1979; Калабухов, 1985].

Между размерами тела и продолжительностью жизни млекопитающих существует прямая зависимость, исключением из которой являются летучие мыши. В среднем они живут в три раза дольше, чем нелетающие млекопитающие сопоставимых размеров и уровня метаболизма [Попов, Ковалев, 2010]. Высокую продолжительность жизни летучих мышей многие исследователи связывают со снижением обмена в период гибернации [Хританков, Оводов, 2001; Brunet-Rossinni, Austad, 2004; Орлов и др., 2012; Seim et al., 2013]. Выявлена отрицательная корреляция между видовой продолжительностью жизни и уровнем потребления кислорода, являющаяся универсальной закономерностью количественной геронтологии [Кольтовер, 2009]. До сих пор немного известно об антиоксидантной системе летучих мышей, которая может быть одним из механизмов, обеспечивающих более медленное старение организма [Filho et al., 2007; Ilyukha et al., 2015]. Целью работы было исследование закономерностей содержания низкомолекулярных антиоксидантов ретинола и α -токоферола в тканях летучих мышей, обитающих и зимующих на северной периферии их ареала, в период зимней спячки.

Материалы и методы

Объектами исследования были представители пяти видов гладконосых летучих мышей: северный кожанок (*Estesicus nilssonii*) (n=22), ночница Брандта (*Myotis brandtii*) (n=12), бурый ушан (*Plecotus auritus*) (n=6), водяная ночница (*M. daubentonii*) (n=7), усатая ночница

(*M. mystacinus*) (n=3), отловленные на зимовках в подземных сооружениях различного типа в южной части Республики Карелия (61–63° с. ш., 30–36° в. д.). Встречаемость и относительное обилие летучих мышей зимой [Стрелков, Ильин, 1990] определялись в 14 подземных убежищах, а относительное обилие и относительная численность летом [Russ et al., 2003] – на маршрутах с ультразвуковым детектором Song Meter SM 2 BAT+ и программным обеспечением Kaleidoscope. Разрешения для отлова выданы Управлением охотничьего хозяйства Министерства сельского, рыбного и охотничьего хозяйства Республики Карелия. Исследования выполнены с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [Этическая экспертиза..., 2005].

Содержание витаминов А (ретинол) и Е (α -токоферол) определяли в тканях (печень, почки, скелетная мышца) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Скурихин, Двинская, 1989]. Сезонная динамика массы тела была определена по 67 экз. Исследования проводились в три этапа: осенью (октябрь) в период подготовки и начала гибернации, зимой (февраль) в фазу глубокого сна и весной (март) на позднем этапе спячки. Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Так как вариабельность изучаемых показателей была высокой, то кроме среднего в таблицах приводятся также минимальное и максимальное абсолютные значения. Исследования выполнены с использованием научного оборудования ЦКП НО Института биологии КарНЦ РАН.

Результаты и обсуждение

Содержание ретинола и α -токоферола в тканях летучих мышей имело как межвидовые, так и значительные внутривидовые различия. У рукокрылых, как и у многих других животных, основным органом, депонирующим витамин А, является печень. В осенний период у бурого ушана, водяной и усатой ночниц содержание витамина А в печени было значительно выше, чем у ночницы Брандта и северного кожанка, а у последнего оно было минимальным (табл. 1). Зимой уровень ретинола в печени был высоким у всех видов, к весне его содержание в тканях снижалось, но оставалось в значительном количестве, а у отдельных особей его запасы намного превышали среднее для вида значение.

У многих млекопитающих в почках, которые являются местом образования и удаления конечных продуктов обмена витамина А, содержание

ретинола было значительно ниже, чем в печени, а в других тканях он или находится в очень небольших количествах, или вовсе не обнаруживается. В почках и скелетной мышце летучих мышей уровень ретинола также был существенно ниже по сравнению с печенью во все периоды исследования. Весной в печени самок запасы витамина А были существенно выше, чем у самцов.

О содержании и транспорте ретинола в тканях летучих мышей известно очень мало [Filio et al., 2007; Müller et al., 2007]. Так, при исследовании плодоядных и всеядных видов летучих мышей, обитающих в Центральной Америке, выявлено, что концентрация ретинола в их крови была незначительной. Причем у некоторых из этих видов в плазме крови каротиноиды и ретинол не были обнаружены [Müller et al., 2007]. В то же время ретинол имеет важное значение для нормального функционирования репродуктивной системы как самок, так и самцов, – его дефицит сопровождается деструкцией тестикулов и яичников, прекращением сперматогенеза. Витамин А необходим для нормального эмбрионального развития организма, а его недостаток приводит к нарушению процессов эмбриогенеза [Чаудхари и др., 1977; Ross et al., 2006]. Тот факт, что весной запасы ретинола в печени летучих мышей были достаточно высокими, указывает на способность организма длительное время выдерживать отсутствие поступления облигатных антиоксидантов, сохраняя при этом резервы, необходимые для репродукции.

Содержание α -токоферола в исследованных тканях летучих мышей было достаточно высоким. В начальный период гибернации наиболее существенные запасы токоферола в печени были у северного кожанка, у других видов содержание витамина Е было ниже (табл. 2). Максимальное содержание α -токоферола выявлено в почках самца северного кожанка, а у самок бурого ушана и водяной ночницы значительные запасы обнаружены в скелетной мышце. В зимний и весенний периоды в тканях продолжал сохраняться достаточно высокий уровень токоферола. Исследованные весной самки имели более высокое содержание токоферола, чем самцы. Уровень ретинола и токоферола в тканях летучих мышей имел высокую вариабельность во все периоды исследования, что обусловлено различным физиологическим состоянием животных и рядом других причин – участие в спаривании, время перехода в состояние гибернации, возраст животных, наличие эктопаразитов, внешних повреждений и др.

Интересно отметить, что довольно значительное содержание токоферола обнаружено

Таблица 1. Содержание ретинола в тканях летучих мышей в разные периоды гibernации, мкг/г

Вид	Пол	Осень						Зима						Весна					
		печень		почки		скелетная мышца		печень		почки		скелетная мышца		печень		почки		скелетная мышца	
		n		n		n		n		n		n		n		n		n	
Северный кожанок	f	3	1,96 0,36-3,80	2,00 1,68-2,31	0,81 0,21-1,41	5	57,71 11,04-109,00	0,9 0,85-0,95 (n=2)	0,96	0,96	0,96	0,96	9	19,37 0,93-68,88	0,81 0,23-1,33	0,81	0,81	0,81	1,28 0-2,92
	m	1	1,37	0	2,48	1	18,17					4	3,76 0,93-8,65	0	0	0	0	1,14	
Ночница Брандта	f	2	23,45 18,91-27,98	2,03	1,71	3	142,58 11,75-400,84	0,96	0,96	0,96	0,96	2	285,16 17,6-552,72	0,65 0,2-1,49	0,65	0,65	0,65	0,16	
	m	2	11,22 4,11-18,34		0,5							3	16,17 9,9-23,00	19,9	19,9	19,9	19,9	1,2 1,11-1,28	
Бурый ушан	f	2	102,19 18,54-185,84	8,97 1,82-16,12	0,14 0-0,28	1	139,35					2	68,94 21,8-116,09	0	0	0	0	0,6 0,38-0,82	
	m											1	10,00	0,75	0,75	0,75	0,75	0	
Водяная ночница	f	4	54,25 8,17-100,13	4,14 2,23-6,04	1,16 0-2,67	1	47,03					1						1,79	
	m	1	8,39	1,1	0,77	1	47,03				0,41								
Усатая ночница	f	1	68,50		0							1	79,32	2,35	2,35	2,35	2,35	2,67	
	m																		

Таблица 2. Содержание α-токоферола в тканях летучих мышей в разные периоды гibernации, мкг/г

Вид	Пол	Осень						Зима						Весна					
		печень		почки		скелетная мышца		печень		почки		скелетная мышца		печень		почки		скелетная мышца	
		n		n		n		n		n		n		n		n		n	
Северный кожанок	f	3	142,46 6,5-407,53	8,71 3,0-13,31	8,28 5,94-11,24	5	6,83 3,85-12,59	5,98 4,82-7,13 (n=2)	10,42	10,42	10,42	10,42	9	9,87 4,93-26,97	15,1 7,2-22,96	15,1	15,1	8,02 1,62-18,52	
	m	1	14,49	907,41	9,88	1	0,75					4	7,19 3,9-13,63	3,16	3,16	3,16	3,16	8,62	
Ночница Брандта	f	2	7,34 4,02-10,65	2,12	20,61	3	6,24 4,26-9,64					2	12,61 9,82-15,39					6,47±1,77 4,7-8,24	
	m	2	3,16±0,97 2,19-4,13		13,65							3	6,59 5,75-8,0	4,35	4,35	4,35	4,35	12,92 11,49-14,35	
Бурый ушан	f	2	6,4 5,75-7,05	6,09 5,16-7,01	45,99 8,07-83,92	1	23,27					2	11,12 11,11-11,14	2,23	2,23	2,23	2,23	6,83 3,89-9,76	
	m											1	4,05	7,6	7,6	7,6	7,6	2,5	
Водяная ночница	f	4	4,26 2,77-6,18	3,31 2,19-4,23	16,7 4,61-43,14	1	11,29					1							27,41
	m	1	6,16	42,98	10,19						22,3								
Усатая ночница	f	1	6,07	14,49															
	m																		
						1	16,25	15,61	15,61	15,61	15,61	1	16,25	15,61	15,61	15,61	15,61	15,61	7,3

Таблица 3. Динамика массы тела (г) северного кожанка в условиях гибернации

Октябрь		Февраль		Март–апрель		В среднем за период	
самки (n=3)	самцы (n=2)	самки (n=5)	самцы	самки (n=12)	самцы (n=7)	самки (n=20)	самцы (n=9)
11,27	12,0	10,51	–	9,78	7,92	10,19	8,83
11,56 ± 0,88		10,51 ± 0,81		9,09 ± 0,32		9,76 ± 0,32	

в скелетной мышце летучих мышей, в которой синтез белков регулируется факторами роста, гормонами, механической нагрузкой миофибрилл, а также нутриентами [Астратенкова, Rogozkin, 2014]. Дефицит витамина E вызывает активацию ПОЛ и накопление продуктов этого процесса в скелетной мышце, поэтому поддержание ее функционального состояния для гибернирующих животных весьма актуально. У грызунов и человека длительное бездействие приводит к атрофии мышц, которая отсутствует у летучих мышей, находящихся продолжительный период в неподвижном состоянии. Так, при исследовании спячки медведей было установлено, что они способны вырабатывать мощный протеолитический ингибитор, блокирующий атрофию мышц, связанную с иммобилизацией [Fuster et al., 2007]. Можно предположить наличие подобного механизма и у летучих мышей. Следствием резкого уменьшения активности мышечных тканей является сокращение потребления организмом кислорода и, как результат, понижение активности антиоксидантной системы. Очевидно, что снижение метаболизма позволяет сокращать затраты эндогенных ресурсов, в том числе и витаминов.

Содержание в тканях витаминов A и E определяется прежде всего поступлением с пищей, которое прекращается в период спячки, когда у животных происходит переключение с углеводного метаболизма на липидный [Калабухов, 1985; Seim et al., 2013] и накопленные жиры служат основным источником энергии. У находящихся в спячке животных метаболизм в значительной степени зависит от температуры среды. В Карелии температура в местах зимовок летучих мышей опускается до $-2,8^{\circ}\text{C}$ [Белкин и др., 2016]. В то же время понижение температуры воздуха на 10° приводит к уменьшению обмена примерно в 2–2,5 раза [Коломийцева, 2011]. При этом липиды играют важную роль в температурной адаптации млекопитающих с позиции их значимости в физико-химических и функциональных свойствах биологических мембран и регуляции метаболизма. У гибернирующих животных интенсивность липолиза поддерживается на уровне, необходимом для постоянного, но сниженного снабжения тканей энергией. Наибольшее количество свободных жирных кислот для своей жизнедеятельности при гипотермии

потребляют печень и скелетная мышца, на долю каждой из которых приходится примерно по трети всего запаса жира. Кроме того, именно жировая ткань является основным депо витамина E в организме, и поэтому ожирение сочетается с накоплением токоферола, являющегося ингибитором обменных процессов. Увеличение содержания токоферола при гипотермии способствует повышению антиоксидантной активности липидов адаптированных к холоду животных [Колосова и др., 1995], а процесс впадения зимоспящих животных в спячку и выход из нее считается результатом влияния витамина E [Калабухов, 1964, 1985; Слоним, 1979].

У рукокрылых, как и у других зимоспящих млекопитающих, основным резервным веществом является жир, за счет которого происходит потеря веса во время спячки [Speakman, Rowland, 1999]. Эти потери могут составлять до одной трети первоначальной массы животного (табл. 3). Считается, что большие запасы жира к зиме накапливают самки [Мосяш, 1985], однако на имеющемся материале это утверждение проследить не удалось. От октября к апрелю масса тела северного кожанка (n=29) падает на 21,4 %, причем у самцов более резко (34 %), чем у самок (13,2 %). Та же тенденция сезонного снижения массы тела прослеживается и у других видов: у ночницы Брандта (n=13) на 12,2 %, у бурого ушана (n=7) на 29,5 %, у водяной ночницы (n=12) на 17,2 %. Такие запасы и расходование жира можно рассматривать как результат наибольшей устойчивости к гипотермии, обеспечивающий этим видам успешную зимовку и дальнейшее размножение. Можно предположить, что большие жировые запасы оказывают влияние на выживаемость вида в период зимней спячки. Установлено, что смертность летучих мышей на зимовках в Карелии в среднем за ряд лет составляет 4,7 % [Белкин и др., 2015]. При этом гибель северного кожанка составила 5,1 % от всех учтенных особей данного вида, ночницы Брандта – 5,3 %, водяной ночницы – 10,0 %, погибших бурых ушанов и усатых ночниц не отмечено. Характерно, что северный кожанок доминирует как на зимовках, так и в сообществах летучих мышей в период летней активности (табл. 4).

Одной из особенностей изучаемых животных является сезонность их жизненного цикла, включающая приуроченность периода размножения

Таблица 4. Видовой состав и численность летучих мышей на территории Карелии [по: Belkin et al., 2017, с дополнениями]

Вид	Относительное обилие, % данного вида от общего числа учтенных летучих мышей		Встречаемость на зимовках, число мест находок в %	Относительная численность летом, экз./км маршрута
	на зимовках*	на летних маршрутах		
Северный кожанок	64,3	68,0	78,6	0,457
Водяная ночница	9,4	2,9	21,4	0,023
Бурый ушан	6,1	6,6	28,6	0,007
Ночница Брандта	8,9	0,5	28,6	0,002
Усатая ночница	3,8		21,4	
Прудовая ночница		1,4		0,007
Рыжая вечерница		16,2		0,031
Двухцветный кожан		4,1		0,025
Ночница Наттерера		0,3		0,003

Примечание. * В том числе ночницы условной группы Брандта/усатая и ближе не определенные (7,5 %).

к определенному времени года и связанные с этим изменения в ряде физиологических систем. На протяжении зимней спячки происходит постепенная подготовка организма, и в первую очередь половой системы, животных к размножению. Существует взаимосвязь между состоянием системы размножения и временем выхода животных из спячки [Ануфриев, 2008]. Европейские виды рукокрылых в естественных условиях спариваются как весной, так и осенью. Так, в Карелии из 20 осмотренных с октября по конец марта самок северного кожанка оказались покрытыми семь (35 %), а из шести самок бурого ушана – одна (16,7 %). Физиологической особенностью летучих мышей является временное торможение гестационной доминанты на самых ранних стадиях беременности, которое происходит в связи с необходимостью адаптивной перестройки организма самки к неблагоприятным условиям среды.

Витамин А необходим для нормального функционирования репродуктивной системы самок и самцов, играет важную роль в процессе эмбриогенеза. Хорошо известно, что дефицит витамина Е в организме вызывает нарушения функции размножения, поэтому достаточный уровень токоферола является существенным условием не только для перенесения летучими мышами зимней спячки, но и их благополучного размножения. Особенно это важно для самок, имеющих продолжительный латентный период беременности. Анализ индивидуальных данных показал, что концентрация ретинола и токоферола у летучих мышей имеет половые различия – у самок она выше, чем у самцов. Отметим, что при исследовании концентрации ретинола и токоферола в плазме плодоядных и всеядных видов летучих мышей

субэкваториальной зоны разницы между полами обнаружено не было [Müller et al., 2007].

В период своей активности летучие мыши обладают очень высоким уровнем потребления кислорода. Чем больше подвижность и выше уровень метаболизма, тем быстрее идут реакции окисления и накопления продуктов распада в тканях, которые инициируют активацию антиоксидантной системы. Снижение уровня метаболизма, наблюдаемое при гибернации, сопровождается замедлением дыхания, снижением частоты сердцебиения и значительным уменьшением потребления кислорода. Так, сердце активной летучей мыши способно сокращаться с частотой более 400 ударов в минуту, тогда как в состоянии спячки оно делает за то же время лишь 16 ударов [Калабухов, 1985]. Потребление кислорода в спячке у северного кожанка понижается в 25 раз [Ануфриев, 2008].

Генерация АФК, пониженная при гибернации, значительно увеличивается при периодических пробуждениях и сократительном термогенезе во время разогревания животных, так как параллельно с этим повышается уровень окислительного метаболизма. Саморазогревание летучих мышей до состояния активности требует значительных энергозатрат, когда за короткое время поднимается температура тела и увеличивается потребление кислорода. При увеличении потребления кислорода млекопитающими происходит усиление кислород-транспортной функции крови, а соответственно, и обеспечение органов и тканей кислородом, что приводит к активации всей антиоксидантной системы. Чем чаще летучая мышь за зиму просыпается, тем меньше становится количество жира, являющегося источником энергии во время спячки. Размножение

в весенний период часто начинается вскоре после окончания гибернации, поэтому сохранение энергетических резервов может дать репродуктивное преимущество [Speakman, Rowland, 1999]. Возможно, достаточно высокое содержание токоферола и ретинола, сохраняющееся у северного кожана к весне, может быть связано с тем, что общая продолжительность спячки и периодов оцепенения у них больше, чем у других видов [Ануфриев, Ревин, 2006], а длительность активного состояния, требующего больших энергетических затрат, меньше. Об этом же свидетельствует и то, что снижение массы тела у самок этого вида было одним из самых низких. В то же время довольно существенные запасы витаминов обнаружены весной и в тканях самок других видов, которые наиболее значительны были у ночницы Брандта.

Сохранению баланса антиоксидантов у летучих мышей может способствовать тот факт, что спячка, так же как и большая часть их активной жизни, проходит в темноте. Фотопериод значительно влияет на содержание в организме нейrogормона эпифиза мелатонина, синтез которого осуществляется в темное время суток. Эндогенный мелатонин является сильным антиоксидантом, препятствующим ускоренному старению организма, сопряженному с увеличением продуктов перекисного окисления липидов, и его уровень оказывает влияние на состояние антиоксидантной системы в целом, функционирование всех звеньев которой связано между собой [Меньщикова и др., 2006]. Мелатонин может способствовать снижению потребности в других антиоксидантах, которая значительно повышается при генерации АФК и интенсификации процессов ПОЛ при периодических пробуждениях во время разогревания животных, так как вместе с этим повышается уровень окислительного метаболизма.

Содержание и сохранение резервов ретинола и токоферола у летучих мышей является отражением видоспецифических черт. В температурной толерантности животных разных зон обитания имеются явные различия. Существует положительная корреляция между температурной устойчивостью вида и температурой среды обитания [Шмидт-Ниельсен, 1982; Boyles et al., 2007; Ильина, Баишникова, 2015]. Способность к оцепенению и накоплению перед этим жировых запасов – одно из существенных отличий летучих мышей зоны севера от видов тропического и экваториального поясов нашей планеты, которых относят к «примитивным» формам с несовершенной терморегуляцией [Кольтовер, 2009]. Виды, продвинувшиеся на север дальше других, являются и самыми

устойчивыми к холоду. У зимоспящих видов тем более выражена гипотермия, чем ниже температура окружающей среды. С продвижением в высокие широты северный кожана в сообществах рукокрылых все более преобладает на зимовках и в период летней активности [Белкин и др., 2015]. Как самки, так и самцы этого вида к концу зимы имели в тканях значительное содержание ретинола и токоферола. В то же время особи и других видов, перенесшие зимнюю спячку, обладали запасами витаминов в тканях. У всех видов следует отметить значительную вариабельность показателей, которую можно объяснить как видовыми, так и индивидуальными различиями по степени накопления витаминов. Концентрация ретинола и токоферола в плазме крови летучих мышей южных видов также имела высокую вариабельность, которую объясняют диетическими и видоспецифическими различиями [Müller et al., 2007; Filho et al., 2007].

Таким образом, способность летучих мышей к накоплению резервов и их сохранению длительный период в тканях следует, видимо, рассматривать как наследственно закрепленную реакцию организма животных, выработанную в процессе эволюции для выживания в условиях низких зимних температур и отсутствия корма. Установленный в тканях летучих мышей уровень витаминов Е и А отражает потребность их организма, обеспечивающую эффективное функционирование метаболических систем, поддерживающих оптимальный энергетический баланс в условиях гибернации и успешное воспроизводство вида в дальнейшем. Значительное снижение метаболизма гибернирующих летучих мышей позволяет сокращать затраты эндогенных энергоресурсов и является основным фактором выживания рукокрылых во время зимовки, положительный исход которой обеспечивается благодаря действию общих и специфических эколого-физиологических механизмов зимней спячки.

Финансовое обеспечение исследований осуществляется из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (темы №№ 0221-2014-0031 и 0221-2014-0037) и Программы Президиума РАН № 21 (тема 0221-2015-0004).

Литература

Ануфриев А. И., Ревин Ю. В. Биоэнергетика зимней спячки летучих мышей (Chiroptera, Vespertilionidae) в Якутии // Plecotus et al. 2006. № 9. С. 8–17.

Ануфриев А. И. Механизмы зимней спячки мелких млекопитающих Якутии. Новосибирск: СО РАН, 2008. 158 с.

- Астратенкова И. В., Рогозкин В. А. Молекулярные механизмы гипертрофии скелетных мышц // Рос. физиол. журнал. 2014. № 6. С. 649–669.
- Белкин В. В., Панченко Д. В., Тирронен К. Ф., Якимова А. Е., Федоров Ф. В. Экологический статус рукокрылых (Chiroptera) на зимовках в Восточной Финноскандии // Экология. 2015. № 5. С. 374–380.
- Белкин В. В., Илюха В. А., Симонов С. А., Хижкин Е. А. Условия зимовки и инструментальное изучение летучих мышей в искусственных пещерах Карелии // Материалы международного совещания «Териофауна России и сопредельных территорий» 1–5 февраля 2016 г. Москва, 2016. 38 с.
- Ильина Т. Н., Баишникова И. В. Видовые особенности содержания токоферола у хищных млекопитающих в осенний период // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 2015. Т. 51, № 1. С. 37–42.
- Калабухов Н. И. Влияние витаминов Е (токоферола) и С (аскорбиновой кислоты) на грызунов, впадающих в спячку // Бюл. Моск. об-ва испытателей природы, отд. биол. 1964. Т. 69, № 4. С. 15–29.
- Калабухов Н. И. Спячка млекопитающих. М.: Наука, 1985. С. 194–233.
- Коломийцева И. К. Липиды в гибернации и искусственном гипобиозе млекопитающих // Биохимия. 2011. Т. 76, № 12. С. 1604–1614.
- Колосова Н. Г., Колпаков А. Р., Панин Л. Е. Содержание токоферола и перекисное окисление липидов в тканях крыс Вистар в динамике адаптации к холоду // Вопр. мед. химии. 1995. Т. 41, № 6. С. 16–19.
- Кольтовер В. К. Теория надежности и старение: схоластическая реализация генетической программы // Пробл. старения и долголетия. 2009. Т. 18, № 1. С. 26–31.
- Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К., Бондарь И. А., Круговых Н. Ф., Труфакин В. А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
- Мосияш С. С. Летящие ночью. М.: Знание, 1985. 160 с.
- Орлов О. Д., Каминская Л. А., Мещанинов В. Н. Почему летучие мыши долго живут: предварительный анализ гипотез высокой продолжительности жизни рукокрылых // Научный диалог. 2012. № 2. С. 147–151.
- Попов И. Ю., Ковалев Д. Н. Обстоятельства долголетия летучих мышей (в связи с материалами исследований на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области) // Успехи геронтологии. 2010. Т. 23, № 2. С. 179–185.
- Скурихин В. Н., Двинская Л. М. Определение α-токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // С.-х. биология. 1989. № 4. С. 127–129.
- Слоним А. Д. Факторы, вызывающие спячку, засыпание и пробуждение // Экологическая физиология животных. Л.: Наука, 1979. Ч. 1. С. 183–187.
- Стрелков П. П., Ильин В. Ю. Рукокрылые (Chiroptera, Vespertilionidae) юга Среднего и Нижнего Поволжья // Фауна, систематика и эволюция млекопитающих. Рукокрылые, грызуны. Тр. Зоологического института. 1990. Т. 225. С. 42–167.
- Хританков А. М., Оводов Н. Д. О долгожительстве ночниц Брандта (*Myotis brandtii* Eversmann) в Средней Сибири // Plecotus et al. 2001. № 4. С. 20–24.
- Чаудхари Л. Р., Конь И. Я., Покровский А. А. Влияние недостаточности ретинола на активность фосфолипазы А и некоторых лизосомальных ферментов в семенниках крыс // Вопросы питания. 1977. № 3. С. 27–32.
- Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда. М.: Мир, 1982. Книга 1. 416 с.
- Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации / Под ред. Ю. Б. Белоусова. М.: Изд-во ОКИ, 2005. 156 с.
- Belkin V., Ilyukha V., Fyodorov F., Kurhinen Ju., Simonov S., Khizhkin E., Yakimova A., Morozov A., Antonova E. Experience of bats research in the north of European Russia // 9th International conference on biodiversity research. Book of Abstracts, Daugavpils, 2017. P. 27.
- Boyles J. G., Dunbar M. B., Storm J. J., Brack V. Jr. Energy availability influences microclimate selection of hibernating bats // The Journal of Experimental Biology. 2007. 210. P. 4345–4350.
- Brunet-Rossinni A. K., Austad S. N. Ageing studies on bats: a review // Biogerontology. 2004. No. 5. P. 211–222.
- Ilyukha V., Antonova E., Belkin V., Uzenbaeva L., Khizhkin E., Sergina S., Ilyina T., Baishnikova I., Kizhina A., Yakimova A. The eco-physiological status of hibernating bats (Chiroptera) in the north of the European distribution range // Acta Biol. Univ. Daugavp. 2015. Vol. 15, no. 1. P. 75–94.
- Filho D. W., Althoff S. L., Dafre A. L., Boveris A. Antioxidant defenses, longevity and ecophysiology of South American bats // Comparative Biochemistry and Physiology. 2007. Vol. 146. Part. C. P. 214–220.
- Fuster G., Busquets S., Almendro V., Lopez-Soriano F. J., Argiles J. M. Antiproteolytic effects of plasma from hibernating bears: a new approach for muscle wasting therapy? // Clin. Nutr. 2007. Vol. 26. P. 658–661.
- Müller K., Voigt C. C., Raila J., Hurtienne A., Vater M., Brunnberg L., Schweigert F. J. Concentration of carotenoids, retinol and α-tocopherol in plasma of six microchiroptera species // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B 147. 2007. P. 492–497.
- Ross A. C., Ambalavanan N., Zolfaghari R., Li N. Vitamin A combined with retinoic acid increases retinol uptake and lung retinyl esters formation in a synergistic manner in neonatal rats // J. Lipid Res. 2006. Vol. 47. P. 1844–1851.
- Russ J. M., Briffa M., Montgomery W. I. Seasonal patterns in activity and habitat use by bats (*Pipistrellus* spp. and *Nyctalus leisleri*) in Northern Ireland, determined using a driven transect // J. Zool. Lond. 2003. Vol. 259. P. 289–299.
- Seim I., Fang X., Xiong Z., Lobanov A. V., Huang Z. et al. Genome analysis reveals insights into physiology and longevity of the Brandt's bat *Myotis brandtii* // Nature Communications. 2013. P. 1–8. doi: 10.1038/ncomms3212
- Speakman J. R., Rowland A. Preparing for inactivity: how insectivorous bats deposit a fat store for hibernation // Proceedings of the Nutrition Society. 1999. Vol. 58. P. 123–131.

