

Карельский научный центр
Российской академии наук

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 12, 2017

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2017

Научный журнал
Труды Карельского научного центра
Российской академии наук
№ 12, 2017
Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Scientific Journal
Transactions of the Karelian Research Centre of the
Russian Academy of Sciences
No. 12, 2017
EXPERIMENTAL BIOLOGY Series

Главный редактор

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

Редакционный совет

А. М. АСХАБОВ, академик РАН, д. г.-м. н., проф.; О. Н. БАХМЕТ (зам. главного редактора), член-корр. РАН, д. б. н.; А. В. ВОРОНИН, д. т. н., проф.; И. В. ДРОБЫШЕВ, доктор биологии (Швеция – Канада); Э. В. ИВАНТЕР, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; А. С. ИСАЕВ, академик РАН, д. б. н., проф.; Х. ЙООСТЕН, доктор биологии, проф. (Германия); А. М. КРЫШЕНЬ, д. б. н.; Е. В. КУДРЯШОВА, д. флс. н., проф.; О. Л. КУЗНЕЦОВ, д. б. н.; В. В. МАЗАЛОВ, д. ф.-м. н., проф.; Н. Н. НЕМОВА, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; О. ОВАСКАЙНЕН, доктор математики, проф. (Финляндия); О. Н. ПУГАЧЕВ, академик РАН, д. б. н.; С. А. СУББОТИН, доктор биологии (США); Д. А. СУБЕТТО, д. г. н.; Н. Н. ФИЛАТОВ, член-корр. РАН, д. г. н., проф.; Т. Э. ХАНГ, доктор географии (Эстония); П. ХОЛТА, доктор геологии, проф. (Финляндия); К. ШАЕВСКИ, доктор математики, проф. (Польша); 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.; O. N. BAKHMET (Deputy Editor-in-Chief), RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.); I. V. DROBYSHEV, PhD (Biol.) (Sweden – Canada); N. N. FILATOV, RAS Corr. Fellow, DSc (Geog.), Prof.; T. E. HANG, PhD (Geog.) (Estonia); P. HÖLTTÄ, PhD (Geol.), Prof. (Finland); A. S. ISAEV, RAS Academician, DSc (Biol.), Prof.; E. V. IVANTER, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; H. JOOSTEN, Dr. (Biol.), Prof. (Germany); A. M. KRYSHEN', DSc (Biol.); E. V. KUDRYASHOVA, DSc (Phil.), Prof.; O. L. KUZNETSOV, DSc (Biol.); V. V. MAZALOV, DSc (Phys.-Math.), Prof.; N. N. NEMOVA, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; O. OVASKAINEN, PhD (Math.), Prof. (Finland); O. N. PUGACHYOV, RAS Academician, DSc (Biol.); V. V. SHCHIPTSOV, DSc (Geol.-Miner.), Prof.; S. A. SUBBOTIN, PhD (Biol.) (USA); D. A. SUBETTO, DSc (Geog.); K. SZAJEWSKI, PhD (Math.), Prof. (Poland); 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 581.1

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ФОРМИРОВАНИЯ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА У РАСТЕНИЙ НА ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

И. А. Нилова, Л. В. Топчиева, А. Ф. Титов

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

В статье обобщены литературные данные о формировании клеточного ответа у растений на высокотемпературные воздействия. Рассмотрены его основные этапы: восприятие высокотемпературного воздействия, передача сигнала о высокотемпературном воздействии, синтез белков теплового шока (БТШ). Описаны некоторые структуры и компоненты клеток, которые являются наиболее вероятными участниками восприятия клетками растений теплового воздействия. Особое внимание уделено плазмалемме, кальциевым каналам и ионам кальция, а также возможному участию в этом процессе цитоскелета, фитохрома В, БТШ70 и БТШ90. Рассмотрено предположение об участии вторичных стрессов, в частности стресса эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресс), в качестве начальных звеньев в общей цепи событий, связанных с восприятием и передачей сигнала о высокотемпературном воздействии. Показано, что ионы кальция и активные формы кислорода (АФК) могут являться компонентами системы передачи сигнала о высокотемпературном воздействии. Помимо этого в сигналинге теплового воздействия могут принимать участие кальций-связывающие белки, липидные сигнальные молекулы, фитогормоны и различные транскрипционные факторы (HSF, MBF1, DREB, C2H2 ZF и др.). Подчеркнута особая роль в ответной реакции растений на действие высокой температуры шоковых белков и рассмотрено участие в этих процессах основных групп БТШ: БТШ100, БТШ90, БТШ70, БТШ60, нмБТШ. Сделано заключение, что восприятие высокотемпературного воздействия, передача сигнала о нем в ядро и синтез шоковых белков, являющиеся ключевыми событиями в процессе формирования клеточного ответа у растений на высокотемпературные воздействия, приводят к повышению выживаемости растений в условиях действия высокой температуры.

К л ю ч е в ы е с л о в а: растения; высокая температура; восприятие и передача сигнала о высокотемпературном воздействии; синтез белков теплового шока.