Поступила в редакцию 24.01.2017

References

- Anufriev A. I., Revin U. V. Bioenergetika zimney spiachki letuchikh mishey (Chiroptera, Vespertilionidae) v Yakutii [Bioenergetics of bats (Chiroptera, Vespertilionidae) hibernation in Yakutia]. *Plecotus et al.* 2006. No. 9. P. 8–17.
- Anufriev A. I. Mekhanizmy zimney spiachki melkikh mlekopitayushchikh Yakutii [Mechanisms of small mammals hibernation in Yakutia]. Novosibirsk: SB of RAS, 2008. 158 p.
- Astratenkova I. V., Rogozkin V. A. Molekuliarnye mekhanizmy gipertrofii skeletnykh mishts [Molecular mechanisms of skeletal muscles hypertrophy]. *Ross. fiziol. jurnal [Russian Journal of Physiology]*. 2014. No. 6. P. 649–669.
- Belkin V. V., Panchenko D. V., Tirronen K. F., Yakimova A. E., Fedorov V. F. Ekologicheskiy status rukokrylykh (Chiroptera) na zimovkakh v Vostochnoy Fennoskandii [Ecological status of bats (Chiroptera) at wintering grounds in Eastern Fennoscandia]. *Ekologiya [Ecology]*. 2015. No. 5. P. 374–380.
- Belkin V. V., Ilyukha V. A., Simonov S. A., Hizhkin E. A. Usloviya zimovki i instrumentalnoe izuchenie letuchikh myshei v iskusstvennykh peshcherakh Karelii [Wintering conditions and instrumental study of bats in artificial caves of Karelia]. Materialy Mezhdunarodnogo soveshchaniya "Teriofauna Rossii i sopredelnykh territoriy" (1–5 fevralia 2016, Moskva, 2016 g.) [Proceed. of the Int. Meeting *Teriofauna of Russia and Adjacent Territories* (Moscow, February 1–5, 2016)]. Moscow, 2016. 38 p.
- Chaudhary L. R., Kon' I. Ya., Pokrovsky A. A. Vliyaniye nedostatochnosti retinola na aktivnost' fosfolipazy A i nekotorykh lizosomal'nykh fermentov v semennikakh krysa [Effect of retinol deficiency on the activity of phospholipase A and some lysosomal enzymes in the testicles of rats]. *Voprosy pitaniya [Problems of Nutrition]*. 1977. No. 3. P. 27–32.
- Eticheskaya ekspertiza biomeditsinskikh issledovaniy. Prakticheskie rekomendatsii [An ethical examination of biomedical research. Practical guidelines]. Ed. Yu. B. Belousov. Moscow: Izd-vo OKI, 2005. 156 p.
- Ilyina T. N., Baishnikova I. V. Vidovye osobennosti sodержaniya tokoferola u khishchnykh mlekopitayushchikh v osenniy period [Trivial features of tocopherol content in predatory mammals in autumn]. *Jurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii [J. Evolutionary Biochemistry and Physiology]*. 2015. Vol. 51, no. 1. P. 37–42.
- Kalabukhov N. I. Vliyaniye vitaminov E (tokoferola) i S (askorbinovoi kisloty) na gryzunov, vpadayushchikh v spyachku [Effect of vitamins E (tocopherol) and C (ascorbic acid) on hibernating rodents]. *Bull. Mosk. obschestva ispytatelei prirody, otdelenie biologii [Bull. of Moscow Society of Nat., Dep. of Biology]*. 1964. Vol. 69, no. 4. P. 15–29.
- Kalabukhov N. I. Spyachka mlekopitayushchikh [Hibernation of mammals]. Moscow: Nauka, 1985. P. 194–233.
- Khritanov A. M., Ovodov N. D. O dolgozhitelstve nochnits Brandta (*Myotis brandtii* Eversmann) v Sredney Sibiri [On the longevity of the Brandt's bats (*Myotis brandtii* Eversmann) in Central Siberia]. *Plecotus et al.* 2001. No. 4. P. 20–24.
- Kolomiytseva I. K. Lipidy v gibernatsii i iskusstvennom gipobioze mlekopitayushchikh [Lipids in hibernation and artificial hypobiosis of mammals]. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2011. Vol. 76, no. 12. P. 1604–1614.
- Kolosova N. G., Kolpakov A. R., Panin L. E. Soderzhanie tokoferola i perekisnoe okislenie lipidov v tkanyakh krysa Vistar v dinamike adaptatsii k kholodu [The content of tocopherol and lipid peroxidation in tissues of the Wistar rats in the dynamics of adaptation to cold]. *Vopr. med. khimii [Problems of Medical Chem.]*. 1995. Vol. 41, no. 6. P. 16–19.
- Koltover V. K. Teoriya nadezhnosti i starenie: skhlasticheskaya realizatsiya geneticheskoi programmy [Reliability theory and aging: scholastic realization of the genetic program]. *Probl. stareniya i dolgoletiya [Probl. Aging and Longevity]*. 2009. Vol. 18, no. 1. P. 26–31.
- Men'shchikova E. B., Lankin V. Z., Zenkov N. K., Bondar' I. A., Krugovich N. F., Trufakin V. A. Okislitel'nyy stress. Prooksidanty i antioksidanty [Oxidative stress. Pro-oxidants and antioxidants]. Moscow: Slovo, 2006. 556 p.
- Mosiyash S. S. Letayushchie noch'yu [Flying at night]. Moscow: Znanie, 1985. 160 p.
- Orlov D. O., Kaminskaya L. A., Meshchaninov V. N. Pochemu letuchie myshi dolgo zhivut: predvaritel'nyy analiz gipotez vysokoy prodolzhitel'nosti zhizni rukokrylykh [Why do bats live long? Preliminary analysis of bats longevity hypotheses]. *Nauchnyi dialog [Scientific Dialogue]*. 2012. No. 2. P. 147–151.
- Popov I. Yu., Kovalev D. N. Obstoyatel'stva dolgozhitel'stva letuchikh myshei (v svyazi s materialami issledovaniy na territorii Sankt-Peterburga i Leningradskoi oblasti) [Circumstances of bats longevity (in view of the studies conducted on the territory of St. Petersburg and Leningrad Region)]. *Uspekhi gerontologii [Advances of Gerontology]*. 2010. Vol. 23, no. 2. P. 179–185.
- Skurikhin V. N., Dvinskaya M. L. Opredelenie α -tokoferola i retinola v plazme krovi sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh metodom mikrokolonochnoj vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii [Determination of α -tocopherol and retinol in farm animals plasma by micro-column high-performance liquid chromatography]. *Sel.-choz. biologiya [Agricultural Biology]*. 1989. No. 4. P. 127–129.
- Slonim A. D. Faktory, vyzyvayushchie spyachku, zasypanie i probuzhdenie [Factors causing hibernation, falling asleep and awakening]. *Ekologicheskaya fiziologiya zhivotnykh [Ecological Physiology of Animals]*. Leningrad: Nauka, 1979. Part. 1. P. 183–187.
- Strelkov P. P., Il'in V. Yu. Rukokrylye (Chiroptera, Vespertilionidae) yuga Srednego i Nizhnego Povolzh'ya [The bats (Chiroptera, Vespertilionidae) of the southern part of the Middle and Lower Volga Region]. *Fauna, sistematika i evolyutsiya mlekopitayushchikh. Rukokrylye, gryzuny. Tr. Zoologicheskogo instituta [Fauna, Systematics and Evolution of Mammals. Bats, Rodents. Proceed. of the Zoological Inst.]*. 1990. Vol. 225. P. 42–167.
- Schmidt-Nielsen K. Fiziologiya zhivothyh. Prispobleniye i sreda [Physiology of animals. Adaptation and environment]. Moscow: Mir, 1982. Book 1. 416 p.
- Belkin V., Ilyukha V., Fyodorov F., Kurhinen Ju., Simonov S., Khizhkin E., Yakimova A., Morozov A., Antonova E. Experience of bats research in the north of

European Russia. 9th International conference on biodiversity research. Book of Abstracts, Daugavpils, 2017. P. 27.

Boyles J. G., Dunbar M. B., Storm J. J., Brack V. Jr. Energy availability influences microclimate selection of hibernating bats. *The Journal of Experimental Biology*. 2007. 210. P. 4345–4350.

Brunet-Rossinni A. K., Austad S. N. Ageing studies on bats: a review. *Biogerontology*. 2004. No. 5. P. 211–222.

Ilyukha V., Antonova E., Belkin V., Uzenbaeva L., Khizhkin E., Sergina S., Ilyina T., Baishnikova I., Kizhina A., Yakimova A. The eco-physiological status of hibernating bats (Chiroptera) in the north of the European distribution range. *Acta Biol. Univ. Daugavp.* 2015. Vol. 15, no. 1. P. 75–94.

Filho D. W., Althoff S. L., Dafre A. L., Boveris A. Antioxidant defenses, longevity and ecophysiology of South American bats. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2007. Vol. 146. Part. C. P. 214–220.

Fuster G., Busquets S., Almendro V., Lopez-Soriano F. J., Argiles J. M. Antiproteolytic effects of plasma from hibernating bears: a new approach for muscle wasting therapy? *Clin. Nutr.* 2007. Vol. 26. P. 658–661.

Müller K., Voigt C. C., Raila J., Hurtienne A., Vater M., Brunnberg L., Schweigert F. J. Concentration of carotenoids, retinol and α -tocopherol in plasma of six microchiroptera species. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2007. Part. B. 147. P. 492–497.

Ross A. C., Ambalavanan N., Zolfaghari R., Li N. Vitamin A combined with retinoic acid increases retinol uptake and lung retinyl esters formation in a synergistic manner in neonatal rats. *J. Lipid Res.* 2006. Vol. 47. P. 1844–1851.

Russ J. M., Briffa M., Montgomery W. I. Seasonal patterns in activity and habitat use by bats (*Pipistrellus* spp. and *Nyctalus leisleri*) in Northern Ireland, determined using a driven transect. *J. Zool. Lond.* 2003. Vol. 259. P. 289–299.

Seim I., Fang X., Xiong Z., Lobanov A. V., Huang Z. et al. Genome analysis reveals insights into physiology and longevity of the Brandt's bat *Myotis brandtii*. *Nature Communications*. 2013. P. 1–8. doi: 10.1038/ncomms3212

Speakman J. R., Rowland A. Preparing for inactivity: how insectivorous bats deposit a fat store for hibernation. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1999. Vol. 58. P. 123–131.

Received January 24, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ильина Татьяна Николаевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: ilyina@bio.krc.karelia.ru
тел.: (8142) 573107

Баишникова Ирина Валерьевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: iravbai@mail.ru
тел.: (8142) 573107

Белкин Владимир Васильевич

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: ffyodor@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 573140

Якимова Алина Евгеньевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: angelina73@mail.ru
тел.: (8142) 573140

CONTRIBUTORS:

Ilyina, Tatiana

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: ilyina@bio.krc.karelia.ru
tel.: (8142) 573107

Baishnikova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: iravbai@mail.ru
tel.: (8142) 573107

Belkin, Vladimir

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: ffyodor@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 573140

Yakimova, Alina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: angelina73@mail.ru
tel.: (8142) 573140

УДК 581.1

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И ЭКСПРЕССИИ КОДИРУЮЩИХ ЕЕ ГЕНОВ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ

Н. С. Репкина¹, А. А. Игнатенко¹, К. М. Панфилова²,
А. Ф. Титов¹, В. В. Таланова¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Петрозаводский государственный университет

Исследовано влияние низкой закаливающей температуры (4 °С) на динамику активности фермента супероксиддисмутазы (СОД) и накопление транскриптов кодирующих ее генов – *FeSOD* и *MnSOD* – в листьях семидневных проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Показано, что уже через 1 ч от начала действия закаливающей температуры 4 °С происходит достоверное увеличение холодоустойчивости проростков пшеницы, которая затем продолжает монотонно возрастать, достигая максимума на 7-е сутки эксперимента. Процесс холодовой адаптации проростков пшеницы сопровождался повышением активности СОД в листьях, фиксируемым уже через 1 ч от ее начала. С увеличением продолжительности холодового воздействия наблюдалось дальнейшее повышение активности СОД, которая достигала максимума на 7-е сутки эксперимента. Помимо этого установлено, что увеличение общей активности СОД сопровождается накоплением транскриптов генов *FeSOD* и *MnSOD* в листьях проростков. Причем повышение содержания мРНК гена *FeSOD* происходило значительно раньше (через 1 ч от начала воздействия низкой температуры 4 °С), чем гена *MnSOD* (через 1 сутки), и в течение всего периода холодового воздействия уровень содержания мРНК гена *FeSOD* был выше, чем гена *MnSOD*. На основании совокупности полученных данных сделан вывод о том, что возрастание активности СОД и усиление экспрессии генов *FeSOD* и *MnSOD* в условиях действия низкой закаливающей температуры обеспечивает эффективную нейтрализацию супероксид-радикала и является важным элементом процесса адаптации растений озимой пшеницы к холоду.

Ключевые слова: низкая температура; пшеница; экспрессия генов *FeSOD* и *MnSOD*; активность супероксиддисмутазы; устойчивость.

N. S. Repkina, A. A. Ignatenko, K. M. Panfilova, A. F. Titov, V. V. Talanova. THE DYNAMICS OF SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY AND ITS GENE EXPRESSION IN WHEAT LEAVES DURING COLD ADAPTATION

The effect of low hardening temperature (4 °C) on the dynamics of the enzyme superoxide dismutase (SOD) activity and the transcript accumulation of its encoding genes – *FeSOD* and *MnSOD* – in the leaves of 7-day-old seedlings of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) variety Moscovskaya 39 was investigated. It was shown that already in 1 hour from the beginning of the treatment, the hardening temperature of 4 °C causes a significant increase in cold tolerance of the seedlings, which then continues to increase monotonically,

reaching a peak on the 7th day of the experiment. The process of cold adaptation in wheat seedlings was accompanied by an increase in SOD activity in wheat leaves, observed as soon as 1 hour after the beginning of the treatment. As the cold exposure continued, there was a further increase in SOD activity, which peaked on the 7th day of the experiment. In addition, it was determined that the increase in total SOD activity was accompanied by the accumulation of *FeSOD* and *MnSOD* gene transcripts in the seedlings' leaves. The level of *FeSOD* gene mRNA rose significantly earlier (1 hour from the start of exposure to a temperature of 4 °C) than *MnSOD* gene mRNA (after 1 day), and *FeSOD* mRNA level remained higher than *MnSOD* mRNA level throughout the period of cold exposure. Based on our results, we can conclude that the increase of SOD activity and upregulation of *MnSOD* and *FeSOD* genes under low hardening temperature enable effective neutralization of superoxide radicals and represent an important element in the process of cold adaptation in winter wheat plants.

Key words: low temperature; wheat; *FeSOD* and *MnSOD* gene expression; superoxide dismutase activity; tolerance.

Введение

Воздействие на растения неблагоприятных факторов среды, в том числе низких температур, активизирует в их клетках образование активных форм кислорода (АФК) [Колупаев, Карпец, 2010], что может приводить к нарушению структуры макромолекул (белков, нуклеиновых кислот, липидов и др.) и развитию окислительного стресса [Pal et al., 2013; Baxter et al., 2014]. В этой ситуации одной из первых защитных реакций растений, направленных на нейтрализацию АФК и предотвращение окислительного стресса, является активизация антиоксидантной системы [Demidchik, 2015], связанная, в частности, с усилением генерации ряда высоко- и низкомолекулярных протекторных соединений [Szöllösi, 2014]. Среди них особую важную роль в защите растений от окислительного стресса играют антиоксидантные ферменты, к которым относится супероксиддисмутаза (СОД) [Pal et al., 2013]. Данный фермент катализирует реакцию дисмутации супероксидных радикалов [Бараненко, 2006]. В зависимости от металла (марганец, железо, медь/цинк), расположенного в активном центре фермента, различают три типа СОД: Mn-СОД, Fe-СОД и Cu/Zn-СОД [Bowler et al., 1994]. Mn-СОД обнаружена в митохондриях и пероксисомах, Fe-СОД и Cu/Zn-СОД представлены практически во всех компартментах клетки (цитозоле, хлоропластах, митохондриях, пероксисомах) [Szöllösi, 2014]. Одной из особенностей СОД растений является наличие множественных молекулярных форм (изоферментов), количество которых видоспецифично [Бараненко, 2006]. Ядерные гены, кодирующие СОД, высококонсервативны и малокопийны [Scandalios, 1990].

Исследования последних лет показали, что активность СОД у растений повышается

в неблагоприятных условиях: при дефиците воды [Zhang et al., 2007; Sánchez-Rodríguez et al., 2016], засолении [Mandhania et al., 2006; Yan et al., 2016], УФ-облучении [Tang et al., 2010; Inostroza-Blancheteau et al., 2016], действии тяжелых металлов [Goswami, Das, 2016], высоких [Asthir et al., 2012; Chen et al., 2014] и низких температурах [Szöllösi, 2014] и др. Вместе с тем имеются данные и о снижении активности СОД под влиянием таких стрессоров, как тяжелые металлы [Dandan et al., 2011], низкие температуры [Lado et al., 2016], засоление [Oufdou et al., 2014]. Это свидетельствует о неоднозначности ответной реакции СОД на разные стрессовые воздействия, которая, видимо, может различаться в зависимости от их типа, интенсивности и продолжительности, а также от биологических особенностей объекта. Что касается экспрессии генов СОД у растений в стрессовых условиях, то имеющиеся на этот счет сведения весьма немногочисленны и также противоречивы [Baek, Skinner, 2006; Gao et al., 2009; Airaki et al., 2012].

Учитывая вышеизложенное, целью данной работы явилось исследование динамики активности СОД и экспрессии кодирующих ее генов – *FeSOD* и *MnSOD* – в листьях проростков озимой пшеницы в процессе их холодной адаптации.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Их выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе (рН 6,2–6,4) с добавлением микроэлементов в климатической камере при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности около

Таблица 1. Праймеры для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Прямой и обратный праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5'... 3'	Номер доступа в базе данных NCBI
<i>Actin</i>	прямой обратный	GGGACCTCACGGATAATCTAATG AACCTCCACTGAGAACAACATTAC	AJ579382
<i>FeSOD</i>	прямой обратный	GGGTCTGGTTGGGTTTG TCGCCTGTCACTCCTTGTAAATC	JX398977
<i>MnSOD</i>	прямой обратный	ACATAACTGTAAGTCCACG TTGCTCATTTCCCAT	AY963808

10 клк и 14-часовом фотопериоде. По достижении недельного возраста проростки пшеницы подвергали действию низкой закаливающей температуры (4 °С) в течение 7 сут, сохраняя прочие условия неизменными.

Устойчивость растений к действию низких температур оценивали по реакции клеток высечек из листьев на 5-минутное тестирующее промораживание в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/–20 («Интерм», Россия) при последовательном изменении температуры с интервалом 0,4 °С [Балагурова и др., 1982]. В качестве критерия устойчивости использовали температуру гибели 50 % паренхимных клеток (LT_{50}), определяемую по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Активность супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия [Beauchamp, Fridovich, 1971]. Содержание белка анализировали методом Бредфорда [Bradford, 1976].

Накопление транскриптов генов *FeSOD* и *MnSOD* анализировали методом ПЦР в режиме реального времени. Для этого навеску листьев пшеницы (50 мг) растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора ExtractRNA («Евроген», Россия). Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали ДНКазой (10 ед/мл) («Синтол», Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами («Евроген», Россия) (табл. 1). Количество и качество выделенной РНК и синтезированной кДНК проверяли спектрофотометрически (SmartSpecPlus, «Био-Рад»). Амплификацию образцов проводили в приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 («Био-Рад»), используя наборы для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green («Евроген», Россия). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 1 мкл кДНК (100 нг), 10 мкл реакционной смеси, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (10 мкМ) (табл. 1), 1 мкл MgCl₂

и 17 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. В качестве референсного гена использовали актин. Протокол ПЦР: 5 мин при 95 °С, далее 45 циклов 15 с при 95 °С, 30 с при 56 °С. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов: 1 мин при 95 °С, 1 мин при 50 °С, 10 с при 60 °С (80 циклов, повышая в каждом цикле температуру на 0,5 °С). Накопление транскриптов генов вычисляли по формуле:

$$\text{Накопление транскриптов гена} = \frac{2^{-Ct}}{2^{-Ct(\text{контрольный}) - Ct(\text{тестовый образец})}}$$

где Ct – значения пороговых циклов.

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых воздействию низкой температуры.

Повторность при определении холодоустойчивости проростков в пределах одного варианта опыта 6-кратная, при анализе активности СОД и проведении ПЦР-анализа – 3-кратная. На рисунках приведены средние арифметические значения из нескольких независимых опытов и их стандартные отклонения. Расчет коэффициентов корреляции для малых выборок проводили общепринятым методом [Зайцев, 1984]. В статье обсуждаются величины, достоверные при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП ИО ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты

В ходе исследований установлено, что уже через 1 ч от начала действия низкой закаливающей температуры (4 °С) холодоустойчивость листьев проростков пшеницы достоверно увеличивается, затем она продолжает монотонно возрастать и достигает максимума на 7-е сут (рис. 1).

Действие температуры 4 °С вызывало повышение активности фермента СОД в листьях проростков (рис. 2). В частности, уже через

1 ч от начала охлаждения проростков отмечено достоверное увеличение активности СОД, которая в дальнейшем в ходе адаптации постепенно повышалась, достигая максимума на 7-е сутки. При этом коэффициент корреляции между активностью СОД и холодоустойчивостью проростков оказался довольно высоким и составил +0,88 (табл. 2).

Уже через 1 ч от начала действия температуры 4 °С в листьях проростков происходит повышение уровня мРНК гена *FeSOD* (рис. 3). С увеличением продолжительности холодового воздействия накопление транскриптов гена *FeSOD* усиливалось, несколько замедляясь на третьи сутки эксперимента, но и в этом случае уровень экспрессии данного гена оставался высоким. Наибольшее содержание мРНК гена *FeSOD* отмечено на 5–7-е сутки опыта. Накопление мРНК гена *MnSOD* в листьях проростков начиналось значительно позже, чем

Таблица 2. Коэффициенты корреляции* между холодоустойчивостью, активностью СОД и содержанием транскриптов ее генов у проростков пшеницы, подвергнутых действию температуры 4 °С

Показатель и его порядковый номер	1	2	3	4
1. Холодоустойчивость	1	0,88	0,85	0,75
2. Активность СОД		1	0,89	0,88
3. Экспрессия <i>FeSOD</i>			1	0,84
4. Экспрессия <i>MnSOD</i>				1

Примечание. *Все представленные в таблице коэффициенты корреляции достоверны при $p < 0,05$.

FeSOD, – через одни сутки от начала действия температуры 4 °С. Дальнейшее повышение уровня относительной экспрессии гена *MnSOD* происходило в течение 5–7 суток эксперимента. Отметим, что в течение всего периода холодового воздействия содержание транскриптов гена *MnSOD* в листьях было существенно ниже,

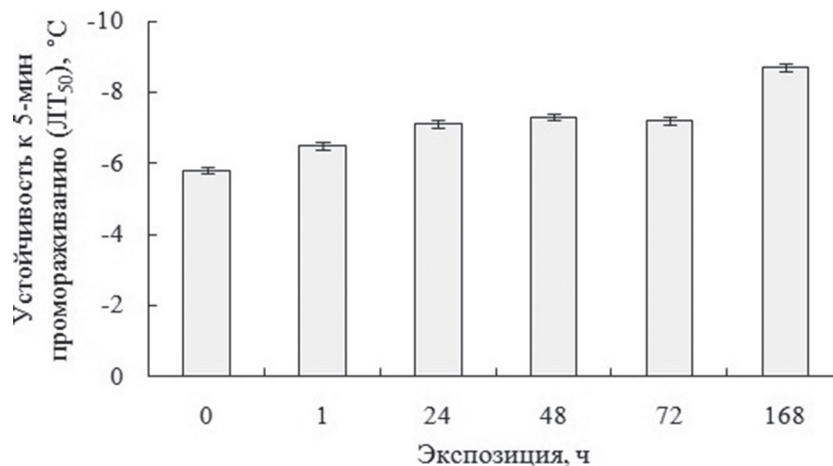


Рис. 1. Влияние температуры 4 °С на холодоустойчивость проростков пшеницы

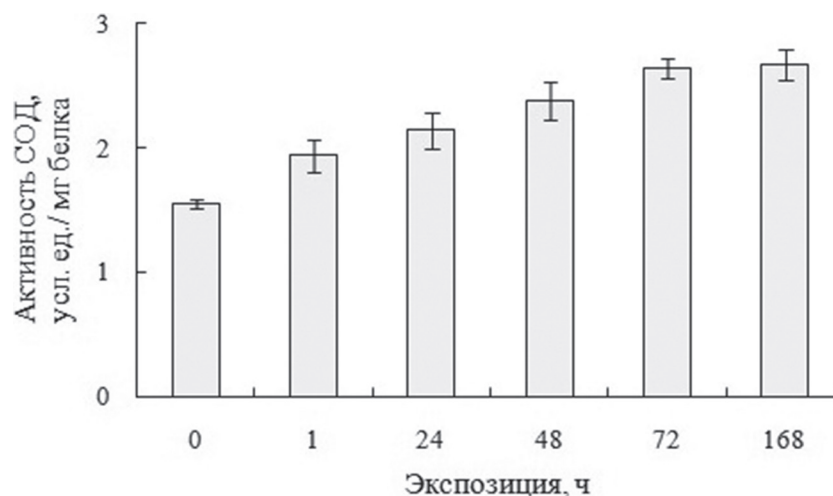


Рис. 2. Влияние температуры 4 °С на активность СОД в листьях проростков пшеницы

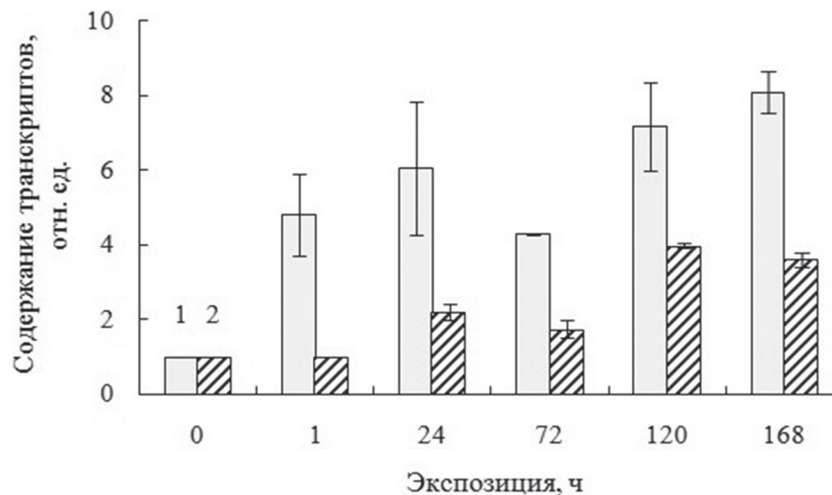


Рис. 3. Влияние температуры 4°C на содержание транскриптов генов *FeSOD* (1) и *MnSOD* (2) в листьях проростков пшеницы

чем мРНК гена *FeSOD* (рис. 3). Коэффициенты корреляции между содержанием транскриптов генов *FeSOD* и *MnSOD* в листьях и активностью СОД, а также холодоустойчивостью проростков были довольно высокими (табл. 2).