I. A. Nilova, L. V. Topchieva, A. F. Titov. MAIN STAGES OF PLANT CELLULAR RESPONSE TO HEAT STRESS

The article provides a recapitulation of published data on plant cellular response to high temperature stress. We have reviewed the main stages of this response: heat sensing

and signal transduction and synthesis of heat shock proteins (HSP). Some structures and components of plant cells, which are the most probable participants of heat sensing, are described. An emphasis is placed on plasmalemma, calcium channels and calcium ions. The hypothesis of the participation of cytoskeleton, phytochrome B, HSP70 and HSP90 is also considered. Another idea of the article is possible participation of secondary stress, for example ER-stress, in heat sensing and signaling. It is shown that calcium ions and reactive oxygen species (ROS) are components of the heat signaling pathway. Additionally, calcium-binding proteins, lipid signaling molecules, phytohormones and transcription factors (HSF, MBF1, DREB, C2H2 ZF) can participate in signal transduction pathways induced by high temperature. The article stresses a particular role of heat shock proteins (HSPs) in plant response to heat stress. Five major groups of HSP (HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, sHSP) are taken into consideration. Sensing of heat, heat signal transduction pathways and synthesis of HSP are the main events in the process of plant cellular response to high temperature stress. The final result of these events and other temperature-dependent changes in plants is enhanced thermotolerance of plant cells and whole plants that lead to higher plant survival under high temperature stress.

Key words: plants; high temperature; heat sensing and signal transduction; synthesis of heat shock proteins.

Введение

Растения в отличие от животных ведут, как правило, прикрепленный образ жизни, и уже в силу этого обстоятельства им намного сложнее выживать в неблагоприятных условиях внешней среды. Поэтому в процессе эволюции они выработали широкий спектр защитно-приспособительных реакций и адаптационных механизмов, которые помогают им приспосабливаться и выживать в самых разнообразных ситуациях. Соответственно, ответ растений на ухудшение внешних условий представляет собой сложный комплекс различных адаптивных реакций, как на уровне целого растения, его органов и тканей, так и на клеточном уровне. Их итогом является приспособление организма к новым условиям и выживание или его гибель. На клеточном уровне в основе ответной реакции растений лежит способность структур и компонентов клетки к восприятию стресс-фактора, передача (трансдукция) сигнала о его действии в другие компартменты клетки и, что особенно важно, в ядро и далее запуск ответных реакций, направленных на устранение возникающих функциональных нарушений (отклонений) и/или повреждений клеточных структур, если их масштаб не достиг критического уровня, превышающего адаптационные возможности организма.

В последние годы при изучении устойчивости растений к действию высоких температур особое внимание уделяется молекулярным механизмам, и прежде всего механизмам, затрагивающим функциональную активность генома. Во многих работах показано, что повышение устойчивости растений, наблюдаемое в ответ на действие высокой температуры,

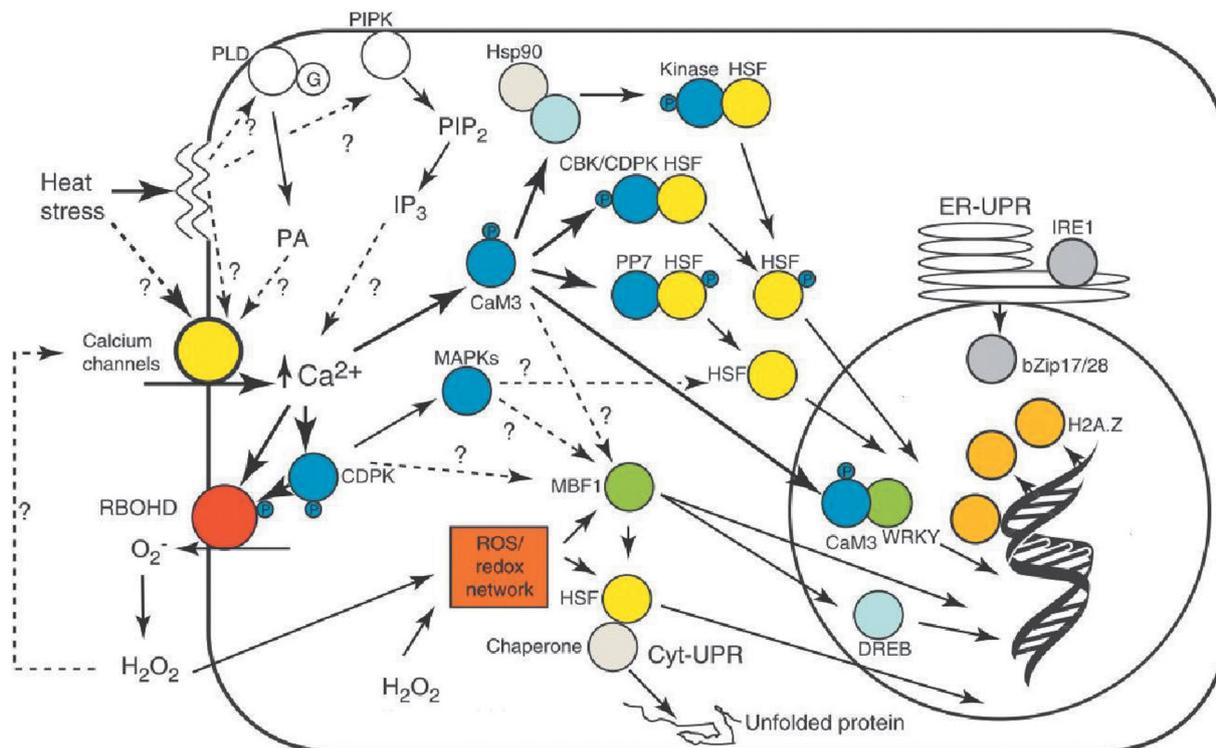
непосредственно связано с изменениями в экспрессии достаточно большого числа генов, результатом чего, в частности, является активация синтеза шоковых (стрессовых) белков и одновременно снижение синтеза многих белков, образующихся в норме [Rizhsky et al., 2002; Volkov et al., 2003; Лутова и др., 2010], т. е. повышение устойчивости клеток и растения в целом основывается в этом случае на использовании механизма репрессии-дерепрессии различных групп генов. Белки, участвующие в ответе организма на стресс, разделяют на две группы: первая из них представляет собой сигнальный компонент, благодаря которому осуществляется восприятие и передача стрессового сигнала, а вторая группа – функциональный компонент, за счет которого в итоге и происходит повышение устойчивости к стрессу [Лутова и др., 2010; Qu et al., 2013].