Обсуждение

Известно, что в защите клеток растений от АФК важную роль играют антиоксидантные ферменты [Pal et al., 2013]. Причем «первую линию защиты» обеспечивает фермент СОД, так как в отличие от других антиоксидантных ферментов именно он способен преобразовывать супероксид-радикалы с образованием молекулярного кислорода и перекиси водорода [Perry et al., 2010; Zeinali et al., 2015].

В наших исследованиях показано, что воздействие низкой закалывающей температуры (4 °С) приводит к быстрому повышению активности СОД, которое зафиксировано уже через 1 ч от его начала. В дальнейшем на протяжении всего периода холодовой адаптации проростков активность СОД сохранялась на повышенном уровне, а между активностью СОД и уровнем холодоустойчивости выявлена высокая положительная корреляция ($r = +0,88$). Это указывает на участие СОД в процессах формирования повышенной устойчивости растений пшеницы к низким температурам.

Полученные нами данные об изменении активности СОД в целом согласуются с результатами других авторов. В частности, повышение активности СОД при гипотермии отмечено не только у пшеницы [Li et al., 2014], но и у огурца [Yang et al., 2011], картофеля [Нарайкина и др., 2014] и нута [Kazemi-Shahandashti, 2014]. Однако не всегда воздействие низких температур

вызывало однотипные изменения активности СОД. По-видимому, снижение или повышение активности СОД связано с интенсивностью и продолжительностью низкотемпературного воздействия, а также с разной реакцией теплолюбивых и холодостойких растений на действие холода. Например, у теплолюбивых растений, в частности у огурца, зафиксировано снижение активности СОД при кратковременном действии температуры 2,5 °С [Kang, Saltvelt, 2001]. У холодостойкого арабидопсиса активность СОД немного повышалась на третьи сутки действия температуры 2 °С, но затем снижалась [Синькевич и др., 2016]. У озимой пшеницы сорта Московская 39 активность СОД заметно уменьшалась при кратковременном действии (2–6 ч) температуры –9 °С [Загоскина и др., 2011]. Поскольку авторы последней работы не приводят данных об изменении устойчивости растений, то нельзя исключить, что в этом случае происходило их повреждение, как это было показано нами ранее при действии более 5 ч температуры –2 °С [Топчиева и др., 2015].

Очевидно, что в начальный период действия низкой температуры у пшеницы происходит повышение активности уже существующих в клетках молекул фермента СОД. Это соответствует представлениям о так называемой «модуляционной» стратегии биохимической адаптации, которая связана с регуляцией ферментативной активности, не зависящей от синтеза фермента *de novo*, и которая в первую очередь определяется наличием субстрата и кофакторов, а также их взаимодействием с модуляторами (метаболитами) [Хочачка, Сомеро, 1977]. В наших опытах при холодовом воздействии быстрое повышение активности СОД, очевидно,

являлось непосредственным ответом на усиление продукции супероксид-радикала, которое зафиксировано нами ранее у растений пшеницы в аналогичных условиях уже через 0,5–1 ч от его начала [Фенько и др., 2015].

С другой стороны, продолжающееся воздействие холода, по-видимому, достаточно быстро приводит к ситуации, когда имеющийся в норме пул молекул фермента оказывается израсходованным и требуется его восполнение за счет усиления его синтеза. В пользу этого говорит обнаруженная нами высокая корреляция между активностью СОД и уровнем экспрессии кодирующих ее генов (*FeSOD* и *MnSOD*). Неслучайно наибольшее содержание транскриптов этих генов отмечено на 7-е сутки, когда зафиксированы максимальная активность СОД и максимальная холодоустойчивость и одновременно с этим происходит снижение содержания супероксид-радикала [Фенько и др., 2015].

В нашей работе показано, что уровень содержания транскриптов гена *FeSOD* был большим, чем *MnSOD*. Возможно, вклад кодируемых этими генами изоформ фермента в общую активность СОД неодинаков. Учитывая, что Fe-SOD преимущественно локализован в хлоропластах, большее накопление транскриптов *FeSOD* может быть связано с необходимостью активизации данного изофермента для обеспечения защиты хлоропластов и одного из важнейших и наиболее холодоустойчивых процессов – фотосинтеза. Однако для подтверждения этого предположения необходимы дальнейшие исследования, в частности изучение динамики активности конкретных изоформ СОД.

Заключение

Исследование влияния низкой закалывающей температуры (4 °С) на проростки озимой пшеницы показало, что рост их холодоустойчивости сопровождается повышением активности СОД и накоплением мРНК генов *FeSOD* и *MnSOD* в листьях, свидетельствующими об активном участии данного фермента и кодирующих его генов в процессе холодовой адаптации. Учитывая, что динамика накопления транскриптов этих генов имела сходный характер, но их содержание различалось количественно, можно предполагать, что разные изоформы СОД вносят неодинаковый вклад в общую активность фермента. Совокупность полученных данных и анализ литературы позволяет заключить, что активизация СОД является одним из важных элементов успешной адаптации растений пшеницы к действию холода, так как

обеспечивает своевременную нейтрализацию супероксид-радикала и тем самым способствует повышению холодоустойчивости растений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0032).

Литература

Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1982. 6 с.

Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48, № 6. С. 465–474.

Загоскина Н. В., Олениченко Н. А., Назаренко Л. В. Влияние кратковременного действия гипотермии на активность антиоксидантных ферментов и содержание фенольных соединений в листьях проростков яровой и озимой пшеницы // Вест. Харьк. нац. аграр. универ. 2011. Вып. 3, № 24. С. 25–34.

Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев: Основа, 2010. 352 с.

Нарайкина Н. В., Синькевич М. С., Демин И. Н., Селиванов А. А., Мошков И. Е., Трунова Т. И. Изменения активности изоформ супероксиддисмутазы у растений картофеля дикого типа и трансформированных геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы при низкотемпературной адаптации // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 3. С. 359–366. doi: 10.7868/S0015330314030099

Синькевич М. С., Селиванов А. А., Антипина О. В., Кропочева Е. В., Алиева Г. П., Суворова Т. А., Астахова Н. В., Мошков И. Е. Активность антиоксидантных ферментов у растений *Arabidopsis thaliana* при закаливании к гипотермии // Физиология растений. 2016. Т. 63, № 6. С. 777–782. doi: 10.7868/S0015330316060105

Топчиева Л. В., Таланова В. В., Титов А. Ф., Нилова И. А., Репкина Н. С., Венжик Ю. В. Влияние низких и высоких закалывающих и повреждающих температур на уровень транскриптов гена *BI-1* у пшеницы // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 12. С. 45–54. doi: 10.17076/eb236

Фенько А. А., Репкина Н. С., Нилова И. А., Таланова В. В. Влияние низких температур на содержание низкомолекулярных антиоксидантов у различающихся по холодоустойчивости растений // Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий: тезисы докладов всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых VIII съезда Общества физиологов растений России (Петрозаводск, 21–26 сент. 2015 г.). Петрозаводск, 2015. 554 с.

Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. 400 с.

- Airaki M., Leterrier M., Mateos R. M., Valderama R., Chaki M., Barroso J. B., Del Río L. A., Palma J. M., Corpas F. J. Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Cap-sicum annuum* L.) plants under low temperature stress // *Plant Cell Environ.* 2012. Vol. 35. P. 281–295. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02310.x
- Asthir B., Koundal A., Bains N. S. Putrescine modulates antioxidant defense response in wheat under high temperature stress // *Biol. Plant.* 2012. Vol. 56. P. 757–761. doi: 10.1007/s10535-012-0209-1
- Baek K.-H., Skinner D. Z. Differential expression of manganese superoxide dismutase sequence variants in near isogenic lines of wheat during cold acclimation // *Plant Cell Rep.* 2006. Vol. 25. P. 223–230. doi: 10.1007/s00299-005-0073-6
- Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1229–1240. doi: 10.1093/jxb/ert375
- Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 44. P. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8
- Bowler C., Van Camp W., Van Montagu M., Inze D. Superoxide dismutase in plants // *Critical Rev. Plant Sci.* 1994. Vol. 13. P. 199–218.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.
- Chen W.-L., Yang W.-J., Lo H.-F., Yeh D.-M. Physiology, anatomy, and cell membrane thermostability selection of leafy radish (*Raphanus sativus* var. *oleiformis* Pers.) with different tolerance under heat stress // *Sci-ent. Hortic.* 2014. Vol. 179. P. 367–375. doi: 10.1016/j.scienta.2014.10.003
- Dandan L., Dongmei Z., Peng W., Nanyan W., Xiangdong Z. Subcellular Cd distribution and its correlation with antioxidant enzymatic activities in wheat (*Triticum aestivum*) roots // *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2011. Vol. 74. P. 874–881. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.12.006
- Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology // *Envir. Exp. Bot.* 2015. Vol. 109. P. 212–228. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021
- Gao J.-J., Li T., Yu X.-C. Gene expression and activities of SOD in cucumber seedlings were related with concentrations of Mn²⁺, Cu²⁺, or Zn²⁺ under low temperature stress // *Agric. Sci. China.* 2009. Vol. 8. P. 678–684.
- Goswami S., Das S. Copper phytoremediation potential of *Calandula officinalis* L. and the role of antioxidant enzymes in metal tolerance // *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2016. Vol. 126. P. 211–218. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.030
- Inostroza-Blancheteau C., Acevedo P., Loyola R., Arce-Johnson P., Alberdi M., Reyes-Díaz M. Short-term UV-B radiation affects photosynthetic performance and antioxidant gene expression in highbush blueberry leaves // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 107. P. 301–309. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.06.019
- Kang H.-M., Saltveit M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles // *Physiol. Plant.* 2001. Vol. 113. P. 548–556.
- Kazemi-Shahandashti S.-S., Maali-Amiri R., Zehinali H., Khazaei M., Talei A., Ramezanpour S. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings // *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171. P. 1106–1116. doi: 10.1016/j.plph.2014.03.020
- Lado J., Rodrigo M. J., López-Climment M., Gómez-Cadenas A., Zacarías L. Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit // *Posthar. Biol. Technol.* 2016. Vol. 111. P. 214–223. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.013
- Li X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Jiang D. Cold priming drives the sub-cellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low temperature stress in winter wheat // *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 82. P. 34–43. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.05.005
- Mandhanía S., Madan S., Sawhney V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings // *Biol. Plant.* 2006. Vol. 50. P. 227–231.
- Oufdou K., Benidire L., Lyubenova L., Daoui K., Fatemi Z. E. A., Schröder K. Enzymes of glutathione-ascorbate cycle in leaves and roots of rhizobia-inoculated faba bean plants (*Vicia faba* L.) under salinity stress // *Europ. J. Soil Biol.* 2014. Vol. 60. P. 98–103. doi: 10.1016/j.ejsobi.2013.11.002
- Pal R. S., Agrawal P., Bhatt J. C. Molecular approach towards the understanding of defensive systems against oxidative stress on plant: A critical review // *J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013. Vol. 22. P. 131–138.
- Perry J. J. P., Shin D. S., Getzoff E. D., Tainer J. A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases // *Biochem. Biophys. Acta.* 2010. Vol. 1804. P. 245–262. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.11.004
- Sánchez-Rodríguez E., Romero L., Ruiz J. M. Accumulation of free polyamines enhances the antioxidant response in fruits of grafted tomato plants under water stress // *J. Plant Physiol.* 2016. Vol. 190. P. 72–78. doi: 10.1016/j.plph.2015.10.010
- Scandalios J. G. Genomic responses to environmental stress. Ed. J. G. Scandalios. The United Kingdom. Academic Press Inc, 1990. P. 1–297.
- Szőllősi R. Superoxide Dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: an overview. Ed. P. Ahmad. The Netherlands. Springer, 2014. P. 89–129. doi: 10.1016/B978-0-12-799963-0.00003-4
- Tang K., Zhan J.-C., Yang H.-R., Huang W.-D. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings // *J. Plant Physiol.* 2010. Vol. 167. P. 95–102. doi: 10.1016/j.jplph.2009.07.011
- Yan H., Li Q., Park S.-C., Wang X., Liu Y.-J., Zhang Y.-G., Tang W., Kou M., Ma D. Overexpression of *CuZnSOD* and *APX* enhance salt stress tolerance in sweet potato // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 109. P. 20–27. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.003
- Yang H., Wu F., Cheng J. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and antioxidant response // *Food Chem.* 2011. Vol. 127. P. 1237–1242.

Zeinali F., Homaei A., Kamrani E. Sources of marine superoxide dismutases: Characteristics and applications // Intern. J. Biol. Macromol. 2015. Vol. 79. P. 627–637. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.053

Zhang M., Duan L., Tian X., He Z., Li J., Wang B., Li Z. Uniconazole-induced tolerance of soybean to

water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system // J. Plant. Physiol. 2007. Vol. 164. P. 709–717. doi: 10.1016/j.jplph.2006.04.008

Поступила в редакцию 23.01.2017

References

Balagurova N. I., Drozdov S. N., Hilkov N. I. Metod opredelenija ustojchivosti rastitel'nyh tkanej k promorazhivaniju [Method for determination of plant tissues resistance to freezing]. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1982. 6 p.

Baranenko V. V. Superoksiddismutaza v kletkah rastenij [Superoxide dismutase in plants cells]. *Citologija* [Cell and Tissue Biology]. 2006. Vol. 48, no. 6. P. 465–474.

Fen'ko A. A., Repkina N. S., Nilova I. A., Talanova V. V. Vlijanie nizkikh temperatur na sodержanie nizkomolekuljarnyh antioksidantov u razlichajushchisja po holodoustojchivosti rastenij [Low temperature impact on low-molecular antioxidants content in plants of different cold tolerance]. Rastenija v uslovijah global'nyh i lokal'nyh prirodno-klimaticeskikh i antropogennyh vozdeystvij: tezisy dokladov vserossijskoj nauchnoj konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem i shkoly molodykh uchenykh VIII siezda Obshchestva fiziologov rastenij Rossii (Petrozavodsk, 21–26 sent. 2015 g.) [Plants under Global and Local Natural and Climatic, and Human Impact: Abstracts of All-Russian Scientific Conf. with Int. Participation and School of Young Scientists. VIII Congress of Physiologists of Russia (Petrozavodsk, September 21–26, 2015)]. Petrozavodsk, 2015. 554 p.

Hochachka P., Somero Dzh. Strategija biokhimičeskoj adaptatsii [Strategy of biochemical adaptation]. Moscow: Mir, 1977. 400 p.

Kolupaev Ju. E., Karpec Ju. V. Formirovanie adaptivnyh reaktsij rastenij na dejstvie abiotičeskikh stressorov [Formation of plants adaptive reactions to abiotic stress factors]. Kiev: Osnova, 2010. 352 p.

Narajkina N. V., Sin'kevich M. S., Demin I. N., Selivanov A. A., Moshkov I. E., Trunova T. I. Izmene-nija aktivnosti izoform superoksiddismutazy u rastenij kartofelja dikogo tipa i transformirovannykh genom $\Delta 12$ -acil-lipidnoj desaturazy pri nizkotemperaturnoj adaptatsii [Changes in the activity of superoxide dismutase isoforms in wild-type potato plants and the ones transformed with $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase gene in the course of low-temperature adaptation]. *Fiziologija rastenij* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2014. Vol. 61, no. 3. P. 359–366. doi: 10.7868/S0015330314030099

Sin'kevich M. S., Selivanov A. A., Antipina O. V., Kropocheva E. V., Alieva G. P., Suvorova T. A., Astahova N. V., Moshkov I. E. Aktivnost' antioksidantnykh fermentov u rastenij *Arabidopsis thaliana* pri zakalivanii k gipotermii [Activity of antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana* plants during cold hardening to hypothermia]. *Fiziologija rastenij* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2016. Vol. 63, no. 6. P. 777–782. doi: 10.7868/S0015330316060105

Topchieva L. V., Talanova V. V., Titov A. F., Nilova I. A., Repkina N. S., Venzhik Ju. V. Vlijanie nizkikh i vysokikh zakalivajushchikh i povrezhdajushchikh temperatur na uroven' transkriptov gena *BI-1* u pshenitsy [Effect of low and high hardening and damaging temperatures on the transcription level of *BI-1* gene in the wheat]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. of KarRC of RAS]. 2015. No. 12. P. 45–54. doi: 10.17076/eb236

Zagoskina N. V., Olenichenko N. A., Nazarenko L. V. Vlijanie kratkovremennogo dejstvija gipotermii na aktivnost' antioksidantnykh fermentov i sodержanie fenol'nykh soedinenij v list'jakh prorostkov jarovoj i ozimoj pshenitsy [Impact of short-term hypothermia on antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in the leaves of spring and winter wheat germs]. *Vest. Har'k. nats. agrar. univer* [Bull. of the Kharkiv Nat. Agr. Univ.]. 2011. Iss. 3, no. 24. P. 25–34.

Zajcev G. N. Matematičeskaja statistika v jeksperimental'noj botanike [Mathematical statistics in experimental botany]. Moscow: Nauka, 1984. 424 p.

Airaki M., Leterrier M., Mateos R. M., Valderama R., Chaki M., Barroso J. B., Del Río L. A., Palma J. M., Corpas F. J. Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under low temperature stress. *Plant Cell Environ.* 2012. Vol. 35. P. 281–295. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02310.x

Asthir B., Koundal A., Bains N. S. Putrescine modulates antioxidant defense response in wheat under high temperature stress. *Biol. Plant.* 2012. Vol. 56. P. 757–761. doi: 10.1007/s10535-012-0209-1

Baek K.-H., Skinner D. Z. Differential expression of manganese superoxide dismutase sequence variants in near isogenic lines of wheat during cold acclimation. *Plant Cell Rep.* 2006. Vol. 25. P. 223–230. doi: 10.1007/s00299-005-0073-6

Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signaling. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1229–1240. doi: 10.1093/jxb/ert375

Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 44. P. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8

Bowler C., Van Camp W., Van Montagu M., Inze D. Superoxide dismutase in plants. *Critical Rev. Plant Sci.* 1994. Vol. 13. P. 199–218.

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.

- Chen W.-L., Yang W.-J., Lo H.-F., Yeh D.-M. Physiology, anatomy, and cell membrane thermostability selection of leafy radish (*Raphanus sativus* var. *oleiformis* Pers.) with different tolerance under heat stress. *Scient. Hortic.* 2014. Vol. 179. P. 367–375. doi: 10.1016/j.scienta.2014.10.003
- Dandan L., Dongmei Z., Peng W., Nanyan W., Xiangdong Z. Subcellular Cd distribution and its correlation with antioxidant enzymatic activities in wheat (*Triticum aestivum*) roots. *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2011. Vol. 74. P. 874–881. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.12.006
- Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environ. Exp. Bot.* 2015. Vol. 109. P. 212–228. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021
- Gao J.-J., Li T., Yu X.-C. Gene expression and activities of SOD in cucumber seedlings were related with concentrations of Mn²⁺, Cu²⁺, or Zn²⁺ under low temperature stress. *Agric. Sci. China.* 2009. Vol. 8. P. 678–684.
- Goswami S., Das S. Copper phytoremediation potential of *Calandula officinalis* L. and the role of antioxidant enzymes in metal tolerance. *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2016. Vol. 126. P. 211–218. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.030
- Inostroza-Blancheteau C., Acevedo P., Loyola R., Arce-Johnson P., Alberdi M., Reyes-Díaz M. Short-term UV-B radiation affects photosynthetic performance and antioxidant gene expression in highbush blueberry leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 107. P. 301–309. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.06.019
- Kang H.-M., Saltveit M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles. *Physiol. Plant.* 2001. Vol. 113. P. 548–556.
- Kazemi-Shahandashti S.-S., Maali-Amiri R., Zeinali H., Khazaei M., Talei A., Ramezanzpour S. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings. *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171. P. 1106–1116. doi: 10.1016/j.plph.2014.03.020
- Lado J., Rodrigo M. J., López-Climent M., Gómez-Cadenas A., Zacarías L. Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Posthar. Biol. Technol.* 2016. Vol. 111. P. 214–223. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.013
- Li X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Jiang D. Cold priming drives the sub-cellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low temperature stress in winter wheat. *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 82. P. 34–43. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.05.005
- Mandhanian S., Madan S., Sawhney V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. *Biol. Plant.* 2006. Vol. 50. P. 227–231.
- Oufdou K., Benidire L., Lyubenova L., Daoui K., Fatemi Z. E. A., Schröder K. Enzymes of glutathione-ascorbate cycle in leaves and roots of rhizobia-inoculated faba bean plants (*Vicia faba* L.) under salinity stress. *Europ. J. Soil Biol.* 2014. Vol. 60. P. 98–103. doi: 10.1016/j.ejsobi.2013.11.002
- Pal R. S., Agrawal P., Bhatt J. C. Molecular approach towards the understanding of defensive systems against oxidative stress on plant: A critical review. *J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013. Vol. 22. P. 131–138.
- Perry J. J. P., Shin D. S., Getzoff E. D., Tainer J. A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochem. Biophys. Acta.* 2010. Vol. 1804. P. 245–262. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.11.004
- Sánchez-Rodríguez E., Romero L., Ruiz J. M. Accumulation of free polyamines enhances the antioxidant response in fruits of grafted tomato plants under water stress. *J. Plant Physiol.* 2016. Vol. 190. P. 72–78. doi: 10.1016/j.plph.2015.10.010
- Scandalios J. G. Genomic responses to environmental stress. Ed. J. G. Scandalios. The United Kingdom. Academic Press Inc, 1990. P. 1–297.
- Szöllősi R. Superoxide Dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: an overview. Ed. P. Ahmad. The Netherlands. Springer, 2014. P. 89–129. doi: 10.1016/B978-0-12-799963-0.00003-4
- Tang K., Zhan J.-C., Yang H.-R., Huang W.-D. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings. *J. Plant Physiol.* 2010. Vol. 167. P. 95–102. doi: 10.1016/j.jplph.2009.07.011
- Yan H., Li Q., Park S.-C., Wang X., Liu Y.-J., Zhang Y.-G., Tang W., Kou M., Ma D. Overexpression of CuZnSOD and APX enhance salt stress tolerance in sweet potato. *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 109. P. 20–27. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.003
- Yang H., Wu F., Cheng J. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and antioxidant response. *Food Chem.* 2011. Vol. 127. P. 1237–1242.
- Zeinali F., Homaei A., Kamrani E. Sources of marine superoxide dismutases: Characteristics and applications. *Intern. J. Biol. Macromol.* 2015. Vol. 79. P. 627–637. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.053
- Zhang M., Duan L., Tian X., He Z., Li J., Wang B., Li Z. Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. *J. Plant Physiol.* 2007. Vol. 164. P. 709–717. doi: 10.1016/j.jplph.2006.04.008

Received January 23, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Репкина Наталья Сергеевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nrt9@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Игнатенко Анна Анатольевна

стажер-исследователь
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: angelina911@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Панфилова Кристина Михайловна

студентка
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: pankris@mail.ru

Титов Александр Федорович

главный научный сотрудник отдела комплексных
научных исследований КарНЦ РАН, руководитель лаб.
экологической физиологии растений, чл.-корр. РАН,
д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762712

CONTRIBUTORS:

Repkina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nrt9@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Ignatenko, Anna

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: angelina911@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Panphilova, Kristina

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: pankris@mail.ru

Titov, Alexander

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: titov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762712

УДК 581.1

СОСТАВ ЛИПИДОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕМБРАННЫХ СИСТЕМ *STELLARIA HUMIFUSA*

Е. Ф. Марковская¹, Н. А. Галибина², М. К. Ильинова²,
К. М. Никерова², Н. Ю. Шмакова³

¹ Петрозаводский государственный университет

² Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

³ Полярно-альпийский ботанический сад-институт Кольского научного центра РАН,
Кировск Мурманской обл.

Работа выполнена на *Stellaria humifusa*, сем. *Caryophyllaceae* (длиннокорневищная стержнекорневая поликарпическая трава, гигрофит, почти арктический вид с циркумполярным ареалом). Растения образуют жизненную форму мат и произрастают на скальных выходах вблизи приморской территории. Растительное сообщество состоит из одного вида, покрыто слоем отмерших листьев прошлого года. Исследование липидов показало, что *S. humifusa* в период активной вегетации имеет липидные фракции в функционально активном состоянии. Фракция нейтральных липидов (структурный компонент клетки и ее запасный фонд) доминирует по процентному содержанию насыщенных жирных кислот (ЖК). Фракция фосфолипидов (основная мембранная система клеток) имеет наибольшее содержание ЖК, высокие значения количества диеновых, триеновых и насыщенных ЖК. Именно эта фракция содержит максимальное количество линолевой кислоты. Во фракцию гликолипидов (липиды мембран хлоропластов) входит около 32 % всех ЖК исследуемого вида, активность которых связана с фотосинтезом. В этой фракции меньше содержание диеновых и насыщенных ЖК, но значительно больше по сравнению с другими группами триеновых ЖК, в том числе и линоленовой кислоты. Исследование активности ферментов антиоксидантной системы (АОС) в листьях у *S. humifusa* показало невысокие значения пероксидазной активности (2,2 и 1 мкмоль тетрагваякола на мг белка при pH 5 и 7,8 соответственно) на фоне большой каталазной активности (366 мкмоль H₂O₂/мг белка) по сравнению с другими травянистыми растениями. Это может свидетельствовать о приспособленности вида к условиям среды. Высокий уровень содержания ненасыщенных липидов в структуре мембранной системы фотосинтетического аппарата вносит большой вклад в поддержание его высокой функциональной активности у *S. humifusa*.

Ключевые слова: *Stellaria humifusa*; арктические растения; адаптация; липиды; жирнокислотный состав; температурный градиент.

**E. F. Markovskaya¹, N. A. Galibina², M. K. Ilyinova², K. M. Nikerova²,
N. Yu. Shmakova³. LIPID COMPOSITION AND FUNCTIONAL STATE OF
MEMBRANE SYSTEMS IN *STELLARIA HUMIFUSA***

The object of the study is *Stellaria humifusa* (*Caryophyllaceae*) – a polycarpic herb with a long taproot; an almost Arctic hygrophyte with circumpolar distribution. Plants form mats and grow on rock outcrops near coastal areas. The plant community consists of only

one species, and is covered with a layer of dead leaves from the previous year. The study of lipids showed that during active growth *S. humifusa* has lipid fractions in the functionally active state. The fraction of neutral lipids (a structural component of the cell and its emergency stores) dominates in terms of the percentage of saturated fatty acids (FA). The fraction of phospholipids (the main membrane system of the cell) has the greatest content of FA with high quantities of diene, triene and saturated FA. This fraction contains the maximum amount of linoleic acid. The fraction of glycolipids (lipids of chloroplast membranes) accounts for around 32 % of the plant's total FA. It indicates a tense lipid metabolism associated with photosynthetic activity. This fraction contains less of diene and saturated FA, but significantly more of triene FA, including linolenic acid, comparing to the other groups. The study of AOS activity in *S. humifusa* leaves revealed relatively low peroxidase activity (2.2 and 1 $\mu\text{mol TG/mg protein}$ at pH 5 and 7.8, respectively) simultaneously with high catalase activity (366 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protein}$) as compared to other herbaceous plants. This fact possibly indicates the species is adapted to the environment. The high level of unsaturation of the lipid structure of the photosynthetic apparatus membrane system contributes a lot to the maintenance of its high functional activity in *S. humifusa*.

Key words: *Stellaria humifusa*; Arctic plants; adaptations; lipids; fatty acid composition; temperature gradient.

Введение

Условия Арктики являются уникальными для произрастания растений. Флора Шпицбергена насчитывает 164 вида высших сосудистых растений, которые проходят полное онтогенетическое развитие в этих условиях и адаптированы к ним. Распространение растений по градиенту условий в Арктическом регионе зависит от биологических особенностей растений, географической истории, особенностей экотопа и комплекса факторов среды, к которым они адаптированы. Климатические особенности этого региона включают длинный полярный день, короткий вегетационный период в сочетании с суточной нестабильностью температуры. Температура лимитирует географическое распространение растений, включает множественные стратегии для адаптации к климатическим стрессам, в том числе на уровне фенологии, морфологии, выбора местообитаний и физиолого-биохимического статуса растения [Levitt, 1980; Korner, 1999].

В условиях арктического климата в период вегетации наряду со средними достаточно низкими температурами суточные перепады могут достигать десятков градусов. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что растения, адаптированные к условиям Арктики, по функциональным показателям не находятся в состоянии стресса [Lütz et al., 2012]. Встает вопрос, как удается растениям в этих нестабильных условиях поддерживать мембранную систему в рабочем состоянии.

Одним из основных механизмов адаптации растений к температурным условиям является изменение степени ненасыщенности

мембранных липидов: увеличение при низких и снижение при высоких температурах. Эта способность растительного организма поддерживать функциональную активность мембран при изменении температуры [Sakai, Larcher, 1987; Wallis, Browse, 2002; Upchurch, 2008] обеспечивает успешное произрастание видов в экстремальных условиях. В условиях Арктики поддержание функциональной активности мембран важно как при адаптации растений к длительно действующим низким температурам (недели, месяцы), так и к большим суточным градиентам (часы, сутки), которые могут включать кроме обычных температур экстремально высокие и низкие значения.

Липиды являются важнейшим структурным, запасным и функциональным компонентом растительных клеток, который обеспечивает функциональную активность мембран всех органоидов и дает информацию о функциональной активности разных клеточных структур. Содержание липидов и их жирнокислотный состав варьирует в зависимости от вида, внутри вида и в онтогенезе растений. Степень этого варьирования определяется генотипом и зависит от факторов среды [Лось, 2001, 2014]. Выделяется три группы этих соединений: нейтральные липиды (НЛ), фосфолипиды (ФЛ) и гликолипиды (ГЛ), различающиеся по функциональной активности. НЛ – это эфиры глицерина и жирных кислот (ЖК). В этой фракции отсутствуют примеси свободных ЖК и неомыляемых веществ. Они являются структурными компонентами клетки, ее запасным фондом. ФЛ включают глицерофосфолипиды и сфинголипиды. Они составляют основу всех мембран клетки. ГЛ – сложные липиды, в составе которых имеются

молекулы углеводной группы. Это липиды мембран хлоропластов, в которых идет синтез липидов и которые выполняют основную функцию зеленого растения – поглощение и запасание энергии солнечного света. Этот процесс происходит в мембранных организациях двух фотосистем, функциональную активность которых поддерживает не только липидная составляющая, но и целая система антиоксидантной защиты. От их согласованности и координации зависит эффективность фотосинтеза. Из литературы известно, что если сам процесс фотосинтеза – достаточно универсальная функция, то его многоуровневая защита оказывается достаточно разнообразной и видоспецифичной, как это было показано на некоторых арктических растениях [Lütz et al., 2012].

В связи с вышесказанным целью работы стала оценка некоторых параметров липидного обмена и ферментных систем антиоксидантной защиты фотосинтетического аппарата арктического вида *Stellaria humifusa*.

Объект и методы исследования

Stellaria humifusa Rottb., сем. *Caryophyllaceae* – длиннокорневищная стержнекорневая поликарпическая трава, гигрофит, почти арктический вид с циркумполярным ареалом. Вид широко распространен по всему Шпицбергену [Ronning, 1996]. Растет вдоль морских побережий, задернованных отмелей берегов морей, по берегам и поймам нижнего течения рек, подверженных влияниям морских приливов. *Stellaria humifusa* варьирует по форме листьев и габитусу.

Работа выполнена в зоне арктических тундр в окрестностях пос. Баренцбург (78°04' с. ш., 14°12' в. д.) в течение вегетационных сезонов 2013–2015 гг. Опытные растения находились в фазе цветения, произрастали выше прибрежной зоны на скальных экотопах, где особи *Stellaria humifusa* формировали маты (размером до 10 м²) на разных фрагментах скальных выходов.

Определение состава липидов

Для исследования фракционного и жирнокислотного состава липидов растительный материал фиксировали в термостате при температуре 110 °С в течение 30 минут. Суммарные липиды экстрагировали смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 и фракционировали методом колоночной хроматографии на НЛ, ГЛ и ФЛ. Определение жирнокислотного состава (ЖК) липидных фракций проводили

хроматографическим методом на газожидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл-5000.1» (Россия) при следующих условиях: капиллярная колонка HP INNOWAX (30 м; 0,32 мм); температура колонки, испарителя, пламенно-ионизационного детектора – 205, 240 и 260 °С соответственно; газ-носитель – азот; скорость пропускания через колонку азота, водорода, воздуха – 50, 40, 400 мл/мин соответственно. Идентификацию ЖК проводили по стандартным образцам (Supelko, 37 компонентов). Определение количественного содержания ЖК проводили методом внутреннего стандарта (в качестве стандарта – маргаиновая кислота) и выражали в мг/г сухой массы [Шуляковская и др., 2014].

Коэффициент ненасыщенности ЖК (К) рассчитывали по формуле:

$$K = \frac{\sum \text{ненасыщенных ЖК}}{\sum \text{насыщенных ЖК}}$$

Активность ацил-липидных Δ9, Δ12 и ω³ десатураз, катализирующих введение двойных связей в углеродные цепи олеиновой (C18:1), линолевой (C18:2) и линоленовой (C18:3) кислот, определяли как стериол- (SDR), олеил- (ODR) и линолеил- (LDR) десатуразные отношения, рассчитанные на основании содержания компонентов C18, как описано в работе [Алаудинова, Миронов, 2009]:

$$SDR = (C18:1) / (C18:0 + C18:1)$$

$$ODR = (C18:2 + C18:3) / (C18:1 + C18:2 + C18:3)$$

$$LDR = (C18:3) / (C18:3 + C18:2),$$

где C18:0, C18:1, C18:2 и C18:3 – процентное от суммы кислот содержание стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой кислот соответственно.

Определение антиоксидантной активности

Растительный материал растирали с жидким азотом и гомогенизировали в среде следующего состава: 67 мМ К, Na-фосфатный буфер (pH 7,8), 0,5 мМ ЭДТА; соотношение ткани и буфера – 1:10. После 20-минутной экстракции при 4 °С гомогенат дважды центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут (центрифуга Sigma 2-16PK, Германия). Активность каталазы в супернатанте определяли на спектрофотометре (СФ-2000, Россия) по ферментативному разложению перекиси водорода при 240 нм [Никерова и др., 2016]. Инкубационная среда содержала: 67 мМ К, Na-фосфатный буфер (pH 7,8) и 14,7 мМ перекись водорода. Активность каталазы выражали в мкмоль перекиси водорода на

мг белка, восстановленной за 1 минуту (мкмоль H_2O_2 /мг белка). Для определения активности пероксидазы в листьях в качестве донора водорода использовали гваякол, в качестве субстрата – перекись водорода. Инкубационная среда для определения активности пероксидазы содержала: 50 мМ К, Na-фосфатный буфер (рН 5; 7,8), 2,6 мМ перекись водорода и 21,5 мМ гваякол. Активность фермента определяли спектрофотометрически (спектрофотометр СФ-2000, Россия) по скорости образования продукта реакции тетрагваякола при длине волны 470 нм (с учетом коэффициента экстинкции $\epsilon_{470\text{ нм}} = 0,0266 \text{ мкм}^{-1} \text{ см}^{-1}$) и выражали как: образовалось мкмоль тетрагваякола на мг белка за 1 минуту (мкмоль ТГ/мг белка) [Галибина и др., 2016]. Содержание белка было определено по методу Бредфорда.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных осуществлялась в среде Microsoft Excel. На диаграммах приведены средние значения и их стандартные ошибки ($n \geq 3$). Для оценки достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Данные были получены на оборудовании ЦКП «Аналитическая лаборатория» ИЛ КарНЦ РАН.

Результаты

Проведенные исследования показали, что растения *S. humifusa* составляют сплошное растительное сообщество (в форме мата), которое не включает другие виды. Слой зеленых

растений покрывает такой же слой прошлогодних отмерших листьев светло-коричневой окраски, который обильно покрыт белыми цветами с сильным ароматом. Зеленые листья сверху почти не просматриваются. Растение имеет мелкие многочисленные листья (в среднем площадь листа составляет $0,06 \text{ см}^2$), расположенные плотно на побеге, и очень тонкие корни. Цветы почти в 2 раза крупнее листьев. Ранее проведенные исследования показали, что суммарное содержание пигментов в листьях у *Stellaria humifusa* из разных местобитаний (тундра, скальные экотопы, приливо-отливная зона) изменяется незначительно и варьирует в диапазоне: сумма хлорофиллов – $0,71\text{--}0,84 \text{ мг/г}$ сырой массы, каротиноидов – $0,14\text{--}0,17 \text{ мг/г}$ сырой массы, соотношение хл *a* / хл *b* – $2\text{--}2,9$, хл / кар – $4,4\text{--}5,3$, ССК – $60\text{--}76 \%$ [Марковская, неопубликованные данные].

Активность антиоксидантных ферментов в листовом аппарате *S. humifusa*

Пероксидазная активность в листьях *S. humifusa* была низка: при рН 5 составила $2,2 \text{ мкмоль ТГ/мг белка}$, при рН 7,8 – $1,04 \text{ мкмоль ТГ/мг белка}$ (рис. 1, А). Различия между значениями активности разных изоформ (кислой и слабощелочной) незначительны. Активность каталазы была очень высокой и достигала $366 \text{ мкмоль } H_2O_2/\text{мг белка}$ (рис. 1, Б).

Жирнокислотный состав липидных фракций у *S. humifusa*

ЖК, входящие в состав липидов у стелларии, содержат от 10 до 24 атомов углерода. Во фракции ФЛ суммарное содержание ЖК

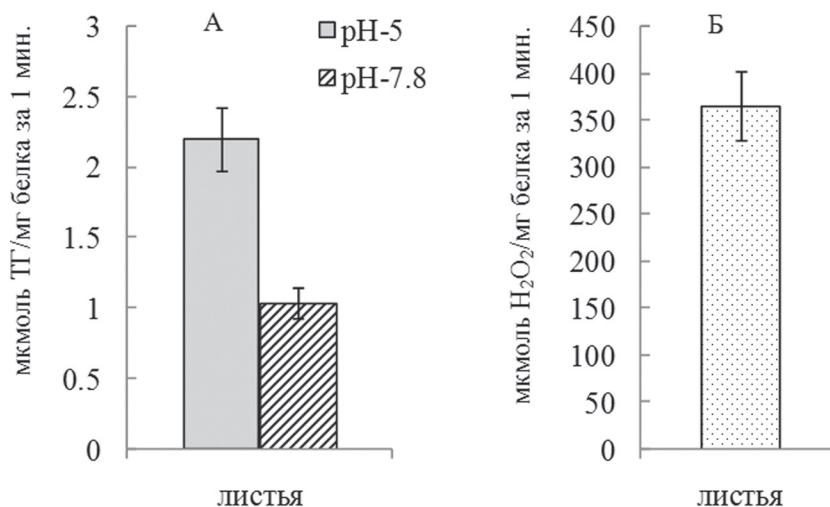


Рис. 1. Активность пероксидазы при рН 5 и 7,8 (А) и каталазы (Б) в листьях *S. humifusa*

Содержание ЖК (мг/г) во фракциях липидов у *S. humifusa*

ЖК	НЛ	ФЛ	ГЛ
Пальмитиновая кислота (16:0)	1,34 ± 0,04	1,91 ± 0,06	1,01 ± 0,03
Линолевая кислота (18:2Δ ^{9,12})	1,83 ± 0,02	3,34 ± 0,03	1,38 ± 0,01
α-Линоленовая кислота (18:3Δ ^{9,12,15})	0,32 ± 0,04	1,84 ± 0,09	2,79 ± 0,14

(8,7 ± 0,5 мг/г) было больше, чем во фракциях НЛ (7,1 ± 0,4 мг/г) и ГЛ (7,5 ± 0,6 мг/г). Из всех ЖК в наибольшем количестве во всех фракциях встречались пальмитиновая (16:0), линолевая (18:2Δ^{9,12}) и α-линоленовая (18:3Δ^{9,12,15}) кислоты (табл. 1).

Исследуемые фракции липидов содержали ЖК с различным числом двойных связей в углеродной цепочке – моноеновые, диеновые, триеновые, тетраеновые, а также насыщенные ЖК и различались по содержанию полиненасыщенных и насыщенных ЖК. Во фракции НЛ отмечалось довольно высокое содержание насыщенных ЖК, количество их достигало 30 % от общей суммы ЖК. Среди ненасыщенных преобладали ЖК с двумя двойными связями (2,6 мг/г). Во фракции ФЛ количество насыщенных ЖК составляло 25 %. Среди ненасыщенных преобладали диеновые (3,5 мг/г) и триеновые (2,4 мг/г) ЖК. Содержание диеновых ЖК во фракции ФЛ было в 1,3 и 2,3 раза выше, чем во фракциях НЛ и ГЛ соответственно. Во фракции ГЛ на долю насыщенных ЖК приходилось всего 20 %. В этой фракции отмечалось самое высокое содержание триеновых ЖК (3,4 мг/г), что в 1,4 и 4,3 раза больше, чем в ФЛ и НЛ соответственно (рис. 2). Высокий процент ненасыщенных ЖК во всех фракциях липидов и практически отсутствие кислот с длинной цепью свидетельствует о низкой точке плавления и поддержании липидных фракций всех

органов в период вегетации у *Stellaria humifusa* в условиях высоких широт в жидком состоянии.

Коэффициент ненасыщенности ЖК (К) используется в качестве параметра, характеризующего состояния мембранных компонентов. Наиболее высокие значения К были получены для группы ГЛ (3,98), что в 1,4 и 1,6 раза превышает таковой показатель в ФЛ (2,87) и НЛ (2,44) соответственно.

Степень ненасыщенности ЖК определяется функционированием десатураз. Расчет активности ацил-липидных Δ9, Δ12, ω³-десатураз показал, что они различаются во фракциях липидов. Активность Δ9-десатуразы во фракции НЛ и ГЛ на 14 % выше, чем в ФЛ. Для Δ12-десатураз различия составляют 24 % с наибольшими значениями (0,93) для ФЛ. Для ω³-десатуразы различия достигают наибольших значений – 76 % с максимальными значениями (0,67) для фракции ГЛ. Следует отметить, что наибольшая активность отмечается для Δ12-десатураз, которые проявляют высокую активность во всех исследуемых фракциях. Наиболее контрастные данные получены для ω³-десатуразы с максимальными значениями в группе ГЛ и почти на 50 % ниже в группе ФЛ и на 76 % – в группе НЛ (рис. 3).

Одним из показателей липидного обмена является соотношение между α-линоленовой и линолевой кислотами, которыми богаты растения [Лось, 2014]. Соотношение их

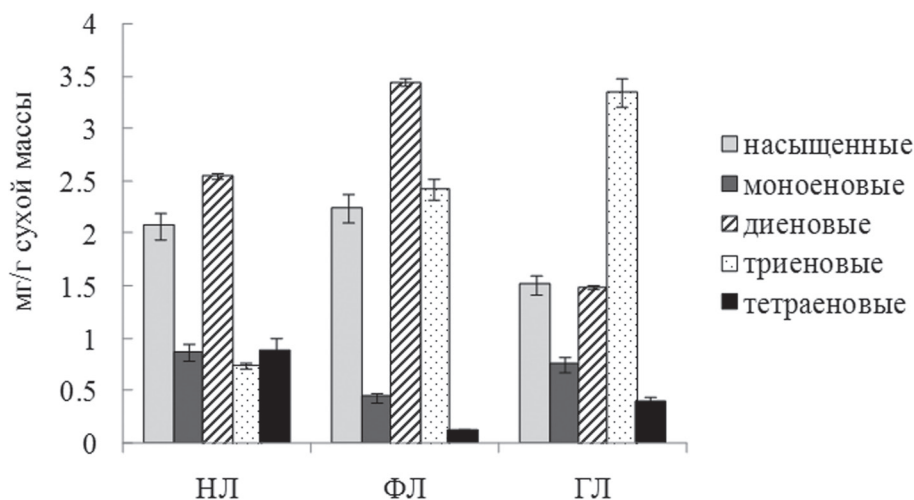


Рис. 2. Суммарное содержание групп жирных кислот в нейтральных (НЛ), фосфо- (ФЛ) и гликолипидах (ГЛ) в листьях *S. humifusa*

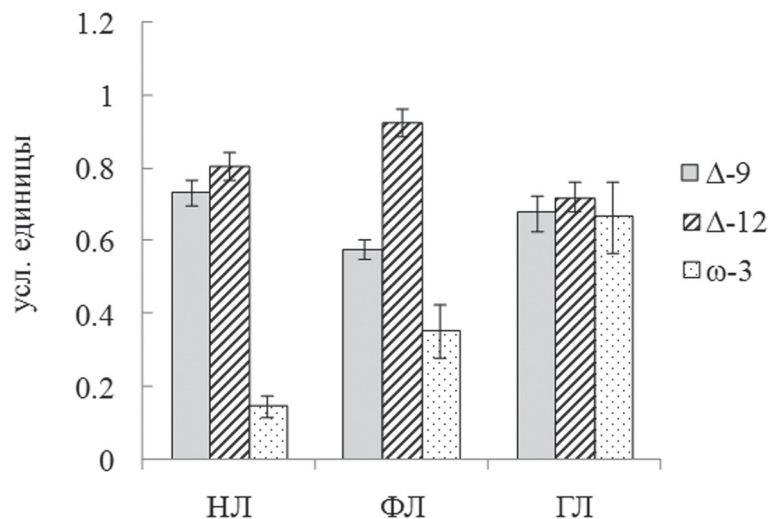


Рис. 3. Активность ацил-липидных Δ 9, Δ 12, ω^3 -десатураз во фракциях нейтральных (НЛ), фосфо- (ФЛ) и гликолипидов (ГЛ) в листьях *S. humifusa*

содержания рассматривают в качестве показателя жизнедеятельности растения. На растениях ячменя было показано, что соотношение α -линоленовая/линолевая кислота должно быть не менее 2 [Laskay, Lehoczki, 1986]. Факт более высокого содержания в растениях линоленовой кислоты отмечается в литературе на разных растениях [Родионов, 1978; Жиров, Мерзляк, 1983]. По нашим данным, во фракциях липидов у *S. humifusa* эта тенденция неоднозначная. Во фракциях НЛ и ФЛ больше линолевой кислоты, а в ГЛ – линоленовой (табл.). Соотношение α -линоленовая/линолевая кислота достигает значений 2,02 только во фракции ГЛ, а во фракциях НЛ и ФЛ составляет всего 0,18 и 0,58 соответственно (рис. 4).

Обсуждение

Впервые у растений *S. humifusa*, произрастающих в условиях Арктики, в листьях в период активной вегетации был исследован жирнокислотный состав липидных фракций. Во фракцию НЛ включены эфиры глицерина и ЖК, которые являются структурным компонентом клетки и ее запасным фондом и составляют третью часть от общего количества ЖК. В этой фракции высокий процент содержания насыщенных ЖК. Сравнительно высокая активность исследованного ферментного состава (кроме ω^3 -десатуразы) свидетельствует о напряженности в этой фракции процессов, связанных с липидным обменом, а низкие значения коэффициентов ненасыщенности и активности ω^3 -десатуразы свидетельствуют о другой функциональной направленности.

Фракция ФЛ, как основной компонент мембранной системы клеток, имеет наибольшее содержание ЖК, высокие уровни диеновых, триеновых и насыщенных ЖК. Именно эта фракция содержит максимальное количество линолевой кислоты. Для липидного обмена этой фракции характерны средние и высокие значения активности ферментов (исключение ω^3 -десатураза) и несколько более высокие, по сравнению с фракцией НЛ, показатели коэффициента ненасыщенности. Это достаточно гетерогенная фракция, в которую включены мембранные системы органелл разного уровня и функционального назначения. Однако фракция ФЛ, как депонирующий орган линолевой кислоты, заслуживает внимания.

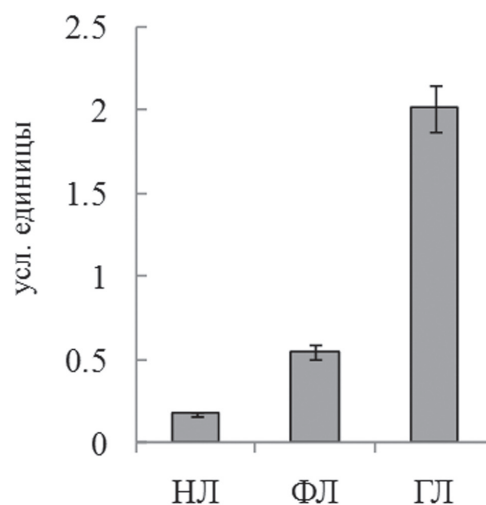


Рис. 4. Отношение α -линоленовая кислота / линолевая кислота во фракциях нейтральных (НЛ), фосфо- (ФЛ) и гликолипидов (ГЛ) в листьях *S. humifusa*

Третья группа – ГЛ, куда входят сложные липиды, в составе которых имеются молекулы углеводной группы, являются липидами мембран хлоропластов. Прежде всего следует отметить, что только в эту фракцию входят около 32 % всех ЖК исследуемого вида. Известно, что именно хлоропласты являются местом синтеза липидной фракции, и это хорошо согласуется с большим их содержанием [Schmid, Ohlrogge, 2002]. В этой фракции меньше содержание диеновых и насыщенных ЖК, но значительно больше, по сравнению с другими группами, триеновых ЖК, в том числе и линоленовой кислоты. Именно с этими значениями и связана высокая активность ω^3 -десатуразы и более высокие значения коэффициента ненасыщенности. Показано, что увеличение количества линоленовой кислоты обеспечивает не только более высокий уровень фотосинтетических процессов, но и повышение холодоустойчивости [Hugly, Somerville, 1992; Routaboul et al., 2000; Li et al., 2008], а также общей резистентности растений [Matsuda, Iba, 2005].

Фотосинтетический аппарат (ФА) растений в условиях Арктики имеет высокие функциональные показатели, что было показано при оценке потенциальной и реальной ФА арктических видов о. Врангель и о. Шпицберген [Герасименко и др., 1989; Шмакова и др., 2010]. Это подтверждается и в нашем исследовании. Выявленная высокая функциональная активность всех структур у *S. humifusa*, оцененная по липидной составляющей, связана с особенностями ее адаптации в условиях скального экотопа. Темная поверхность мата, образующаяся за счет отмерших листьев, обеспечивает локальное повышение температуры и одновременно защиту зеленых листьев от избыточного поглощения световой энергии. Подобное сочетание привело к тому, что ведущим фактором в жизнедеятельности растений оказался температурный. Именно скальные экотопы характеризуются максимальным температурным градиентом, к которому должны адаптироваться обитающие в этих условиях виды. Поддержание высокого уровня ненасыщенности именно липидных структур фотосинтетического аппарата дает возможность арктическим видам, произрастающим при круглосуточном полярном дне, даже в разных экотопических условиях за уникально короткий вегетационный период успешно проходить онтогенез и давать семенное потомство.

В работе [Zheng et al., 2011] была высказана гипотеза, согласно которой растения, произрастающие в условиях нестабильного суточного климата, имеют специальный механизм,

обеспечивающий поддержание ненасыщенности мембран на постоянном уровне при резких суточных переменах температуры от низкой к высокой и наоборот. Оказалось, что у альпийских растений (*Saussurea medusa*, *Solms-Laubachia linearifolia*, *Crucihimalaya himalaica*) в ответ на температурный градиент синтезировалось 6 классов ФЛ и два класса галактолипидов, но степень ненасыщенности общих липидов и лизофосфолипидов оставалась неизменной. Авторы высказали гипотезу, что альпийские растения (*Saussurea medusa*, *Solms-Laubachia linearifolia*) входят в группу растений, которые длительное время адаптировались к условиям среды, и эти адаптации происходили не только на уровне жизненного цикла, морфологии и физиологии, но и на биохимическом уровне. Поэтому изменения в классах липидов и отсутствие изменений в ненасыщенности ЖК в мембранных липидах при постоянных кратковременных температурных перепадах могли быть адаптацией, а не реакцией на стресс.

В пользу адаптивных изменений свидетельствуют и невысокие значения пероксидазной активности (2,2 и 1 мкмоль ТГ/мг белка при pH 5 и 7,8 соответственно) в листьях у *S. humifusa* по сравнению с другими травянистыми растениями. У растений томата активность гваякол-пероксидазы при разных температурах варьирует в диапазоне 7–16 мкмоль ТГ/мг белка, у арбуза показатель изменяется от 10 до 19 мкмоль ТГ/мг белка [Rivero et al., 2001], у красной свеклы на разных стадиях развития активность находилась в пределах 5–15 мкмоль ТГ/мг белка [Nimaeva et al., 2014], у шафрана – на уровне 10 мкмоль ТГ/мг белка [Namdjoyan et al., 2011], у картофеля в контроле и при дальнейшем охлаждении изменялась в диапазоне 15–30 мкмоль ТГ/г сырой ткани [Синькевич и др., 2009], а у отдельных сортов капусты достигала 72 мкмоль ТГ/мг белка [El-Beltagi et al., 2011]. Низкие значения активности пероксидазы у *S. humifusa* свидетельствуют о том, что не происходит чрезмерного накопления перекиси водорода, которое наблюдается в стрессовых условиях.

Кроме того, мы не обнаружили большой разницы в активности исследуемых изоформ пероксидазы, хотя для растений кислые изоформы гваякол-пероксидазы обычно намного более активны, чем слабощелочные [Прадедова и др., 2011; Никерова, Галибина, 2017]. Использование растением различных изоформ фермента может свидетельствовать о высокой приспособленности вида к условиям среды.

Вероятно, участие пероксидазы в нейтрализации перекиси становится незначительным

в связи с очень высокой каталазной активностью (366 мкмоль H_2O_2 /мг белка), которая значительно превосходит таковую у травянистых растений. У растений нута активность каталазы составила 2 мкмоль H_2O_2 /мг белка, у растений арабидопсиса при гипотермии 2,5 мкмоль H_2O_2 /мг белка [Nazari et al., 2012], у шафрана была в пределах 15 мкмоль H_2O_2 /мг белка [Namdjoyan et al., 2011], у капусты – 18 мкмоль H_2O_2 /мг белка [El-Beltagi et al., 2011]. Даже при воздействии стресс-факторов (высокой освещенности и охлаждения) каталазная активность у растений табака не превысила 200 мкмоль H_2O_2 /мг белка [Gechev et al., 2003]. Высокие показатели каталазной активности могут стать следствием высокой интенсивности дыхания и обменных процессов в связи с участием фермента в кислородном метаболизме. Показано, что каталаза отсутствует в анаэробных условиях и индуцируется кислородом при повышении интенсивности дыхания [Мирошниченко, 1992; Павлова и др., 2014]. Таким образом, по высоким значениям каталазной активности можно косвенно судить об интенсивной жизнедеятельности *S. humifusa*.

Было показано, что имеются существенные различия в реакции растений огурца на постоянное и кратковременное ежесуточное низкотемпературное воздействие на уровне липидной составляющей мембран [Марковская и др., 2013]. В природе реакция мембранных систем растений, которые поддерживают степень ненасыщенности мембран на постоянном уровне в широком диапазоне температур при условии их варьирования, рассматривается как стабильная адаптация к условиям среды. В литературе обсуждается вопрос о различной реакции растений на кратковременное и длительное низкотемпературное воздействие. И если в ответ на периодическое кратковременное воздействие низкой температуры растение способно увеличить устойчивость, функциональную активность и продуктивность, то при длительном многосуточном действии этой же температуры растение может замедлить развитие, повысить устойчивость и снизить жизнедеятельность [Марковская и др., 2013]. Механизмы повышения устойчивости разные. Так, на постоянное низкотемпературное воздействие в системную реакцию растительного организма включена в основном вся липидная фракция, а на кратковременное периодическое – главным образом только одна из ее составляющих – линоленовая кислота. Полученные данные на *S. humifusa* косвенно подтверждают идею существования специфического механизма реакции растения

на градиент температур в сутках, который включает в качестве составляющей и поддержание ненасыщенности липидов клеточных структур.

Заключение

Проведенное исследование показало, что функциональная активность арктического растения *Stellaria humifusa* связана с высоким уровнем ненасыщенности липидных структур мембранной системы фотосинтетического аппарата. Это дает возможность арктическим видам, произрастающим при круглосуточном полярном дне в условиях суточной температурной нестабильности, даже в экстремальных экотопических условиях за уникально короткий вегетационный период успешно проходить онтогенез и давать семенное потомство. Подтверждением высказанной гипотезы также стали данные о нестандартной активности ферментов АОС (каталазы и возрастание доли активности пероксидазы при pH 7,8 по отношению к пероксидазе при pH 5), работа которых направлена на поддержание высоких скоростей метаболических процессов, необходимых для приспособления к изменяющимся условиям среды.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства экономического развития и торговли РФ на 2002–2016 гг.

Литература

- Алаудинова Е. В., Миронов П. В. Липиды меристем лесообразующих хвойных пород центральной Сибири в условиях низкотемпературной адаптации. 2. Особенности метаболизма жирных кислот фосфолипидов меристем *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. и *Pinus sylvestris* L. // Химия растительного сырья. 2009. № 2. С. 71–76.
- Галибина Н. А., Мошкина Е. В., Никерова К. М., Мощенская Ю. Л., Знаменский С. Р. Активность пероксидазы как индикатор степени узорчатости древесины карельской березы // Лесоведение. 2016. № 4. С. 294–304.
- Герасименко Т. В., Швецова В. М. Основные итоги эколого-физиологических исследований фотосинтеза в Арктике // Эколого-физиологические исследования фотосинтеза и дыхания растений. Л.: Наука, 1989. С. 65–114.
- Жиров В. К., Мерзляк М. Н. Воздействие низких температур на изменение степени повреждения мембран и интенсивность пероксидации липидов у гороха, подвергнутого холодовому закаливанию // Биологические науки. 1983. № 2. С. 77–82.
- Лось Д. А. Десатуразы жирных кислот. М.: Научный мир, 2014. 372 с.

Лось Д. А. Структура, регуляция экспрессии и функционирования десатураз жирных кислот // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 163–169.

Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Кратковременная гипотермия и растение / Отв. редактор Н. П. Чернобровкина. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 194 с.

Мирошниченко О. С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы // Biopolymers and Cell. 1992. Т. 8, № 6. С. 3–25. doi: 10.7124/bc.00033C

Никерова К. М., Галибина Н. А. Влияние нитратного азота на пероксидазную активность в тканях *Betula pendula* Roth var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) // Сибирский лесной журнал. 2017. № 1. С. 15–24.

Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л., Подгорная М. Н., Софронова И. Н. Каталазная активность в листовом аппарате у сеянцев березы повислой разных форм (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* и var. *carelica* (Mercklin) // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 11. С. 68–77. doi: 10.17076/eb460

Павлова В. А., Нефедьева Е. Э., Лысак В. И., Шайхиев И. Г. Влияние импульсного давления на некоторые биохимические процессы семян гречихи при прорастании // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т. 17, № 21. С. 199–203.

Прадедова Е. В., Ишеева О. Д., Салыев Р. К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей корнеплодов столовой свеклы // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 1. С. 40–48.

Родионов В. С. Влияние низких температур на липидный обмен и фазовые переходы в мембранах // Эколого-физиологические механизмы устойчивости растений к действию экстремальных температур. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1978. С. 37–57.

Синькевич М. С., Дерябин А. Н., Трунова Т. И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 2. С. 161–162.

Шмакова Н. Ю., Марковская Е. Ф. Фотосинтетические пигменты растений и лишайников арктических тундр Западного Шпицбергена // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 6. С. 819–825.

Шуляковская Т. А., Ильинова М. К., Карелина Т. В. Липидный состав тканей ствола *Betula pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Betulaceae) // Растительные ресурсы. 2014. Т. 50, № 1. С. 94–104.

El-Beltagi H. S., Mohamed A. A., Mekki B. B. Differences in some constituents, enzymes activity and electrophoretic characterization of different rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars // Ann Univ Oradea – Fascicle Biol. Tom. 2011. Vol. 18, no. 1. P. 39–46.

Gechev T., Willekens H., Van Montagu M., Inze D., Van Camp W., Toneva V., Minkov I. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress // J. Plant Physiol. 2003. Vol. 160, no. 5. P. 509–515. doi: 10.1078/0176-1617-00753

Hugly S., Somerville C. A role for membrane lipid polyunsaturation in chloroplast biogenesis at low temperature // Plant Physiology. 1992. Vol. 99, no. 1. P. 197–202.

Korner C. Alpine plant life: Functional plant ecology of high mountain ecosystems. Berlin, Germany: Springer Verlag, 1999. P. 101–114.

Laskay G., Lehoczki E. Correlation between linolenic-acid deficiency in chloroplast membrane lipids and decreasing photosynthetic activity in barley // Biochimic. Biophys. Acta. 1986. Vol. 849, no. 1. P. 77–84. doi: 10.1016/0005-2728(86)90098-8

Levitt J. Responses of plants to environmental stress. Chilling, freezing and high temperatures stresses. New York: Acad. Press, 1980. Vol. 1. P. 163–166.

Li W., Wang R., Li M., Li L., Wang C., Welti R., Wang X. Differential degradation of extraplastidic and plastidic lipids during freezing and post-freezing recovery in *Arabidopsis thaliana* // Journal of Biological Chemistry. 2008. Vol. 283, no. 1. P. 461–468. doi: 10.1074/jbc.M706692200

Lütz C., Bergweiler P., Di Piazza L., Holzinger A. Cell organelle structure and function in alpine and polar plants are influenced by growth conditions and climate. Plants in alpine regions / Eds. C. Lütz, Wien: Springer, 2012. P. 43–60.

Matsuda O., Iba K. Trienoic fatty acids and stress response in higher plants // Plant Biotechnology. 2005. Vol. 22, no. 5. P. 423–430. doi: 10.5511/plantbiotechnology.22.423

Namdjoyan S. H., Khavari-Nejad R. A., Bernard F., Nejadstari T., Shaker H. Antioxidant Defense Mechanisms in Response to Cadmium Treatments in Two Saf-flower Cultivars // Russ. J. Plant Physiol. 2011. Vol. 58, no. 3. P. 467–477. doi: 10.1134/S1021443711030149

Nazari M. R., Habibpour Mehraban F., Maali Amiri R., Zeinali Khaneghah H. Change in antioxidant responses against oxidative damage in black chickpea following cold acclimation // Russ. J. Plant Physiol. 2012. Vol. 59, no. 2. P. 183–189. doi: 10.1134/S102144371201013X

Nimaeva O. D., Pradedova E. V., Salyaev R. K. Activity and isoenzyme composition of vacuolar peroxidase in the roots of red beet at different stages of development and upon changes in storage conditions // Russ. J. Plant Physiol. 2014. Vol. 61, no. 3. P. 324–331. doi: 10.1134/S1021443714030108

Rivero R. M., Ruiz J. M., Garcia P. C., López-Lefebvre L. R., Sánchez E., Romero L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants // Plant Sci. 2001. Vol. 160, no. 2. P. 315–321. doi: 10.1016/S0168-9452(00)00395-2

Ronning O. I. The flora of Svalbard. Norsk Polarinst. Polarhåndbok, Oslo, 1996. 184 p.

Routaboul J. H., Fischer S. F., Browse J. Trienoic fatty acids are required to maintain chloroplast function at low temperatures // Plant Physiol. 2000. Vol. 124, no. 4. P. 1697–1705. doi: 10.1104/pp.124.4.1697

Sakai A., Larcher W. Frost Survival of Plants: Response and Adaptation to Freezing Stress. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1987. doi: 10.1007/978-3-642-71745-1

Schmid K. M., Ohlrogge J. B. Lipid metabolism in plants / Eds. D. E. Vance, J. E. Vance. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, 2002. P. 93–126.

Upchurch R. G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plant to stress // *Bio-technology Letters*. 2008. Vol. 30, no. 6. P. 967–977. doi: 10.1007/s10529-008-9639-z

Wallis J. G., Browse J. Mutants of Arabidopsis reveal many roles for membrane lipids // *Progress in Lipid Research*. 2002. Vol. 41, no. 3. P. 354–278. doi: 10.1016/S0163-7827(01)00027-3

References

Alaudinova E. V., Mironov P. V. Lipidy meristem lesoobrazuyushchikh khvoynykh porod central'noj Sibiri v usloviyakh nizkotemperaturnoj adaptacii. 2. Osobennosti metabolizma zhirnykh kislot fosfolipidov meristem *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. i *Pinus sylvestris* L. [Lipids of forest-forming coniferous species meristems of the Central Siberia under low-temperature adaptation. 2. Features of fatty acids metabolism of *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. and *Pinus sylvestris* L. meristems phospholipids]. *Himiya rastitel'nogo syr'ya* [Chem. of Crude Plants]. 2009. No. 2. P. 71–76.

Galibina N. A., Moshkina E. V., Nikerova K. M., Moshchenskaya Yu. L., Znamenskii S. R. Aktivnost' peroksidazy kak indikator stepeni uzorchatosti drevesiny karelskoy berezy [Peroxidase activity indicates veining of the curly birch]. *Lesovedenie* [Russ. Journal of Forest Sci.]. 2016. No. 4. P. 294–304.

Gerasimenko T. V., Shvetsova V. M. Osnovnye itogi ekologo-fiziologicheskikh issledovaniy fotosinteza v Arktike [Main results of ecological and physiological research on photosynthesis in the Arctic]. *Ekologo-fiziologicheskie issledovaniya fotosinteza i dykhaniya rastenii* [Ecological and Physiological Research on Photosynthesis and Respiration of Plants]. Leningrad: Nauka, 1989. P. 65–114.

Los' D. A. Desaturazy zhirnykh kislot [Fatty acid desaturases]. Moscow: Nauchnyj mir, 2014. 372 p.

Los' D. A. Struktura, regulyatsiya ehkspressii i funktsionirovaniya desaturaz zhirnykh kislot [Structure, regulation of expression and functioning of fatty acid desaturases]. *Uspekhi biologicheskoy khimii* [Biological Chemistry Rev.]. 2001. Vol. 41. P. 163–169.

Markovskaya E. F., Sysoeva M. I., Sherudilo E. G. Kratkovremennaya gipotermiya i rastenie [Short-term hypothermia and plants]. Ed. N. P. Chernobrovkina. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2013. 194 p.

Miroshnichenko O. S. Biogenez, fiziologicheskaya rol' i svoystva katalazy [The biogenesis, physiological role, and properties of catalase]. *Biopolymers and Cell*. 1992. Vol. 8, no. 6. P. 3–25. doi: 10.7124/bc.00033C

Nikerova K. M., Galibina N. A. Vliyanie nitratnogo azota na peroksidaznuyu aktivnost' v tkanyakh *Betula pendula* Roth var. *pendula* i *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) [The influence of nitrate on peroxidase activity in tissues of the *Betula pendula* Roth var. *pendula* and *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin)]. *Sibirskiy lesnoy zhurnal* [Siberian Journal of Forest Sci.]. 2017. No. 1. P. 15–24.

Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L., Podgornaya M. N., Sofronova I. N. Katalaznaya aktivnost' v listovom apparate

Zheng G., Tian B., Zhang F., Tao F., Li W. Plant adaptation to frequent alterations between high and low temperatures: remodeling of membrane lipids and maintenance of unsaturation levels // *Plant Cell Environ*. 2011. Vol. 34, no. 9. P. 1431–1442. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02341.x

Поступила в редакцию 25.01.2017

u seyantsev berezy povisloj raznykh form (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* i var. *carelica* (Mercklin) [Catalase activity in leaves of the silver birch seedlings of different forms (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* and var. *carelica* (Mercklin)]. *Trudy KarNTC RAN* [Trans. of KarRC of RAS]. 2016. No. 11. P. 68–77. doi: 10.17076/eb460

Pavlova V. A., Nefed'eva E. Eh., Lysak V. I., Shajhiev I. G. Vliyanie impul'snogo davleniya na nekotorye biokhimicheskie protsessy semyan grechikhi pri prorstanii [Impact of impulse pressure on some biochemical processes in germinating seeds of the buckwheat]. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta* [Herald of Kazan Tech. Un.]. 2014. Vol. 17, no. 21. P. 199–203.

Pradedova E. V., Isheeva O. D., Salyaev R. K. Fermenty antioksidantnoi zashchity vakuolei korneplodov stolovoi svekly [Antioxidant defense enzymes in cell vacuoles of red beet roots]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. Journal of Plant Physiol.]. 2011. Vol. 58, no. 1. P. 36–44. doi: 10.1134/S1021443711010110

Rodionov V. S. Vliyanie nizkikh temperatur na lipidnyj obmen i fazovye perekhody v membranakh. Ekologo-fiziologicheskie mekhanizmy ustojchivosti rastenij k dejstviyu ekstremal'nykh temperatur [Influence of low temperatures on lipid exchange and phase transitions in membranes. Ecological and physiological mechanisms of plants resistance to extreme temperatures impact]. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1978. P. 37–57.

Shmakova N. Yu., Markovskaya E. F. Fotosinteticheskie pigmenty rastenii i lishainikov arkticheskikh tundr Zapadnogo Shpitsbergena [Photosynthetic pigments of plants and lichens inhabiting Arctic tundra of West Spitsbergen]. *Fiziologiya rastenii* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2010. Vol. 57, no. 6. P. 819–825.

Shulyakovskaya T. A., Il'inova M. K., Karelina T. V. Lipidnyj sostav tkanej stvola *Betula pendula* i *B. pendula* var. *carelica* (*Betulaceae*) [Lipid composition in trunk tissues of the *Betula pendula* and *B. pendula* var. *carelica* (*Betulaceae*)]. *Rastitel'nye resursy* [Plant Resources]. 2014. Vol. 50, no. 1. P. 94–104.

Sin'kevich M. S., Deryabin A. N., Trunova T. I. Osobennosti oksilitel'nogo stressa u rastenii kartofelya s izmenennym uglevodnym metabolizmom [Characteristics of oxidative stress in potato plants with modified carbohydrate metabolism]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. Journal of Plant Physiol.]. 2009. Vol. 56, no. 2. P. 168–174. doi: 10.1134/S1021443709020046

Zhirov V. K., Merzlyak M. N. Vozdejstvie nizkikh temperatur na izmenenie stepeni povrezhdeniya membran i intensivnost' peroksidatsii lipidov u gorokha,

podvergshegosya holodovomu zakalivaniyu [Impact of low temperatures on membranes damage degree and intensity of lipids peroxidation in peas under cold hardening]. *Biologicheskie nauki [Biological Sciences]*. 1983. No. 2. P. 77–82.

El-Beltagi H. S., Mohamed A. A., Mekki B. B. Differences in some constituents, enzymes activity and electrophoretic characterization of different rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars. *Ann Univ Oradea – Fascicle Biol Tom*. 2011. Vol. 18, no. 1. P. 39–46.

Gechev T., Willekens H., Van Montagu M., Inze D., Van Camp W., Toneva V., Minkov I. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress. *J. Plant Physiol*. 2003. Vol. 160, no. 5. P. 509–515. doi: 10.1078/0176-1617-00753

Hugly S., Somerville C. A role for membrane lipid polyunsaturation in chloroplast biogenesis at low temperature. *Plant Physiology*. 1992. Vol. 99, no. 1. P. 197–202.

Korner C. Alpine plant life: Functional plant ecology of high mountain ecosystems. Berlin, Germany: Springer Verlag, 1999. P. 101–114.

Laskay G., Lehoczki E. Correlation between linolenic-acid deficiency in chloroplast membrane lipids and decreasing photosynthetic activity in barley. *Biochimic. Biophys. Acta*. 1986. Vol. 849, no. 1. P. 77–84. doi: 10.1016/0005-2728(86)90098-8

Levitt J. Responses of plants to environmental stress. Chilling, freezing and high temperatures stress. New York: Acad. Press, 1980. Vol. 1. P. 163–166.

Li W., Wang R., Li M., Li L., Wang C., Welti R., Wang X. Differential degradation of extraplastidic and plastidic lipids during freezing and post-freezing recovery in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*. 2008. Vol. 283, no. 1. P. 461–468. doi: 10.1074/jbc.M706692200

Lütz C., Bergweiler P., Di Piazza L., Holzinger A. Cell organelle structure and function in alpine and polar plants are influenced by growth conditions and climate. *Plants in alpine regions*. Ed. C. Lütz, Wien: Springer, 2012. P. 43–60.

Matsuda O., Iba K. Trienoic fatty acids and stress responsis in higher plants. *Plant Biotechnology*. 2005. Vol. 22, no. 5. P. 423–430. doi: 10.5511/plantbiotechnology.22.423

Namdjoyan S. H., Khavari-Nejad R. A., Bernard F., Nejadstattari T., Shaker H. Antioxidant Defense Mechanisms in Response to Cadmium Treatments in Two

Safflower Cultivars. *Russ. J. Plant Physiol*. 2011. Vol. 58, no. 3. P. 467–477. doi: 10.1134/S1021443711030149

Nazari M. R., Habibpour Mehraban F., Maali Amiri R., Zeinali Khaneghah H. Change in antioxidant responses against oxidative damage in black chickpea following cold acclimation. *Russ. J. Plant Physiol*. 2012. Vol. 59, no. 2. P. 183–189. doi: 10.1134/S102144371201013X

Nimaeva O. D., Pradedova E. V., Salyaev R. K. Activity and isoenzyme composition of vacuolar peroxidase in the roots of red beet at different stages of development and upon changes in storage conditions. *Russ. J. Plant Physiol*. 2014. Vol. 61, no. 3. P. 324–331. doi: 10.1134/S1021443714030108

Rivero R. M., Ruiz J. M., Garcia P. C., López-Lefebvre L. R., Sánchez E., Romero L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Sci*. 2001. Vol. 160, no. 2. P. 315–321. doi: 10.1016/S0168-9452(00)00395-2

Ronning O. I. The flora of Svalbard. Norsk Polarinst. Polarhåndbok, Oslo, 1996. 184 p.

Routaboul J. H., Fischer S. F., Browse J. Trienoic fatty acids are required to maintain chloroplast function at low temperatures. *Plant Physiol*. 2000. Vol. 124, no. 4. P. 1697–1705. doi: 10.1104/pp.124.4.1697

Sakai A., Larcher W. Frost Survival of Plants: Response and Adaptation to Freezing Stress. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1987. doi: 10.1007/978-3-642-71745-1

Schmid K. M., Ohlrogge J. B. Lipid metabolism in plants. Eds. D. E. Vance, J. E. Vance. *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, 2002. P. 93–126.

Upchurch R. G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plant to stress. *Biotechnology Letters*. 2008. Vol. 30, no. 6. P. 967–977. doi: 10.1007/s10529-008-9639-z

Wallis J. G., Browse J. Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids. *Progress in Lipid Research*. 2002. Vol. 41, no. 3. P. 354–278. doi: 10.1016/S0163-7827(01)00027-3

Zheng G., Tian B., Zhang F., Tao F., Li W. Plant adaptation to frequent alterations between high and low temperatures: remodeling of membrane lipids and maintenance of unsaturation levels. *Plant Cell Environ*. 2011. Vol. 34, no. 9. P. 1431–1442. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02341.x

Received January 25, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Марковская Евгения Федоровна

зав. кафедрой ботаники и физиологии растений
Института биологии, экологии и агротехнологий,
д. б. н., проф.
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: volev10@mail.ru
тел.: (8142) 711019

CONTRIBUTORS:

Markovskaya, Evgeniya

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: volev10@mail.ru
tel.: (8142) 711019

Галибина Наталия Алексеевна

зав. аналитической лабораторией, к. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: galibina@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Ильинова Мария Казимировна

научный сотрудник аналитической лаборатории, к. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
тел.: (8142) 768160

Никерова Ксения Михайловна

младший научный сотрудник аналитической лаборатории
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: knikerova@yandex.ru
тел.: (8142) 768160

Шмакова Наталья Юрьевна

руководитель сектора экофизиологии, д. б. н.
Полярно-альпийский ботанический сад-институт
им. Н. А. Аврорина Кольского научного центра РАН
ул. Ботанический сад, Кировск, Мурманская область
Россия, 184256
эл. почта: shmanatalya@yandex.ru
тел.: (81531) 51436

Galibina, Natalia

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: galibina@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 768160

Ilyinova, Maria

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
tel.: (8142) 768160

Nikerova, Kseniya

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: knikerova@yandex.ru
tel.: (8142) 768160

Shmakova, Natalia

Polar-Alpine Botanical Garden-Institute,
Kola Science Centre, Russian Academy of Sciences
e-mail: shmanatalya@yandex.ru
tel.: (81531) 51436

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА *SOLANACEA*

Т. Г. Шибаета, А. Ф. Титов

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Исследовано влияние круглосуточного освещения в период пререпродуктивного развития растений на пигментный комплекс и фотосинтетическую активность листьев у трех видов сем. *Solanaceae* – *Solanum lycopersicum* L., *Solanum melongena* L. и *Capsicum annuum* L. Показано, что в условиях круглосуточного освещения у растений томата и баклажана происходят определенные изменения в пигментном комплексе (уменьшение содержания хлорофилла, увеличение соотношения хлорофиллов *a/b*, редукция ССК), направленные на снижение поглощения света фотосинтетическим аппаратом. Происходящие при этом фотоповреждения проявляются в форме межжилкового хлороза у листьев томата и некротических пятен на листьях баклажана. У перца снижение содержания хлорофиллов не происходило, напротив, отмечено даже некоторое его увеличение, однако листья имели деформации в виде морщинистости. По-видимому, более высокое содержание в листьях перца каротиноидов, обладающих фотопротекторными свойствами, защищает его фотосинтетический аппарат от негативного влияния избыточного поступления световой энергии. Обсуждаются возможные причины фотоповреждения листьев, обусловленные круглосуточным освещением растений. Среди них рассматриваются такие, как гипераккумуляция крахмала, постоянное фотоокислительное воздействие, сигнальное воздействие на фоторецепторы, несоответствие между частотой внутренних (циркадных) биоритмов и внешним циклом свет/темнота (циркадная асинхрония). Помимо этого предполагается еще одна возможная причина депигментации растений в условиях неблагоприятного светового режима, имеющая генетическую природу, – наличие у некоторых видов (экотипов, генотипов) светочувствительного мутантного гена(ов), который в обычных условиях не проявляет себя, так как находится в супрессированном состоянии, а мутантные растения при этом фенотипически не отличаются от обычных и вследствие этого скрыты от действия естественного отбора. Избыточное (в частности, круглосуточное) освещение вызывает у таких растений инактивацию белка-супрессора, контролируемого геном-супрессором, а соответственно, дерепрессию мутантного гена(ов) и, как следствие, депигментацию листьев растений. В этом случае хлороз листьев и, возможно, некроз, наблюдаемые в условиях круглосуточного освещения у чувствительных к избыточному свету видов растений (экотипов, генотипов), могут являться проявлением супрессированной светозависимой хлорофиллдефектности.

Ключевые слова: *Solanum lycopersicum* L., *Solanum melongena* L., *Capsicum annuum* L., круглосуточное освещение, фотосинтетические пигменты, хлороз, некроз.

T. G. Shibaeva, A. F. Titov. EFFECT OF CONTINUOUS LIGHT ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN SOLANACEAE SPECIES

Photosynthetic pigments and photosynthetic activity of three *Solanacea* species – *Solanum lycopersicum* L., *Solanum melongena* L. and *Capsicum annuum* L. in response to continuous lighting (CL) during pre-reproductive period were studied. It is shown that CL resulted in decreased chlorophyll content, increased chlorophyll *a/b* ratios, reduced light-harvesting complex II in tomato and eggplant. These changes were aimed to reduce light absorption efficiency per unit leaf area. CL-induced leaf injuries were seen as interveinal chlorosis in tomato and necrotic spots in eggplant. Sweet pepper plants did not show a reduction in chlorophyll content. On the contrary, some increase in chlorophyll content was observed, although pepper leaves had some deformations (wrinkles). A higher concentration of carotenoids possessing photoprotective properties in pepper leaves probably protects the photosynthetic apparatus of this species from adverse excessive lighting. Possible reasons of CL-induced leaf injuries are discussed, among them are the continuous energy supply for photosynthesis, continuous photooxidative stress, continuous signalling to the photoreceptors and a mismatch between the internal circadian clock frequency and the external light/dark cycle known as circadian asynchrony. We suppose that another possible cause of leaf depigmentation under unfavorable light conditions may be of genetic nature. Some species (ecotypes, genotypes) may have a photosensitive mutant gene, which is normally suppressed and does not manifest itself, wherefore mutant plants phenotypically do not differ from normal (wild type) plants. In such plants, excessive lighting may cause inactivation of the suppressor protein controlled by suppressor gene and, consequently, de-repression of the mutant gene, resulting in leaf depigmentation. In this case, CL-induced chlorosis and possibly necrosis in CL-sensitive plant species (ecotypes, genotypes) can be considered as a manifestation of suppressed light-dependent chlorophyll deficiency.

Keywords: *Solanum lycopersicum* L.; *Solanum melongena* L.; *Capsicum annuum* L.; continuous lighting; photosynthetic pigments; chlorosis; necrosis.

Введение

Наличие света является обязательным условием для нормальной жизнедеятельности всех фотосинтезирующих организмов, трансформирующих и запасующих энергию солнечной радиации в химических связях органических соединений. Вместе с тем свет является агрессивным фактором, способным в определенных случаях вызывать фотоингибирование, фотодинамическое разрушение фотосинтетического аппарата (ФСА) и даже гибель клеток [Demmig-Adams, Adams, 1992; Long et al., 1994]. Подобная ситуация может, например, возникать при выращивании растений в условиях защищенного грунта, где увеличение фотопериода (досветка), и в том числе круглосуточное освещение, является одним из способов повышения продуктивности растений [Demers et al., 1998; Sysoeva et al., 2010; Velez-Ramirez et al., 2011], особенно в зимнее время [Dorais, Gosselin, 2002]. Однако данный прием не всегда приводит к желаемому результату, и в литературе имеются многочисленные данные о негативном влиянии длинных фотопериодов (более

17–20 ч) на рост и продуктивность растений [Demers, Gosselin, 2002; Sysoeva et al., 2010; Velez-Ramirez et al., 2011]. Более того, у многих видов растений в условиях 24 ч фотопериода развивается межжилковый хлороз или некроз. В частности, симптомы светового повреждения листьев при круглосуточном освещении отмечены у таких тепличных культур, как томат [Arthur et al., 1930; Arthur, 1936; Hillman, 1956; Cushman et al., 1995], баклажан [Murage et al., 1996], сладкий перец [Nilwik, 1981], огурец [Wolff, Langerud, 2006], и некоторых других. Причем не только отдельные виды, но и сорта, например листового салата [Koonts, Prince, 1986], могут заметно различаться по своей чувствительности к круглосуточному освещению.

Несмотря на то что феномен светового повреждения листьев в условиях круглосуточного света был описан более 80 лет назад [Arthur et al., 1930; Arthur, 1936], причины повреждений и механизмы реакции растений на длинные фотопериоды до сих пор остаются предметом дискуссий [Sysoeva et al., 2010; Velez-Ramirez et al., 2011, 2014]. К сожалению, корректное сопоставление результатов разных исследований

провести довольно сложно из-за несовпадения условий эксперимента, сопутствующих 24-часовому фотопериоду (спектральный состав света, суточный интеграл радиации, температура, влажность и пр.) и способных оказывать то или иное влияние на реакцию растений на круглосуточное освещение [Sysoeva et al., 2010].

Исходя из вышесказанного, в задачу настоящей работы входило изучение влияния круглосуточного освещения на пигментный комплекс и фотосинтетическую активность листьев у трех видов сем. *Solanaceae* – томата, баклажана и перца.

Материалы и методы

Объектами исследования служили растения томата (*Solanum lycopersicum* L., гибрид Верлиока), баклажана (*Solanum melongena* L., сорт Алмаз) и сладкого перца (*Capsicum annuum* L., сорт Нежность). Семена высевали

в контейнеры с субстратом (торф, дерновая земля, навоз – 2:1:1) и выращивали в камерах искусственного климата в течение 5 (томат) или 7 (баклажан, перец) недель при фотопериоде 16 или 24 ч, температуре 26 °С, освещенности 150 мкмоль/(м²·с) ФАР, влажности воздуха 70 %. Суточный интеграл радиации при фотопериодах 16 и 24 ч составлял 8,64 и 12,96 моль/(м²·сут) соответственно. Ежедневно производили полив водой, а раз в две недели – корневую подкормку 0,2%-м раствором удобрения «Растворин» (ОАО «Буйский химический завод»): N – 10 %, в т. ч. N-NH₄ – 5 %, N-NO₃ – 5 %; P₂O₅ – 5 %; K₂O – 20 %; MgO – 5 %; Zn – 0,01 %; Cu – 0,01 %; Mn – 0,1 %; Mo – 0,001 %; B – 0,01 %.

Для исследования содержания фотосинтетических пигментов брали пробы из пятого листа ($n=5$). Содержание хлорофилла (хл) *a* и *b* и каротиноидов (кар) определяли с помощью спектрофотометра СФ-2000 («Спектр»,

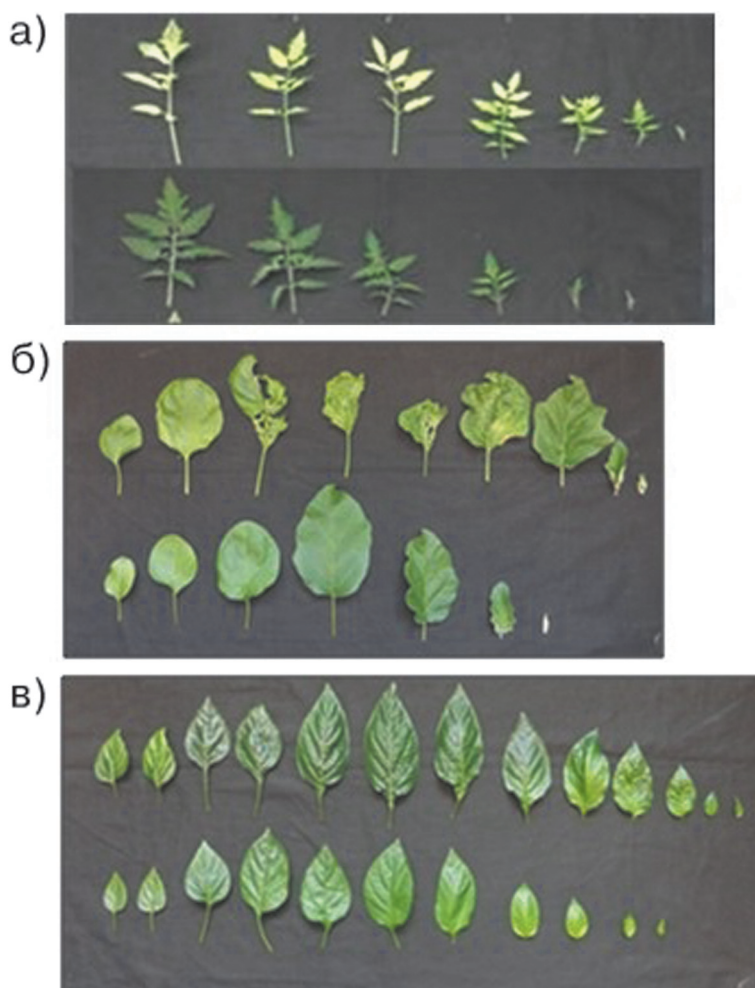


Рис. 1. Внешний вид листьев томата (а), баклажана (б) и перца (в), выращенных при 16-часовом фотопериоде (нижние ряды) и 24-часовом фотопериоде (верхние ряды)

Содержание фотосинтетических пигментов и показатели флуоресценции хлорофилла у растений томата, баклажана и перца, выращенных в условиях разных фотопериодов

Показатель	<i>Solanum lycopersicum</i>		<i>Solanum melongena</i>		<i>Capsicum annuum</i>	
	фотопериод		фотопериод		фотопериод	
	16 ч	24 ч	16 ч	24 ч	16 ч	24 ч
Содержание хл <i>a+b</i> , мг/г сух веса	16,4 ± 0,4	8,1 ± 3,1	15,0 ± 0,9	12,6 ± 0,7	18,9 ± 1,1	23,8 ± 1,2
Содержание хл <i>a+b</i> , усл. ед. SPAD	40 ± 1	18 ± 7	41 ± 1	36 ± 3	46 ± 4	52 ± 3
Отношение хл <i>a/b</i>	2,4 ± 0,1	3,3 ± 0,1	2,7 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1
Содержание кар, мг/г сух веса	1,7 ± 0,1	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,1	1,5 ± 0,2	4,2 ± 0,1	6,8 ± 0,2
Отношение хл/кар	9,6 ± 0,2	4,5 ± 0,3	8,3 ± 0,1	8,6 ± 0,5	4,5 ± 0,2	3,5 ± 0,2
ССК, %	64 ± 1	52 ± 2	59 ± 1	56 ± 1	47 ± 1	34 ± 3
Повреждения листьев	нет	хлороз	нет	хлороз, некроз	нет	деформация
F_v/F_m	0,818 ± 0,005	0,699 ± 0,075	0,814 ± 0,004	0,767 ± 0,025	0,812 ± 0,004	0,798 ± 0,005
Φ	0,726 ± 0,004	0,679 ± 0,021	0,718 ± 0,006	0,634 ± 0,039	0,674 ± 0,018	0,586 ± 0,038

Россия), экстрагируя их 96%-м этиловым спиртом и рассчитывая по известным формулам [Lichtenthaler, 1987]. Общее содержание хлорофилла *a* и *b* определяли также с помощью измерителя уровня хлорофилла SPAD 502 Plus (Konica Minolta, Osaka, Япония) ($n=10$). Содержание хлорофилла в светособирающем комплексе (ССК) оценивали по соотношению хлорофиллов *a* и *b* в ССК [Lichtenthaler, 1987].

Для измерений флуоресценции хлорофилла использовали анализатор фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением (MINI-PAM, Walz, Германия). Определяли потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) после 20-минутной темновой адаптации листьев и реальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (Φ) у листьев ($n=6$), предварительно освещенных в течение не менее 20 мин (155 мкмоль/(м²·с) ФАР).

Весь опыт повторяли дважды. В таблице представлены средние значения и их стандартные ошибки. Разницу между средними значениями считали значимой при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты показывают, что круглосуточное освещение приводит к значительному снижению содержания хлорофиллов *a* и *b* и развитию сильного межжилкового хлороза в листьях томата (табл.; рис. 1, 2). У листьев баклажана наряду с хлоротичными участками наблюдался некроз, но снижение содержания хлорофилла было не таким значительным, как у томата. Возможно, это связано с тем, что в пробы для анализа содержания пигментов некротичные участки листьев не брали, а хлороз был не таким сильным, как у томата.

Известно, что содержание пигментов в зеленых (неповрежденных) участках листа может компенсировать потери хлорофилла в хлоротичных участках [Globig et al., 1997], что, по-видимому, и имело место в листьях баклажана. У перца снижение содержания хлорофилла в условиях круглосуточного освещения не наблюдалось, наоборот, отмечено даже некоторое его увеличение (табл.), однако листья имели деформации в виде морщинистости (рис. 1, 2). Отметим, что в условиях круглосуточного освещения у растений томата и баклажана происходило увеличение соотношения хлорофиллов *a/b* (табл.). При этом у всех трех видов доля хлорофилла в ССК была меньше в условиях 24-часового фотопериода (табл.).

Как известно, изменения в пигментном комплексе (уменьшение содержания хлорофилла, увеличение соотношения хлорофиллов *a/b*, редукция ССК), наблюдавшиеся при круглосуточном освещении, способны снижать поглощение света фотосинтетическим аппаратом, и они характерны для C_3 -видов при адаптации к высокой освещенности [Björkman, Holmgren, 1963]. В наших опытах эти изменения, по-видимому, служили одним из способов защиты от избыточного поступления световой энергии. Учитывая, что величина суточного интеграла радиации в условиях фотопериода 24 ч составляла 12,96 моль/(м²·с), что ниже уровня, рекомендуемого для коммерческого выращивания томата, баклажана и перца, – 20–30 моль/(м²·с) [Мое et al., 2006], логично полагать, что дегградация хлорофилла в данном случае является реакцией на длительный фотопериод, а не на суточный интеграл радиации.

Помимо изменений в пигментном комплексе у всех трех видов круглосуточное освещение



Рис. 2. Симптомы светового повреждения листьев томата (хлороз) (а), баклажана (некроз) (б) и сладкого перца (морщинистость) (в), выращенных в условиях круглосуточного освещения

привело к снижению значений потенциального (F_v/F_m) и реального (Φ) квантового выхода фотохимической активности ФС II. У томата и баклажана снижение значений F_v/F_m свидетельствует о значимых нарушениях в работе ФСА (фотоингибировании) [Lichtenthaler et al., 2005]. У перца величина F_v/F_m хотя и была ниже, чем в варианте с фотопериодом 16 ч, но находилась в пределах значений, соответствующих нормальной работе ФСА. Вопрос о том, является ли фотоингибирование стресс-реакцией или это защитно-приспособительная реакция, направленная на согласование световых реакций фотосинтеза со сложной и разветвленной последовательностью биохимических реакций, происходящих в темновой фазе фотосинтеза, остается пока дискуссионным [Osmond, Forster, 2006].

Отметим, что в отличие от томата и баклажана у перца при круглосуточном освещении наблюдалось снижение соотношения зеленых и желтых пигментов вследствие относительно более высокого содержания каротиноидов в фонде фотосинтетических пигментов (табл.). Даже в условиях фотопериода 16 ч содержание в листьях перца каротиноидов было выше более чем в два раза по сравнению с томатом и баклажаном. По-видимому, благодаря их фотопротекторным свойствам [Demmig-Adams, Adams, 1992; Demers, Gosselin, 2002] ФСА перца является более защищенным от негативного влияния длительного поступления световой энергии.

В противоположность обычному фотопериоду, включающему чередование дня и ночи, круглосуточное освещение обеспечивает непрерывное поступление световой энергии для фотосинтеза, постоянное фотоокислительное воздействие, сигнальное воздействие на фоторецепторы и несоответствие между частотой внутренних (циркадных) биоритмов и внешним циклом свет/темнота (циркадная асинхрония) [Velez-Ramirez et al., 2011]. Влияние каждого из

этих компонентов изучалось в ряде экспериментальных работ. Так, гипераккумуляция крахмала, являющаяся результатом непрерывно идущего фотосинтеза, долго рассматривалась как потенциальный триггер фотоповреждений листьев [Arthur et al., 1930; Dorais et al., 1996; Demers et al., 1998; Velez-Ramirez et al., 2011]. Изучение фотоингибирования и адаптации ФС I и ФС II растений томата в условиях круглосуточного освещения [Dorais et al., 1995] привело к выводу, что меньшая эффективность в получении преимуществ от длинных фотопериодов у томата по сравнению с перцем связана не с более низкой активностью фотосистем в результате их фотоингибирования, а скорее с нарушениями донорно-акцепторных отношений, которые в свою очередь обуславливают развитие хлороза листьев, что также подтверждается и исследованиями на культурном и диком томате [Nague et al., 2015]. Добавление дальнего красного света при круглосуточном освещении растений уменьшало степень повреждения листьев [Globig et al., 1997], предполагая вероятное участие в этих процессах фитохромной системы. В нескольких работах изучалась и роль циркадной асинхронии в развитии фотоповреждений листьев [Hillman, 1956; Velez-Ramirez et al., 2011]. Но поскольку влияние всех четырех компонентов круглосуточного освещения на растения происходит одновременно, сделать определенный вывод, какой из них отвечает за повреждения листьев, затруднительно. Возможно, фотоповреждения индуцируются всеми указанными компонентами, действующими в комбинации [Velez-Ramirez et al., 2011]. Высказано также предположение, что фотоповреждение листьев при круглосуточном освещении является результатом несбалансированного возбуждения ФС I и ФС II [Velez-Ramirez et al., 2014].

Наконец, еще одной возможной причиной депигментации растений в условиях

неблагоприятного светового режима, по аналогии с тем, как это имеет место в ситуации с супрессированной хлорофиллдефектностью [Олимпиенко и др., 1982], может быть, как мы предполагаем, наличие у некоторых видов (эко-типов, генотипов) светочувствительного мутантного гена(ов), который в обычных условиях не проявляет себя, так как находится в супрессированном состоянии, а мутантные растения при этом фенотипически не отличаются от обычных (растений дикого типа) и вследствие этого скрыты от действия естественного отбора. Избыточное (в частности, круглосуточное) освещение вызывает у таких растений инактивацию белка-супрессора, контролируемого геном-супрессором, и, соответственно, дерепрессию мутантного гена(ов). Лишенный «прикрытия» мутантный ген(ы) реализует себя через нарушение одного из звеньев в цепи биосинтеза хлорофилла, и, как следствие, происходит депигментация (хлороз) листьев. Таким образом, хлороз и, возможно, некроз, наблюдаемые в условиях круглосуточного освещения у чувствительных к избыточному свету видов растений (эко-типов, генотипов), могут быть проявлением супрессированной светозависимой хлорофиллдефектности.

В целом можно заключить, что независимо от того, какой из приведенных выше механизмов лежит в основе негативного влияния круглосуточного освещения на пигментный комплекс и работу ФСА, очень важно знать и учитывать особенности реакции разных видов (сортов) растений на досветку, с тем чтобы данный прием приводил к желаемому, а не к обратному эффекту.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ темы 0221-2014-0032).

Литература

Arthur J. M. Plant growth in continuous illumination // Biological effects of radiation / Ed. B. M. Duggar. Ney-York: McGraw-Hill Book Co, 1936. P. 715–725.

Arthur J. W., Guthrie J. D., Newell J. M. Some effects of artificial climates on the growth and chemical composition of plants // Amer. J. Bot. 1930. Vol. 17. P. 416–482.

Björkman O., Holmgren P. Adaptability of the Photosynthetic Apparatus to Light Intensity in Ecotypes from Exposed and Shaded Habitats // Physiol. Plant. 1963. Vol. 16. P. 889–914. doi: 10.1111/j.1399-3054.1963.tb08366.x

Cushman K. E., Tibbitts T. W., Sharkey T. D., Wise R. R. Constant-light injury of tomato: Temporal and spatial patterns of carbon dioxide assimilation, starch content, chloroplast integrity, and necrotic lesions // J. Am. Soc. Hortic. Sci. 1995. Vol. 120. P. 1032–1040.

Demers D. A., Dorais M., Wien H. C., Gosselin A. Effects of supplemental light duration on greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and fruit yields // Sci. Hort. 1998. Vol. 74. P. 295–306. doi: 10.1016/S0304-4238(98) 00097-1

Demers D. A., Gosselin A. Growing Greenhouse Tomato and Sweet Pepper under Supplemental Lighting: Optimal Photoperiod, Negative Effects of Long Photoperiod and their Causes // Acta Hort. 2002. Vol. 580. P. 83–88. doi: 10.17660/ActaHortic.2002.580.9

Demmig-Adams B., Adams W. W. III. Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1992. Vol. 43. P. 599–626. doi: 10.1146/annurev.pp.43.060192.003123

Dorais M., Carpentier R., Yelle S., Gosselin A. Adaptability of tomato and pepper leaves to changes in photoperiod: Effects on the composition and function of the thylakoid membrane // Physiol. Plant. 1995. Vol. 94. P. 692–700. doi: 10.1111/j.1399-3054.1995.tb00986.x

Dorais M., Gosselin A. Physiological Response of Greenhouse Vegetable Crops to Supplemental Lighting // Acta Hort. 2002. Vol. 580. P. 59–67. doi: 10.17660/ActaHortic. 2002.580.6

Dorais M., Yelle S., Gosselin A. Influence of extended photoperiod on photosynthate partitioning and export in tomato and pepper plants // New Zealand J. Crop Hortic. Sci. 1996. Vol. 24. P. 29–37. doi: 10.1080/01140671.1996.9513932

Globig S., Rosen I., Janes H. W. Continuous light effects on photosynthesis and carbon metabolism in tomato // Acta Hort. 1997. Vol. 418. P. 141–152. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.418.19

Haque M. S., Kjaer K. H., Rosenqvist E., Ottosen C.-O. Continuous light increases growth, daily carbon gain, antioxidants, and alters carbohydrate metabolism in a cultivated and a wild tomato species // Front. Plant Sci. 2015. Vol. 6. P. 522–532. doi: 10.3389/fpls.2015.00522

Hillman W. S. Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles // Am. J. Bot. 1956. Vol. 43. P. 89–96. doi: 10.2307/2438816

Koontz H. V., Prince R. P. Effect of 16 and 24 hours daily radiation (light) on lettuce growth // Hort. Sci. 1986. Vol. 21. P. 123–124.

Lichtenthaler N. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology / Eds. S. P. Colowick, N. O. Kaplan. San Diego: Acad. Press, 1987. Vol. 148. P. 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87) 48036-1

Lichtenthaler H., Buschmann C., Knapp M. How to correctly determine chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer // Photosynthetica. 2005. Vol. 43. P. 379–393. doi: 10.1007/s11099-005-0062-6

Long S. P., Humphries S., Falkowski P. G. Photoinhibition of Photosynthesis in Nature // Annu. Rev. Plant

Physiol. Plant Mol. Biol. 1994. Vol. 45. P. 633–662. doi: 10.1146/annurev.pp.45.060194.003221

Moe R., Grimstad S., Gislørød H. R. The use of artificial light in year round production of greenhouse crops in Norway // *Acta Hort.* 2006. Vol. 711. P. 35–42. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.711.2

Murage E., Watashiro N., Masuda M. Leaf chlorosis and carbon metabolism of eggplant in response to continuous light and carbon dioxide // *Sci. Hort.* 1996. Vol. 67. P. 27–37. doi: 10.1016/S0304-4238(96)00930-2

Nilwik H. J. M. Growth analysis of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) 2. Interacting effects of irradiance, temperature and plant age in controlled conditions // *Ann. Bot.* 1981. Vol. 48. P. 136–145.

Osmond B., Forster B. Photoinhibition: Then and Now. In: *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation, and Environment* / Eds. B. Demmig-Adams, W. W. III Adams, A. K. Mattoo. Dordrecht: Springer-Verlag, 2006. P. 11–22.

Sysoeva M. I., Markovskaya E. F., Shibaeva T. G. Plants under Continuous Light: a Review // *Plant Stress.* 2010. Vol. 4, no. 1. P. 5–17.

Velez-Ramirez A. I., van Ieperen W., Vreugdenhil D., Millenaar F. F. Plants under Continuous Light // *Trends in Plant Science.* 2011. Vol. 16, no. 6. P. 310–318. doi: 10.1016/j.tplants.2011.02.003

Velez-Ramirez A. I., van Ieperen W., Vreugdenhil D., van Poppel P. M. J. A., Heuvelink E., Millenaar F. F. A single locus confers tolerance to continuous light and allows substantial yield increase in tomato // *Nature Communications.* 2014. Vol. 5. P. 4549. doi: 10.1038/ncomms5549

Wolff S. A., Langerud A. Fruit Yield, Starch Content and Leaf Chlorosis in Cucumber Exposed to Continuous Lighting // *Europ. J. Hort. Sci.* 2006. Vol. 71. P. 259–261.

Поступила в редакцию 20.09.2016

References

Arthur J. M. Plant growth in continuous illumination. In: *Biological effects of radiation.* Ed. B. M. Duggar. New York: McGraw-Hill Book Co, 1936. P. 715–725.

Arthur J. W., Guthrie J. D., Newell J. M. Some effects of artificial climates on the growth and chemical composition of plants. *Amer. J. Bot.* 1930. Vol. 17. P. 416–482.

Björkman O., Holmgren P. Adaptability of the Photosynthetic Apparatus to Light Intensity in Ecotypes from Exposed and Shaded Habitats. *Physiol. Plant.* 1963. Vol. 16. P. 889–914. doi: 10.1111/j.1399-3054.1963.tb08366.x

Cushman K. E., Tibbitts T. W., Sharkey T. D., Wise R. R. Constant-light injury of tomato: Temporal and spatial patterns of carbon dioxide assimilation, starch content, chloroplast integrity, and necrotic lesions. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 1995. Vol. 120. P. 1032–1040.

Demers D. A., Dorais M., Wien H. C., Gosselin A. Effects of supplemental light duration on greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and fruit yields. *Sci. Hort.* 1998. Vol. 74. P. 295–306. doi: 10.1016/S0304-4238(98)00097-1

Demers D. A., Gosselin A. Growing Greenhouse Tomato and Sweet Pepper under Supplemental Lighting: Optimal Photoperiod, Negative Effects of Long Photoperiod and their Causes. *Acta Hort.* 2002. Vol. 580. P. 83–88. doi: 10.17660/ActaHortic.2002.580.9

Demmig-Adams B., Adams W. W. III. Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1992. Vol. 43. P. 599–626. doi: 10.1146/annurev.pp.43.060192.003123

Dorais M., Carpentier R., Yelle S., Gosselin A. Adaptability of tomato and pepper leaves to changes in photoperiod: Effects on the composition and function of the thylakoid membrane. *Physiol. Plant.* 1995. Vol. 94. P. 692–700. doi: 10.1111/j.1399-3054.1995.tb00986.x

Dorais M., Gosselin A. Physiological Response of Greenhouse Vegetable Crops to Supplemental Lighting. *Acta Hort.* 2002. Vol. 580. P. 59–67. doi: 10.17660/ActaHortic.2002.580.6

Dorais M., Yelle S., Gosselin A. Influence of extended photoperiod on photosynthate partitioning and export in tomato and pepper plants. *New Zealand J. Crop Hort. Sci.* 1996. Vol. 24. P. 29–37. doi: 10.1080/01140671.1996.9513932

Globig S., Rosen I., Janes H. W. Continuous light effects on photosynthesis and carbon metabolism in tomato. *Acta Hort.* 1997. Vol. 418. P. 141–152. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.418.19

Haque M. S., Kjaer K. H., Rosenqvist E., Ottosen C.-O. Continuous light increases growth, daily carbon gain, antioxidants, and alters carbohydrate metabolism in a cultivated and a wild tomato species. *Front. Plant Sci.* 2015. Vol. 6. P. 522–532. doi: 10.3389/fpls.2015.00522

Hillman W. S. Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles. *Am. J. Bot.* 1956. Vol. 43. P. 89–96. doi: 10.2307/2438816

Koontz H. V., Prince R. P. Effect of 16 and 24 hours daily radiation (light) on lettuce growth. *Hort. Sci.* 1986. Vol. 21. P. 123–124.

Lichtenthaler N. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes. In: *Methods in enzymology.* Eds. S. P. Colowick, N. O. Kaplan. San Diego: Acad. Press, 1987. Vol. 148. P. 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1

Lichtenthaler H., Buschmann C., Knapp M. How to correctly determine chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica.* 2005. Vol. 43. P. 379–393. doi: 10.1007/s11099-005-0062-6

Long S. P., Humphries S., Falkowski P. G. Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1994. Vol. 45. P. 633–662. doi: 10.1146/annurev.pp.45.060194.003221

Moe R., Grimstad S., Gislørød H. R. The use of artificial light in year round production of greenhouse crops in Norway. *Acta Hort.* 2006. Vol. 711. P. 35–42. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.711.2

Murage E., Watashiro N., Masuda M. Leaf chlorosis and carbon metabolism of eggplant in response to continuous light and carbon dioxide. *Sci. Hort.* 1996. Vol. 67. P. 27–37. doi: 10.1016/s0304-4238(96)00930-2

Nilwik H. J. M. Growth analysis of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) 2. Interacting effects of irradiance, temperature and plant age in controlled conditions. *Ann. Bot.* 1981. Vol. 48. P. 136–145.

Osmond B., Forster B. Photoinhibition: Then and Now. In: Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation, and Environment. Eds. B. Demmig-Adams, W. W. III Adams, A. K. Mattoo. Dordrecht: Springer-Verlag, 2006. P. 11–22.

Sysoeva M. I., Markovskaya E. F., Shibaeva T. G. Plants under Continuous Light: a Review. *Plant Stress.* 2010. Vol. 4, no. 1. P. 5–17.

Velez-Ramirez A. I., van Ieperen W., Vreugdenhil D., Millenaar F. F. Plants under Continuous Light. *Trends in Plant Science.* 2011. Vol. 16, no. 6. P. 310–318. doi: 10.1016/j.tplants.2011.02.003

Velez-Ramirez A. I., van Ieperen W., Vreugdenhil D., van Poppel P. M. J. A., Heuvelink E., Millenaar F. F. A single locus confers tolerance to continuous light and allows substantial yield increase in tomato. *Nature Communications.* 2014. Vol. 5. P. 45–49. doi: 10.1038/ncomms5549

Wolff S. A., Langerud A. Fruit Yield, Starch Content and Leaf Chlorosis in Cucumber Exposed to Continuous Lighting. *Europ. J. Hortic. Sci.* 2006. Vol. 71. P. 259–261.

Received September 30, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шibaева Татьяна Геннадиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: shibaeva@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706, +79214611116

Титов Александр Федорович

главный научный сотрудник отдела комплексных
научных исследований КарНЦ РАН, руководитель лаб.
экологической физиологии растений, чл.-корр. РАН,
д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Shibaeva, Tatyana

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: shibaeva@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762706, +79214611116

Titov, Alexander

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: titov@krc.karelia.ru

ЮБИЛЕИ И ДАТЫ

НИКОЛАЙ ВАСИЛЬЕВИЧ ЛАПШИН (к 70-летию со дня рождения)



Николай Васильевич Лапшин – доктор биологических наук, известный российский орнитолог, один из ведущих специалистов в стране по группе пеночек (птиц рода *Phylloscopus*). Николай Васильевич родился 8 октября 1946 г. в п. Бурмакино Ярославской области. В 1965 г. окончил школу и поступил на биолого-почвенный факультет Ленинградского государственного университета. С первых лет учебы он

начал заниматься орнитологическими исследованиями под руководством выдающегося орнитолога, профессора Алексея Сергеевича Мальчевского и уже в студенческие годы опубликовал свою первую научную работу. Большую помощь в освоении полевых методов изучения птиц ему оказывали молодые, но уже опытные орнитологи Георгий Александрович Носков и Владимир Борисович Зимин, и тесные дружеские отношения с ними Николай Васильевич пронес через всю свою жизнь. В 1970 г., после окончания университета, Н. В. Лапшин был призван в армию. В 1972 г., закончив службу, по приглашению В. Б. Зимина начал работать в лаборатории зоологии Института биологии Карельского научного центра РАН, где и продолжает трудиться до сих пор (в настоящее время – в должности ведущего научного сотрудника). В 1981 г. Николай Васильевич защитил кандидатскую диссертацию «Годовой цикл (размножение, линька и миграции) веснички *Phylloscopus trochilus* (L.) и его адаптивные особенности в условиях таежного северо-запада РСФСР», а в 2001 г. также успешно защитил докторскую диссертацию «Годовые циклы дальних трансконтинентальных мигрантов на примере воробьиных птиц рода *Phylloscopus*».

Помимо научной работы в институте Николай Васильевич всегда уделял время педагогической деятельности. Он читал разработанные им самим курсы лекций «Биология лесных птиц» на лесоинженерном факультете и «Биология и систематика охотничьих птиц» на эколого-биологическом факультете Петрозаводского государственного университета. Под его руководством были подготовлены многие

курсовые и дипломные работы студентов и защищены две кандидатские диссертации (первых авторов статьи). Мы, Мария Матанцева и Сергей Симонов, среди достоинств Николая Васильевича как научного руководителя хотели бы особо отметить отзывчивость, неравнодушие и предоставление им своим ученикам широких возможностей для реализации собственных идей и самостоятельной интерпретации данных.

Основные научные интересы Николая Васильевича охватывают сферу биологии и экологии птиц (прежде всего славковых, преимущественно пеночек), мониторинг весенних миграционных скоплений птиц (включая представителей ресурсных видов) и фаунистику. С особым вниманием уже более 40 лет Николай Васильевич проводит популяционно-экологические исследования дальних трансконтинентальных мигрантов (как правило, на примере пеночек Голарктики) и изучает адаптации их годовых циклов к различным условиям среды (особенно к условиям обитания на северной периферии ареалов). Свои заключения по изучаемым вопросам он основывает на данных, полученных посредством таких классических, хорошо зарекомендовавших себя подходов, как массовый отлов птиц, наблюдения за мечеными особями, многолетние стационарные и мониторинговые исследования. В последнее десятилетие Николай Васильевич дополнил комплекс применяемых в его работе традиционных зоолого-экологических методов аппаратом молекулярно-генетического анализа. Одним из первых ученых в нашей стране он в качестве руководителя группы, исследующей некоторые проблемы экологии птиц с помощью молекулярно-генетических методов, доказал факты скрытой полигамии (как полигинии, так и полиандрии в силу экстрапарных скрещиваний некоторых самок) в социально моногамных парах пеночек-весничек. Используя точные методы, группа Н. В. Лапшина выявила экстрапарное происхождение части потомков в гнездах птиц этого вида в исследуемых популяциях в Мурманской области, Карелии и Мордовии.

Николай Васильевич является членом Мензбирова орнитологического общества России и Рабочей группы по гусеобразным Северной Евразии. Он автор (соавтор) более 270 научных публикаций, включая 11 коллективных монографий. Несмотря на долгие годы служения науке, Николай Васильевич не останавливается на достигнутом и продолжает активную работу. Чтобы проводить исследования на современном уровне, ему удается добиться поддержки таких крупных фондов,

как РФФИ. В частности, за последние годы он был (и является в настоящее время) руководителем проектов, поддержанных РФФИ, №№ 06-05-64368-а и 15-05-03493-а. Как коллеги и ученики Николая Васильевича, мы хотим пожелать ему дальнейшей интересной и плодотворной работы, крепкого здоровья и удачи.

М. В. Матанцева, С. А. Симонов,
А. В. Артемьев

СПИСОК ОСНОВНЫХ НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ Н. В. ЛАПШИНА

Монографии

1990. Линька воробьиных птиц Северо-Запада СССР / Под ред. Т. А. Рымкевич. Л.: Изд-во ЛГУ. 394 с. (Очерки, написанные Н. В. Лапшиным: Пересмешка – *Hippolais icterina*. С. 88–90. Пеночка-весничка – *Phylloscopus trochilus*. С. 114–124. Пеночка-теньковка – *Phylloscopus collybita*. С. 124–128. Пеночка-трещотка – *Phylloscopus sibilatrix*. С. 128–133. Пеночка-таловка – *Phylloscopus borealis*. С. 133–135. Зеленая пеночка – *Phylloscopus trochiloides*. С. 135–137).

1993. Орнитофауна Карелии / Отв. ред. В. Б. Зимин. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН. 220 с. (Разделы, написанные Н. В. Лапшиным: Голенастые, Журавлеобразные, Козодоеобразные, Славковые, Канареечный вьюрок, Чиж, Снегирь).

1995. Красная книга Карелии. Редкие и нуждающиеся в охране растения и животные / Науч. ред. Э. В. Ивантер, О. Л. Кузнецов. Петрозаводск: Карелия. 289 с. (Очерки, написанные Н. В. Лапшиным: Белый аист. С. 156–157. Черный аист. С. 157–158. Малый лебедь. С. 158–159. Пискулька. С. 158–159. Беркут. С. 168–169. Серый журавль. С. 171–172).

2006. Survey of arctic bird migration and staging areas at the White Sea, in the autumns of 1999 and 2004. Helsinki: Finnish Environment Institute. 104 p. (Совместно с А. Lehtikoinen, А. Kondratyev, Т. Asanti, Е. Gustafsson, О. Lamminsalo, J. Pessa, Р. Rusanen.)

2007. Олонецкие весенние скопления птиц. Гуси. М.: Наука. 299 с. (Совместно с В. Б. Зиминим, А. В. Артемьевым, А. Р. Тюлиным.)

Карелия: Энциклопедия / Гл. ред. А. Ф. Титов. Т. 1. Петрозаводск: Петропресс. (Очерки, написанные Н. В. Лапшиным: Беркут *Aquila chrysaetus* L. С. 164–165. Воробьи Passer. С. 220. Воробьиные Passeriformes. С. 229. Врановые Corvidae. С. 232. Голенастые Ciconiiformes. С. 257. Гуси Anser, Branta. С. 257).

Красная книга Республики Карелии / Под ред. Э. В. Ивантера и О. Л. Кузнецова. Петрозаводск: Карелия. 368 с. (Очерки, написанные Н. В. Лапшиным: Отряд Аистообразные – Ciconiiformes Белый аист *Ciconia ciconia* (L.). С. 190–191. Отряд Аистообразные – Ciconiiformes Черный аист *Ciconia nigra* (L.). С. 191–192. Отряд Гусеобразные – Anseriformes Тундряной лебедь *Cygnus bewickii* Yarr. С. 192–193.

Отряд Гусеобразные – Anseriformes Пискулька *Anser erythropus* (L.). С. 193–194. Отряд Соколообразные – Falconiformes – Беркут *Aquila chrysaetus* (L.). С. 201–202. Отряд Журавлеобразные – Gruiformes Серый журавль *Grus grus* (L.). С. 204–205).

2009. Карелия: энциклопедия / Гл. ред. А. Ф. Титов. Петрозаводск: ПетроПресс. Т. 2. (Очерки, написанные Н. В. Лапшиным: Камышевки. С. 15. Клесты. С. 61–62. Козодои. С. 71. Кукушки. С. 121. Ласточки. С. 140. Лебеди. С. 143. Пеночки. С. 353. Перелетные птицы. С. 356–357. Пересмешки. С. 358).

2010. Мониторинг и сохранение биоразнообразия таежных экосистем Европейского Севера России / Под ред. П. И. Данилова. Глава 4. Фауна наземных позвоночных. 4.1. Птицы. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 310 с. (Разделы, написанные Н. В. Лапшиным или при его участии: Ресурсные виды птиц. Водоплавающие птицы (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым, Т. Ю. Хохловой). С. 105–125. Распределение и численность редких и охраняемых видов птиц (Совместно с А. В. Артемьевым, С. В. Сазоновым, В. Б. Зиминым, Т. Ю. Хохловой). С. 139–156. Общая характеристика миграций птиц Европейского Севера России по данным кольцевания. С. 156–158).

2011. Методические рекомендации по осуществлению на территории Республики Карелия мониторинга видов орнитофауны, занесенных в Красную книгу Российской Федерации. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 48 с. (Совместно с А. В. Артемьевым, С. А. Симоновым, М. В. Матанцевой.)

2016. Миграции птиц Северо-Запада России. Неворобьиные / Под ред. Г. А. Носкова, Т. А. Рымкевич, А. Р. Гагинской. СПб.: АНО ЛА «Профессионал». 656 с.

Статьи

1976. Биология гнездования пеночки-веснички в южной Карелии // Экология птиц и млекопитающих Северо-Запада СССР. Петрозаводск: КФ АН СССР. С. 28–38.

1978. Поведение пеночки-веснички в предгнездовой период // Фауна и экология птиц и млекопитающих Северо-Запада СССР. Петрозаводск: КФ АН СССР. С. 32–39.

1979. Ночная миграция птиц в 6 пунктах Беломоро-Балтийского пролетного пути в сентябре 1975 года // Динамика популяций позвоночных животных Латвийской ССР. Межведомственный сборник научн. трудов. Рига. С. 50–74. (Совместно с Я. А. Бауманисом, К. В. Большаковым, С. П. Резвым, С. В. Сазоновым, В. В. Яковлевым.)

Особенности биологии пеночки-веснички при обитании в высоких широтах // Адаптации животных и растительных организмов к условиям внешней среды. Петрозаводск. С. 16–18.

1981. Весенняя миграция пеночки-веснички *Phylloscopus trochilus* // Экология птиц Приладожья (Тр. БиНИИ ЛГУ. № 33). Л.: Изд-во ЛГУ. С. 86–100. (Совместно с С. П. Резвым, К. В. Большаковым.)

Постэмбриональный рост и развитие веснички на северо-западе РСФСР // Экология наземных

позвоночных северо-запада СССР. Петрозаводск. С. 38–49. (Совместно с Л. В. Лапшиной.)

Птицы Ладожского орнитологического стационара и его окрестностей // Экология птиц Приладожья (Тр. БиНИИ ЛГУ. № 33). Л.: Изд-во ЛГУ, 1981. С. 3–86. (Совместно с Г. А. Носковым, В. Б. Зиминым, С. П. Резвым, Т. А. Рымкевич, В. А. Голованем.)

1983. Факультативная полигиния у веснички *Phylloscopus trochilus* (L.) // Фауна и экология птиц и млекопитающих Северо-Запада СССР. Петрозаводск. С. 34–41.

1986. Соотношение циклов размножения и линьки у пеночек рода *Phylloscopus* в Карелии // Экология наземных позвоночных Северо-Запада РСФСР. Петрозаводск. С. 26–35.

Территориальное поведение веснички на Куршской косе Балтийского моря и в юго-восточном Приладожье // Актуальные проблемы орнитологии. М.: Наука. С. 190–206. (Совместно с Л. В. Соколовым, С. П. Резвым.)

1987. Годовой цикл (размножение, линька и миграции) веснички *Phylloscopus trochilus acredula* и его адаптивные особенности в условиях таежного северо-запада РСФСР // Исследования по фауне и экологии птиц Палеарктики. Ленинград. С. 34–52. (Труды Зоологического института АН СССР. Т. 163).

1988. Адаптивные особенности годовых циклов птиц, обитающих у северных границ ареала // Изучение и охрана птиц в экосистемах Севера. Владивосток: ДВО АН СССР. С. 60–67, 207–208. (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым, Т. Ю. Хохловой.)

1991. Осенняя миграция молодых пеночек-весничек *Phylloscopus trochilus* (L.) на северо-западе РСФСР // Экология наземных позвоночных. Петрозаводск: Карел. науч. центр АН СССР. С. 24–40.

Сезонные миграции пеночки-веснички (*Phylloscopus trochilus*) в европейской части СССР по данным кольцевания // Результаты кольцевания и мечения птиц: 1985. Москва: Наука. С. 42–57.

1994. Кольцевание птиц в Карелии // Территориальное поведение птиц. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН. С. 6–37. (Совместно с В. Б. Зиминым.)

1997. History and results of bird ringing in Republic Karelia (Russia) // The Ring. No. 19. P. 193–196. (Совместно с V. B. Zimin.)

Wetlands of the Olonetz Plain // Proc. of the First Seminar on the Topic "Study of the State & Trends of Migratory Birds Populations in Russia". М.; S.-Pb. P. 20–32. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev.)

1998. Report on Spring Bird Surveys in the Olonetz Fields in 1997 // Proc. of the Programme "Study of the State & Trends of Migratory Birds Populations in Russia". М. P. 36–46. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev.)

Wetlands of the Olonetz Plain // Proc. of the First Seminar on the Topic "Study of the State & Trends of Migratory Birds Populations in Russia". М.; S.-Pb. P. 20–32. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev.)

2000. Биология теньковки *Phylloscopus collybita* в Карелии // Русск. орнитол. журн. Экспресс-выпуск № 90. С. 3–27.

Biology of the Chiffchaff *Phylloscopus collybita* in the taiga zone of north-western Russia // Avian Ecol. Behav. Vol. 4. P. 1–30.

2001. Изучение годовых циклов дальних транс-континентальных мигрантов Палеарктики (на примере пеночек рода *Phylloscopus* Карелии) // Достижения и проблемы орнитологии Северной Евразии на рубеже веков: Тр. Международ. конф. «Актуальные пробл. изучения и охраны птиц Восточной Европы и Северной Азии». Казань: МАГАРИФ. С. 394–412.

Ecology of the Greenish Warbler *Phylloscopus trochoides* (Sund.) in Karelia // *Avian Ecol. Behav.* Vol. 6. P. 70–71.

Comparative characteristics of bird concentrations in the Olonets fields in the springs of 1997 and 1998 // Study of the Status and Trends of Migratory Bird Populations in Russia. S.-Pb. P. 7–18. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev.)

Study of gees aggregation and spring bird migration in the Olonets fields in 1999 // Study of the Status and Trends of Migratory Bird Populations in Russia. S.-Pb. P. 19–31. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev.)

2002. Результаты кольцевания птиц в Карелии // Кольцевание и мечение птиц в России и сопредельных государствах. 1988–1999 годы. М.: ИПЭИЭ. С. 73–116. (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым, Т. Ю. Хохловой.)

Birds of the islands in Onega Bay, White Sea (Birding tours) // *Natural and cultural heritage of the White Sea islands.* Petrozavodsk. P. 127–134.

Survey of spring bird migrations and stopovers in Olonets fields in Karelia // Study of the Status and Trends of Migratory Bird Populations in Russia (Fourth issue). S.-Pb.: World & Family. P. 18–28. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev.)

2003. Утки олонецких весенних скоплений птиц // Динамика популяций охотничьих животных Северной Европы. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН. С. 220–222. (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым, Н. Ю. Иваненко, А. Р. Тюлиным.)

Редкие виды водоплавающих птиц Ладожского озера // Динамика популяций охотничьих животных Северной Европы. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН. С. 112–116. (Совместно с А. В. Кондратьевым.)

Survey of spring bird migrations and stopovers in the Olonets fields in Karelia // *Dynamics of Game Animals Population in Northern Europe.* Petrozavodsk: KarRC of RAS. P. 211–216. (Совместно с V. B. Zimin, A. V. Artemjev, N. Yu. Ivanenko, A. R. Tyulin.)

2004. Биология зеленой пеночки, *Phylloscopus trochiloides* (Passeriformes, Sylviidae), в Карелии // Зоол. журн. Т. 83, № 6. С. 715–725.

О взаимоотношении обыкновенной кукушки *Cuculus canorus* с видами *Phylloscopus* на Северо-Западе России // Русск. орнитол. журн. Экспресс-выпуск № 272. С. 852–856.

2005. Биология гнездования пеночки-веснички в южной Карелии // Русск. орнитол. журн. Т. 14. Экспресс-выпуск № 302. С. 963–974.

Biology of the Wood Warbler *Phylloscopus sibilatrix* in the taiga zone of north-western Russia // *Avian Ecol. Behav.* Vol. 13. P. 25–46.

Материалы по совам Республики Карелия // Совы Северной Евразии. М.: Союз охраны птиц России, 2005. С. 46–57. (Совместно с Т. Ю. Хохловой,

М. В. Яковлевой, В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым, А. В. Суховым.)

2006. Spring migration of the Falconiformes fauna in the south of Russian Karelia // Status of Raptor Populations in Eastern Fennoscandia. Proceedings of the Workshop, Kostomuksha, Karelia, Russia, November 8–10, 2005. Petrozavodsk: KarRC of RAS. P. 91–96. (Совместно с A. V. Artemjev, V. B. Zimin.)

A review of rare diurnal raptor species breeding in Karelia // Status of raptor populations in eastern Fennoscandia. Proceedings of the Workshop November 8–10, 2005. Kostomuksha, Karelia, Russia. Petrozavodsk. P. 168–184. (Совместно с V. B. Zimin, S. V. Sazonov, A. V. Artemiev, N. V. Medvedev, T. Yu. Khokhlova, M. V. Yakovleva.)

2007. Управление численностью и размещением гусей и казарок на олонецких стоянках (Республика Карелия, Россия) во время весенней миграции // Динамика популяций охотничьих животных Северной Европы: Мат. IV межд. симпозиума. Петрозаводск. С. 204–208. (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым.)

2008. Олонецкие поля. Основные итоги работ 2008 года // Изучение миграций птиц и миграционных стоянок / Ред. Г. А. Носков, А. Р. Гагинская. СПб.: Изд-во ЦСИ. С. 70–71. (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым.)

Исследование механизмов функционирования периферийных популяций дальних трансконтинентальных мигрантов на примере воробьиных птиц Северной Европы // Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. № 1. С. 128–135. (Совместно с Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Н. П. Токаревой, Н. Л. Рендаковым.)

Материалы по размножению четырех видов пеночек *Phylloscopus* на севере Ленинградской области и в южной Карелии // Русск. орнитол. журн. Вып. 17, № 398. С. 156–157.

2009. Механизмы функционирования периферийных популяций дальних трансконтинентальных мигрантов на примере воробьиных птиц Северной Европы // Проблемы изучения и охраны животного мира на Севере. Сыктывкар. С. 129–132. (Совместно с М. В. Матанцевой, С. А. Симоновым, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Н. П. Токаревой.)

Specific Features of Annual Cycles in Long-Distance Migrant Birds Living at the Range Boundary: The Example of the Wood Warbler, *Phylloscopus sibilatrix*, in the Taiga Zone of Northwestern Russia // *Russian Journal of Ecology.* Vol. 40, no. 3. P. 199–205.

2010. Весенняя орнитофауна агроценозов окрестностей п. Шуи // Изучение динамики популяций мигрирующих птиц и тенденций их изменений на Северо-Западе России. Вып. 8. СПб.: Тускарора. С. 30–38. (Совместно с А. В. Артемьевым, В. Б. Зиминым, Т. Ю. Хохловой.)

Особенности многолетней динамики численности гусей рода *Anser* на весенних стоянках в окрестностях г. Олонца (Республика Карелия, Россия) // Вестник охотоведения. Т. 7, № 2. С. 234–237. (Совместно с А. В. Артемьевым, В. Б. Зиминым.)

2012. Особенности экологии мигрирующих воробьиных птиц, выявленные с использованием

методов молекулярной биологии // Поволжский экологический журнал. № 1. С. 53–64. (Совместно с Л. В. Топчиевой, М. В. Матанцевой, С. А. Симоновым, И. Е. Малышевой.)

2013. Адаптивные особенности годовых циклов птиц, обитающих у северных границ ареала // Русск. орнитол. журн. Т. 22. Экспресс-выпуск № 909. 2013. С. 2211–2219. (Совместно с В. Б. Зиминым, А. В. Артемьевым, Т. Ю. Хохловой.)

Ecological features of migrating Passerines (analysis with molecular biology techniques involved) // Biology Bulletin. 2013. Vol. 40, no. 10. P. 815–822. DOI: 10.1134/S1062359013100038. WOS: 000328282500003 (Совместно с L. V. Topchieva, M. V. Matantseva, S. A. Simonov, I. E. Malysheva, N. P. Kancerova.)

2014. Перспективы прогнозирования изменений численности гусей и казарок на весенних миграционных стоянках Карелии // Вестник охотоведения. Т. 11, № 2. С. 249–256. (Совместно с А. В. Артемьевым, С. А. Симоновым.)

Пути управления размещением и численностью гусей и казарок на весенних миграционных стоянках

// Вестник охотоведения. Т. 11, № 2. С. 244–248. (Совместно с А. В. Артемьевым, С. А. Симоновым.)

2015. Ethological aspects of biodiversity within and between *Phylloscopus* species: behavioral variation among birds from the centre and periphery of breeding ranges // Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis. Vol. 15, no. 1. P. 273–283. WOSUID: ZOOPEC: ZOOR15203018052 (Совместно с M. V. Matantseva, S. A. Simonov.)

Гнездование пеночки-веснички (*Phylloscopus trochilus*) в естественных и урбанизированных местобитаниях Карелии // Поволжский экологический журнал. № 2. С. 204–214. (Совместно с М. В. Матанцевой, С. А. Симоновым.)

2016. Особенности предгнездового поведения пеночек рода *Phylloscopus* в северной части ареала // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 3. Биология. Вып. 1. С. 100–115.

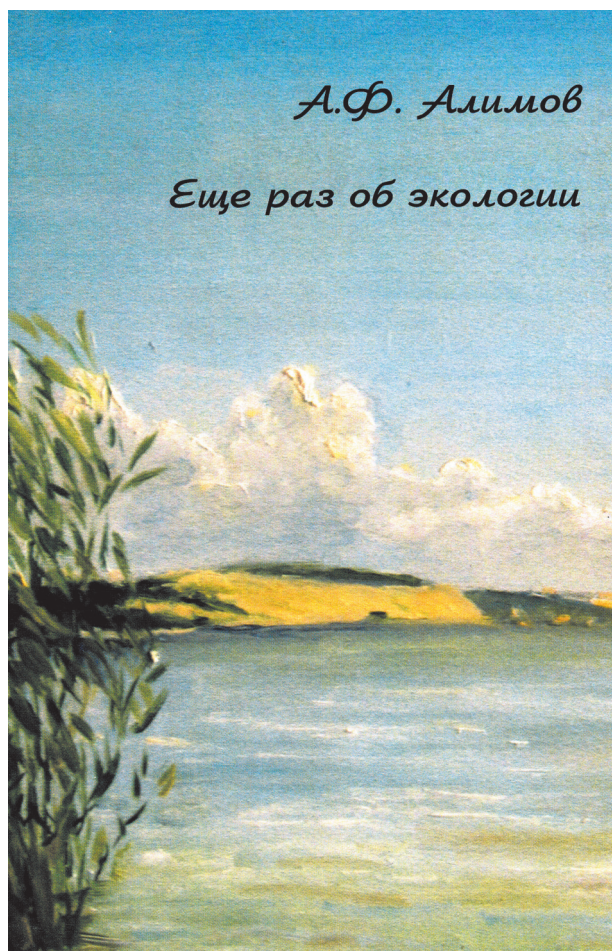
Численность белошекой казарки *Branta leucopsis* на весенних стоянках и ее статус в южной Карелии // Русск. орнитол. журн. Т. 25, № 1259. С. 865–866. (Совместно с А. В. Артемьевым, С. А. Симоновым.)

РЕЦЕНЗИИ И БИБЛИОГРАФИЯ

А. Ф. Алимов. Еще раз об экологии. М.; СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2016. 60, [2] с.: ил., табл.

Книга «Еще раз об экологии» написана известным ученым-гидробиологом, экологом академиком РАН Александром Федоровичем Алимовым и посвящена вопросам современных представлений об экологии как фундаментальной науке, исследующей системы надорганизменного уровня, их структуру и функционирование в пространстве и времени в естественных и измененных человеком условиях. Такое понимание экологии отличает ее от других наук об окружающей среде. В настоящее время термин «экология» очень популярен, существует не менее 50 различных его толкований. Одни считают экологию частью биологии, другие – комплексной или синтетической наукой, третьи – дисциплиной, изучающей общие закономерности функционирования экосистем, четвертые – общенаучной областью знаний. Автор рассматриваемой работы обращает внимание читателей на то, что экология – это наука и, как любая самостоятельная наука, имеет свой специфический предмет, методы и цели исследования. Всякое непрофессиональное использование понятия экологии в конечном счете приводит к размыванию ее значения как науки, где главным объектом исследований являются экосистемы.

В книге детально рассмотрен вопрос развития экологии как науки в России с середины XIX века до настоящего времени. Представлены ученые, которые стояли у истоков экологии в России, их последователи, описаны результаты их исследований за длительный промежуток времени. Автор подчеркивает, что методологической основой современных экологических исследований является системный подход. При этом система, и экологическая система



в том числе, понимается как совокупность взаимосвязанных элементов, образующих определенную целостность. Она находится в непрерывном единстве с окружающей средой, во взаимодействии с которой система и проявляет свою целостность.

В работе проанализированы данные о структуре сообществ организмов и экосистем. Живые организмы существуют благодаря взаимодействиям между собой и внешней средой;

их эволюция протекала и протекает в пределах сообществ и экосистем. Показано, что сложность структурной организации экосистем обусловлена количеством видов живых организмов и числом взаимосвязей между ними, т. е. видовым разнообразием. Оценка и сохранение видового разнообразия, его формирования и изменений в современных условиях необходимы, особенно из-за нарастающей угрозы потери биологического разнообразия, в том числе и в связи с эксплуатацией природных экосистем.

Автор рассмотрел очень важный вопрос о функционировании экосистемы, которая может быть представлена как разнообразие видов плюс взаимосвязь потоков веществ, энергии и информации, причем последние рассматриваются как организующие и регулирующие факторы. Это динамическое взаимодействие обеспечивает стабильность экосистемы во времени и в пространстве, т. е. ее функционирование. Особое место в экосистемах занимает баланс органических веществ, включающих в себя различные и сложные биотические процессы. Баланс органических веществ нельзя рассматривать только как разность между поступлением и выносом из экосистемы, поскольку органические вещества могут также синтезироваться и внутри экосистемы. Большое значение имеют представления, характеризующие скорость образования (продукция) и разрушения (деструкция) органических веществ, и именно такое широкое понимание баланса положено в основу экосистемных исследований. В книге подробно рассмотрены механизмы функционирования озерных экосистем.

Очень важно, что автор обратил особое внимание на вопросы, касающиеся использования фундаментальных знаний по экологии для решения практических задач. Он показал, что экология, опираясь на весь комплекс биологических и смежных наук, создает фундаментальную научную базу для гармоничного сочетания все возрастающего воздействия человека на окружающую среду с законами природы, управляемыми биосферой. Обсуждаются проблемы биологических инвазий; загрязнения водных экосистем; интродукции новых видов рыб и аквакультуры. Автор подчеркнул, что проведению хозяйственных мероприятий в природных экосистемах обязательно должны предшествовать специальные научные исследования. Необходимо также направленно готовить специалистов по охране окружающей среды – природоведов, которые, используя экологические знания, должны обосновывать прогноз ожидаемых результатов проектов различных мероприятий, существенно затрагивающих природные экосистемы.

В заключение следует отметить, что обсуждаемые автором научные проблемы несомненно актуальны, будут интересны и полезны не только биологам, экологам, но и чиновникам, принимающим решения, от которых в немалой степени зависит воздействие человека на водные экосистемы. Эта книга станет отличным пособием преподавателям и студентам биологических факультетов, а также многочисленным любителям природы.

*Н. Н. Немова, чл.-корр. РАН, д. б. н.,
О. П. Стерлигова, д. б. н.*

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

(требования к работам, представляемым к публикации
в «Трудах Карельского научного центра Российской академии наук», с 2015 г.)

«Труды Карельского научного центра Российской академии наук» (далее – Труды КарНЦ РАН) публикуют результаты завершенных оригинальных исследований в различных областях современной науки: теоретические и обзорные статьи, сообщения, материалы о научных мероприятиях (симпозиумах, конференциях и др.), персоналии (юбилеи и даты, потери науки), статьи по истории науки. Представляемые работы должны содержать новые, ранее не публиковавшиеся данные.

Статьи проходят обязательное рецензирование. Решение о публикации принимается редакционной коллегией серии или тематического выпуска Трудов КарНЦ РАН после рецензирования, с учетом научной значимости и актуальности представленных материалов. Редколлегия серий и отдельных выпусков Трудов КарНЦ РАН оставляет за собой право возвращать без регистрации рукописи, не отвечающие настоящим правилам.

При получении редакцией рукопись регистрируется (в случае выполнения авторами основных правил ее оформления) и направляется на отзыв рецензентам. Отзыв состоит из ответов на типовые вопросы анкеты и может содержать дополнительные расширенные комментарии. Кроме того, рецензент может вносить замечания и правки в текст рукописи. Авторам высылаются электронная версия анкеты и комментарии рецензентов. Доработанный экземпляр автор должен вернуть в редакцию вместе с первоначальным экземпляром и ответом на все вопросы рецензента не позднее чем через месяц после получения рецензии. Перед опубликованием авторам высылаются распечатанная версия статьи, которая вычитывается, подписывается авторами и возвращается в редакцию.

Журнал имеет полноценную электронную версию на базе Open Journal System (OJS), позволяющую перевести предоставление и редактирование рукописи, общение автора с редколлегиями серий и рецензентами в электронный формат и обеспечивающую прозрачность процесса рецензирования при сохранении анонимности рецензентов (<http://journals.krc.karelia.ru/>).

Редакционный совет журнала «Труды Карельского научного центра РАН» (Труды КарНЦ РАН) определил для себя в качестве одного из приоритетов полную открытость издания. Это означает, что пользователям на условиях свободного доступа разрешается: читать, скачивать, копировать, распространять, печатать, искать или находить полные тексты статей журнала по ссылке без предварительного разрешения от издателя и автора. Учредители журнала берут на себя все расходы по редакционно-издательской подготовке статей и их опубликованию.

Содержание номеров Трудов КарНЦ РАН, аннотации и полнотекстовые электронные варианты статей, а также другая полезная информация, включая настоящие Правила, доступны на сайтах – <http://transactions.krc.karelia.ru>; <http://journals.krc.karelia.ru>

Почтовый адрес редакции: 185000, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, КарНЦ РАН, редакция Трудов КарНЦ РАН. Телефон: (8142) 762018.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСИ

Статьи публикуются на русском или английском языке. Рукописи должны быть тщательно выверены и отредактированы авторами.

Объем рукописи (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам, рисунки) не должен превышать: для обзорных статей – 30 страниц, для оригинальных – 25, для сообщений – 15, для хроники и рецензий – 5–6. Объем рисунков не должен превышать 1/4 объема статьи. Рукописи большего объема (в исключительных случаях) принимаются при достаточном обосновании по согласованию с ответственным редактором.

При оформлении рукописи применяется полуторный межстрочный интервал, шрифт Times New Roman, кегль 12, выравнивание по обоим краям. Размер полей страницы – 2,5 см со всех сторон. Все страницы, включая список литературы и подписи к рисункам, должны иметь сплошную нумерацию в нижнем правом углу. Страницы с рисунками не нумеруются.

Рукописи подаются в электронном виде в формате MS Word на сайте <http://journals.krc.karelia.ru> либо на e-mail: trudy@krc.karelia.ru, или же представляются в редакцию лично (г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, каб. 502). К рукописи желательно прилагать два бумажных экземпляра, напечатанных на одной стороне листа формата А4 в одну колонку.

ОБЩИЙ ПОРЯДОК РАСПОЛОЖЕНИЯ ЧАСТЕЙ СТАТЬИ

Элементы статьи должны располагаться в следующем порядке: *УДК* курсивом на первой странице, в левом верхнем углу; заглавие статьи на русском языке заглавными буквами полужирным шрифтом; инициалы, фамилии всех авторов на русском языке полужирным шрифтом; полное название организации – места работы каждого автора в именительном падеже на русском языке курсивом (если авторов несколько и работают они в разных учреждениях, следует отметить арабскими цифрами соответствие фамилий авторов учреждениям, в которых они работают; если все авторы статьи работают в одном учреждении, можно не указывать место работы каждого автора отдельно); аннотация на русском языке; ключевые слова на русском языке; инициалы, фамилии всех авторов на английском языке полужирным шрифтом; название статьи на английском языке заглавными буквами полужирным шрифтом; аннотация на английском языке; ключевые слова на английском языке; текст статьи (статья экспериментального характера, как правило, должны иметь разделы: **Введение. Материалы и методы. Результаты и обсуждение. Выводы** либо **Заключение**); благодарности и указание источников финансирования выполненных исследований; списки литературы: с библиографическими описаниями на языке и алфавите оригинала (**Литература**) и транслитерированный в латиницу с переводом русскоязычных источников на английский язык (**References**); таблицы (на отдельных листах); рисунки (на отдельных листах); подписи к рисункам (на отдельном листе).

На отдельном листе дополнительные сведения об авторах: фамилии, имена, отчества всех авторов полностью на русском и английском языке; полный почтовый адрес каждой организации (страна, город) на русском и английском языке; должности, научные звания, ученые степени авторов; адрес электронной почты для каждого автора; телефон для контактов с авторами статьи (можно один на всех авторов).

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ должно точно отражать содержание статьи* и состоять из 8–10 значимых слов.

АННОТАЦИЯ** должна быть лишена вводных фраз, создавать возможно полное представление о содержании статьи и иметь объем не менее 200 слов. Рукопись с недостаточно раскрывающей содержание аннотацией может быть отклонена.

Отдельной строкой приводится перечень КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (не менее 5). Ключевые слова или словосочетания отделяются друг от друга точкой с запятой, в конце фразы ставится точка. Слова, фигурирующие в заголовке статьи, ключевыми являться не могут.

Раздел «Материалы и методы» должен содержать сведения об объекте исследования с обязательным указанием латинских названий и сводок, по которым они приводятся, авторов классификаций и пр. Транскрипция географических названий должна соответствовать атласу последнего года издания. Единицы физических величин приводятся по Международной системе СИ. Желательна статистическая обработка всех количественных данных. Необходимо возможно точнее обозначать местонахождения (в идеале – с точным указанием географических координат).

Изложение результатов должно заключаться не в пересказе содержания таблиц и графиков, а в выявлении следующих из них закономерностей. Автор должен сравнить полученную им информацию с имеющейся в литературе и показать, в чем заключается ее новизна. Следует ссылаться на табличный и иллюстративный материал так: на рисунки, фотографии и таблицы в тексте (рис. 1, рис. 2, табл. 1, табл. 2 и т. д.), фотографии, помещаемые на вклейках (рис. I, рис. II). Обсуждение завершается формулировкой в разделе «Заключение» основного вывода, которая должна содержать конкретный ответ на вопрос, поставленный во «Введении». Ссылки на литературу в тексте даются фамилиями, например: Карху, 1990 (один автор); Раменская, Андреева, 1982 (два автора); Крутов и др., 2008 (три автора или более) либо начальным словом описания источника, приведенного в списке литературы, и заключаются в квадратные скобки. При перечислении нескольких источников работы располагаются в хронологическом порядке, например: [Иванов, Топоров, 1965; Успенский, 1982; Erwin et al., 1989; Атлас..., 1994; Longman, 2001].

ТАБЛИЦЫ нумеруются в порядке упоминания их в тексте, каждая таблица имеет свой заголовок. На полях бумажного экземпляра рукописи (слева) карандашом указываются места расположения таблиц при первом упоминании их в тексте. Диаграммы и графики не должны дублировать таблицы. Материал таблиц должен быть понятен без дополнительного обращения к тексту. Все сокращения, использованные в таблице, поясняются в Примечании, расположенном под ней. При повторении цифр в столбцах нужно их повторять, при повторении слов – в столбцах ставить кавычки. Таблицы могут быть книжной или альбомной ориентации (при соблюдении вышеуказанных параметров страницы).

РИСУНКИ представляются отдельными файлами с расширением TIF (* .TIF) или JPG. При первичной подаче материала в редакцию рисунки вставляются в общий текстовый файл. При сдаче материала, принятого в печать, все рисунки из текста статьи должны быть убраны и представлены в виде отдельных файлов в вышеуказанном формате. Графические материалы должны быть снабжены распечатками с указа-

* Названия видов приводятся на латинском языке КУРСИВОМ, в скобках указываются высшие таксоны (семейства), к которым относятся объекты исследования.

** Обращаем внимание авторов, что в связи с подготовкой журнала к включению в международные базы данных библиографических описаний и научного цитирования расширенная аннотация на английском языке, а также транслитерированный в латиницу список использованной литературы приобретают особое значение.

нием желательного размера рисунка, пожеланий и требований к конкретным иллюстрациям. На каждый рисунок должна быть как минимум одна ссылка в тексте. Иллюстрации объектов, исследованных с помощью фотосъемки, микроскопа (оптического, электронного трансмиссионного и сканирующего), должны сопровождаться масштабными линейками, причем в подрисуночных подписях надо указать длину линейки. Приводить данные о кратности увеличения необязательно, поскольку при публикации рисунков размеры изменятся. Крупномасштабные карты желательно приводить с координатной сеткой, обозначениями населенных пунктов и/или названиями физико-географических объектов и разной фактурой для воды и суши. В углу карты желательна врезка с мелкомасштабной картой, где был бы указан участок, увеличенный в крупном масштабе в виде основной карты.

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ должны содержать достаточно полную информацию, для того чтобы приводимые данные могли быть понятны без обращения к тексту (если эта информация уже не дана в другой иллюстрации). Аббревиации расшифровываются в подрисуночных подписях.

ЛАТИНСКИЕ НАЗВАНИЯ. В расширенных латинских названиях таксонов не ставится запятая между фамилией авторов и годом, чтобы была понятна разница между полным названием таксона и ссылкой на публикацию в списке литературы. Названия таксонов рода и вида печатаются курсивом. Вписывать латинские названия в текст от руки недопустимо. Для флористических, фаунистических и таксономических работ при первом упоминании в тексте и таблицах приводится русское название вида (если такое название имеется) и полностью – латинское, с автором и желательно с годом, например: водяной ослик (*Asellus aquaticus* (L. 1758)). В дальнейшем можно употреблять только русское название или сокращенное латинское без фамилии автора и года опубликования, например, для брюхоногого моллюска *Margarites groenlandicits* (Gmelin 1790) – *M. groenlandicus* или для подвида *M. g. umbilicalis*.

СОКРАЩЕНИЯ. Разрешаются лишь общепринятые сокращения – названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа общеупотребительных.

БЛАГОДАРНОСТИ. В этой рубрике выражается признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и фондам, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи, а также указываются источники финансирования работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ. Пристатейные ссылки и/или списки пристатейной литературы следует оформлять по ГОСТ Р 7.0.5-2008. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления (http://www.bookchamber.ru/GOST_P_7.0.5.-2008). Список работ представляется в алфавитном порядке. Все ссылки даются на языке оригинала (названия на японском, китайском и других языках, использующих нелатинский шрифт, пишутся в русской транскрипции). Сначала приводится список работ на русском языке и на языках с близким алфавитом (украинский, болгарский и др.), а затем – работы на языках с латинским алфавитом. В списке литературы между инициалами ставится пробел.

ТРАНСЛИТЕРИРОВАННЫЙ СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (References). Приводится отдельным списком, повторяя все позиции основного списка литературы. Описания русскоязычных работ указываются в латинской транслитерации, рядом в квадратных скобках помещается их перевод на английский язык. Выходные данные приводятся на английском языке (допускается транслитерация названия издательства). При наличии переводной версии источника можно указать его библиографическое описание вместо транслитерированного. Библиографические описания прочих работ приводятся на языке оригинала. Для составления списка рекомендуется использование бесплатной программы транслитерации на сайте <http://translit.ru/>, вариант BSI.

Внимание! С 2015 года каждой статье, публикуемой в «Трудах Карельского научного центра РАН», редакцией присваивается уникальный идентификационный номер цифрового объекта (DOI) и статья включается в базу данных Crossref. **Обязательным условием является указание в списках литературы DOI для тех работ, у которых он есть.**

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ 1-Й СТРАНИЦЫ

УДК 631.53.027.32:635.63

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПРЕДПОСЕВНОГО ЗАКАЛИВАНИЯ СЕМЯН НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

Е. Г. Шерудило¹, М. И. Сысоева¹, Г. Н. Алексейчук², Е. Ф. Марковская¹

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН

²Институт экспериментальной ботаники НАН Республики Беларусь им. В. Ф. Купревича

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; кратковременное снижение температуры; устойчивость.

E. G. Sherudilo, M. I. Sysoeva, G. N. Alekseichuk, E. F. Markovskaya. EFFECTS OF DIFFERENT REGIMES OF SEED HARDENING ON COLD RESISTANCE IN CUCUMBER PLANTS

Аннотация на английском языке

Key words: *Cucumis sativus* L.; temperature drop; resistance.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ

Таблица 2. Частота встречаемости видов нематод в исследованных биотопах

Биотоп (площадка)	Кол-во видов	Встречаемость видов нематод в 5 повторностях				
		100 %	80 %	60 %	40 %	20 %
1Н	26	8	4	1	5	8
2Н	13	2	1	1	0	9
3Н	34	13	6	3	6	6
4Н	28	10	5	2	2	9
5Н	37	4	10	4	7	12

Примечание. Здесь и в табл. 3–4: биотоп 1Н – территория, заливаемая в сильные приливы; 2Н – постоянно заливаемый луг; 3Н – редко заливаемый луг; 4Н – незаливаемая территория; 5Н – периодически заливаемый луг.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ПОДПИСИ К РИСУНКУ

Рис. 1. Северный точильщик (*Hadrobregmus confuses* Kraaz.)

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ СПИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

Ссылки на книги

Вольф Г. Н. Дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм в органической химии / Ред. Г. Снатцке. М.: Мир, 1970. С. 348–350.

Патрушев Л. И. Экспрессия генов. М.: Наука, 2000. 830 с.

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques / Eds P. V. Sundaram, F. L. Eckstein. N. Y., San Francisco: Acad. Press, 1978. P. 169–188.

В транслитерированном списке литературы:

Vol'f G. N. Dispersiya opticheskogo vrashheniya i krugovoj dikhroizm v organicheskoy khimii [Optical rotatory dispersion and circular dichroism in Organic Chemistry]. Ed. G. Snattske. Moscow: Mir, 1970. P. 348–350.

Patrushev L. I. Ekspressiya genov [Gene expression]. Moscow: Nauka, 2000. 830 p.

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques. Eds P. V. Sundaram, F. L. Eckstein. N. Y., San Francisco: Acad. Press, 1978. P. 169–188.

Ссылки на статьи

Викторов Г. А. Межвидовая конкуренция и сосуществование экологических гомологов у паразитических перепончатокрылых // Журн. общ. биол. 1970. Т. 31, № 2. С. 247–255.

Grove D. J., Loisesides L., Nott J. Satiation amount, frequency of feeding and emptying rate in *Salmo gairdneri* // J. Fish. Biol. 1978. Vol. 12, no. 4. P. 507–516.

Noctor G., Queval G., Mhamdi A., Chaouch A., Foyer C. H. Glutathione // Arabidopsis Book. American Society of plant Biologists, Rockville, MD. 2011. doi:10.1199/tab.0142

В транслитерированном списке литературы:

Viktorov G. A. Mezvidovaya konkurentsiya i sosushhestvovanie ehkologicheskikh gomologov u paraziticheskikh pereponchatokrylykh [Interspecific competition and coexistence ecological homologues in parasitic Hymenoptera]. Zhurn. obshh. biol. 1970. Vol. 31, no. 2. P. 247–255.

Grove D. J., Loisesides L., Nott J. Satiation amount, frequency of feeding and emptying rate in *Salmo gairdneri*. J. Fish. Biol. 1978. Vol. 12, no. 4. P. 507–516.

Noctor G., Queval G., Mhamdi A., Chaouch A., Foyer C. H. Glutathione. Arabidopsis Book. American Society of plant Biologists, Rockville, MD. 2011. doi:10.1199/tab.0142

Ссылки на материалы конференций

Марьянских Д. М. Разработка ландшафтного плана как необходимое условие устойчивого развития города (на примере Тюмени) // Экология ландшафта и планирование землепользования: тезисы докл. Всерос. конф. (Иркутск, 11–12 сент. 2000 г.). Новосибирск, 2000. С. 125–128.

В транслитерированном списке литературы:

Mar'inskikh D. M. Razrabotka landshaftnogo plana kak neobkhodimoe uslovie ustoichivogo razvitiya goroda (na primere Tyumeni) [Landscape planning as a necessary condition for sustainable development of a city (example of Tyumen)]. *Ekologiya landshafta i planirovanie zemlepol'zovaniya: tezisy dokl. Vseros. konf. (Irkutsk, 11–12 sent. 2000 g.)* [Landscape ecology and land-use planning: abstracts of all-Russian conference (Irkutsk, Sept. 11–12, 2000)]. Novosibirsk, 2000. P. 125–128.

Ссылки на диссертации или авторефераты диссертаций

Шефтель Б. И. Экологические аспекты пространственно-временных межвидовых взаимоотношений землероек Средней Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985. 23 с.

Лозовик П. А. Гидрогеохимические критерии состояния поверхностных вод гумидной зоны и их устойчивости к антропогенному воздействию: дис. ... докт. хим. наук. Петрозаводск, 2006. 481 с.

В транслитерированном списке литературы:

Sheftel' B. I. *Ekologicheskie aspekty prostranstvenno-vremennykh mezvidovykh vzaimootnoshenii zemlerоек Srednei Sibiri* [Ecological aspects of spatio-temporal interspecies relations of shrews of Middle Siberia]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Moscow, 1985. 23 p.

Lozovik P. A. *Gidrogeokhimicheskie kriterii sostoyaniya poverkhnostnykh vod gumidnoi zony i ikh ustoichivosti k antropogennomu vozdeistviyu* [Hydrogeochemical criteria of the state of surface water in humid zone and their tolerance to anthropogenic impact]: DSc (Dr. of Chem.) thesis. Petrozavodsk, 2006. 481 p.

Ссылки на патенты

Патент РФ № 2000130511/28.04.12.2000.

Еськов Д. Н., Серегин А. Г. Оптико-электронный аппарат // Патент России № 2122745. 1998. Бюл. № 33.

В транслитерированном списке литературы:

Patent RF № 2000130511/28. 04.12.2000 [Russian patent No. 2000130511/28. December 4, 2000].

Es'kov D. N., Seregin A. G. *Optiko-elektronnyi apparat* [Optoelectronic apparatus]. Patent Rossii № 2122745 [Russian patent No. 2122745]. 1998. Bulletin No. 33.

Ссылки на архивные материалы

Гребенщиков Я. П. К небольшому курсу по библиографии: материалы и заметки, 26 февр. – 10 марта 1924 г. // ОР РНБ. Ф. 41. Ед. хр. 45. Л. 1–10.

В транслитерированном списке литературы:

Grebenshchikov Ya. P. *K nebol'shomu kursu po bibliografii: materialy i zametki*, 26 fevr. – 10 marta 1924 g. [Brief course on bibliography: the materials and notes, Febr. 26 – March 10, 1924]. OR RNB. F. 41. St. un. 45. L. 1–10.

Ссылки на интернет-ресурсы

Паринов С. И., Ляпунов В. М., Пузырев Р. Л. Система Соционет как платформа для разработки научных информационных ресурсов и онлайн-сервисов // Электрон. б-ки. 2003. Т. 6, вып. 1. URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (дата обращения: 25.12.2015).

Демография. Официальная статистика / Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. URL: <http://www.gks.ru/> (дата обращения: 25.12.2015).

В транслитерированном списке литературы:

Parinov S. I., Lyapunov V. M., Puzyrev R. L. *Sistema Sotsionet kak platforma dlya razrabotki nauchnykh informatsionnykh resursov i onlainovykh servisov* [Socionet as a platform for development of scientific information resources and online services]. *Elektron. b-ki [Digital library]*. 2003. Vol. 6, iss. 1. URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (accessed: 25.11.2006).

Demografiya. Oficial'naja statistika [Demography. Official statistics]. *Federal'naja sluzhba gosudarstvennoj statistiki [Federal state statistics service]*. URL: <http://www.gks.ru/> (accessed: 25.12.2015).

Ссылки на электронные ресурсы на CD-ROM

Государственная Дума, 1999–2003 [Электронный ресурс]: электронная энциклопедия / Аппарат Гос. Думы Федер. Собрания Рос. Федерации. М., 2004. 1 CD-ROM.

В транслитерированном списке литературы:

Gosudarstvennaya Duma, 1999–2003 [State Duma, 1999–2003]. Electronic encyclopedia. The office of the State Duma of the Federal Assembly of the Russian Federation. Moscow, 2004. 1 CD-ROM.

TABLE OF CONTENTS

REVIEWS

- L. V. Topchieva, I. V. Kurbatova, O. P. Dudanova, A. A. Sokolovskaya, A. A. Shipovskaya. GENE POLYMORPHISM OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES (*TNF*, *IL6*) AND THEIR RECEPTORS (*TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *IL6R*): IMPLICATIONS FOR NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE 3

ORIGINAL PAPERS

- A. V. Tolstikov, I. A. Chernov, S. A. Murzina, D. M. Martynova, N. G. Yakovlev. DESIGN AND APPLICATION OF THE GREEN JASMINE COMPLEX FOR THE STUDY AND PREDICTION OF THE ECOSYSTEMS STATE AND VARIABILITY OF THE WHITE SEA. 23

- S. P. Rozhkov, A. S. Goryunov. STRUCTURAL DYNAMIC EFFECTS OF PROTEIN AND OTHER BIOLOGICALLY SIGNIFICANT MOLECULES' INTERACTION WITH SHUNGITE NANOCARBON. 33

- A. N. Solodovnikov, N. G. Fedorets, A. I. Sokolov. MINERAL FERTILIZERS' AFTER-EFFECT ON SOIL PROPERTIES AND STAND PRODUCTIVITY IN A LONG-TERM EXPERIMENT IN KARELIAN MIDDLE TAIGA. 45

- V. K. Bolondinskii, L. M. Vilikainen. A STUDY OF CO₂ GAS EXCHANGE IN KARELIAN BIRCH UNDER LOW SOLAR RADIATION CONDITIONS IN PLANTATIONS WITH DIFFERENT LEVELS OF SOIL FERTILITY. 52

- Yu. V. Venzhik, A. F. Titov, V. V. Talanova. SHORT-TERM CHILLING OF WHEAT SEEDLINGS OR ROOTS AFFECTS THE ULTRASTRUCTURE OF MESOPHYLL CELLS 66

- T. N. Ilyina, I. V. Baishnikova, V. V. Belkin, A. E. Yakimova. CONTENT OF RETINOL AND α -TOCOPHEROL IN BATS DURING THE PERIOD OF HIBERNATION. 79

- N. S. Repkina, A. A. Ignatenko, K. M. Panfilova, A. F. Titov, V. V. Talanova. THE DYNAMICS OF SUPEROXID DISMUTASE ACTIVITY AND ITS GENE EXPRESSION IN WHEAT LEAVES DURING COLD ADAPTATION 89

- E. F. Markovskaya, N. A. Galibina, M. K. Ilyinova, K. M. Nikerova, N. Yu. Shmakova. LIPID COMPOSITION AND FUNCTIONAL STATE OF MEMBRANE SYSTEMS IN *STELLARIA HUMIFUSA* . . . 99

SHORT COMMUNICATIONS

- T. G. Shibaeva, A. F. Titov. EFFECT OF CONTINUOUS LIGHT ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN *SOLANACEAE* SPECIES 111

DATES AND ANNIVERSARIES

- M. V. Matantseva, S. A. Simonov, A. V. Artem'ev, Nikolai V. Lapshin (on the 70th anniversary). 119

- REVIEWS AND BIBLIOGRAPHY. 124

- INSTRUCTIONS FOR AUTHORS 126

Научное издание

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 5, 2017

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

*Печатается по решению
Президиума Карельского научного центра РАН*

Выходит 12 раз в год

Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС77-65995 от 06.06.2016 г.
выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций

Редактор А. И. Мокеева
Компьютерная верстка Г. О. Предтеченский

Подписано в печать 16.05.2017. Дата выхода 31.05.2017. Формат 60x84^{1/8}.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 14,9. Усл. печ. л. 15,3.
Тираж 200 экз. Заказ 431. Цена свободная

Учредитель и издатель: Карельский научный центр РАН, 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

Оригинал-макет: Редакция научного издания «Труды КарНЦ РАН»

Типография: Редакционно-издательский отдел КарНЦ РАН
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50