Исходя из общих соображений и для удобства рассмотрения существующих в литературе данных весь процесс формирования клеточного ответа у растений на действие высоких температур, вслед за другими авторами, мы разделили на три этапа: восприятие высокотемпературного воздействия, передача сигнала о высокотемпературном воздействии и синтез шоковых белков.

Восприятие и передача сигнала о высокотемпературном воздействии

Восприятие высокотемпературного воздействия

Классическая схема передачи сигнала в клетку включает взаимодействие внешнего фактора или стимула (например, фитогормоны,



Реакция клеток растения на воздействие высоких температур [Mittler et al., 2012]. Высокая температура вызывает увеличение текучести плазмалеммы, вследствие чего активируются кальциевые каналы и возрастает концентрация ионов кальция внутри клетки, активируется липоксигеназная сигнальная система. Внутри клетки ионы кальция активируют кальцийсвязывающие белки и кальцийзависимые протеинкиназы, которые в свою очередь активизируют митоген-активируемые протеинкиназы и ТФ: HSF/ФТШ, MBF1, DREB2. Одновременно с этим развивается окислительный стресс и накапливаются АФК, которые также могут активировать ТФ. В ядре клетки изменяется доступность хроматина для транскрипционного аппарата. Чуть позже в ЭР развивается ЭР-стресс, в результате которого активируется IRE1 и такие ТФ UPR, как bZIP17 и bZIP28.

Heat stress – тепловой стресс (высокотемпературное воздействие), calcium channels – кальциевые каналы, unfolded protein – неправильно упакованные белки (белки с нарушенной структурой), chaperone – шапероны, ROS/redox network – окислительно-восстановительные реакции, cyt-UPR (cytosolic unfolded protein response)/ ER-UPR (endoplasmic reticulum unfolded protein response) – ответ на неправильно упакованные белки в цитозоле / эндоплазматическом ретикулуме, kinase – киназа, PLD (phospholipase D) – фосфолипаза D, PIPK (phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase) – фосфатидилинозитол-3-фосфат-5-киназа, PIP2 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат, IP3 (inositol-1,4,5-trisphosphate) – инозитол-1,4,5-трифосфат, PA (phosphatidic acid) – фосфатидиловая кислота, PP7 (serine/threonine phosphatase 7) – серин/треониновая фосфатаза 7, RBOHD (respiratory burst oxidase homolog protein D) – NADPH-оксидаза плазмалеммы, O_2^- – супероксидный анион-радикал, CaM3 (calmodulin-3) – кальмодулин, CDPK (calcium-dependent protein kinase) – кальцийзависимая протеинкиназа, MAPKs (mitogen-activated protein kinase) – митоген-активируемые протеинкиназы, CBK (calcium/calmodulin-binding protein kinase) – кальций/кальмодулинзависимая протеинкиназа, HSP90 (heat shock protein 90) – белок теплового шока 90 (БТШ90), H2A.Z – гистон, вариант корового гистона H2A

элиситоры и т. д.) с определенными рецепторами, расположенными на поверхности клеток. Однако температура представляет собой фактор физической природы, действующий диффузно, и в отличие от химических и биотических факторов наличие в клетках растений специфических рецепторов для восприятия высокотемпературного воздействия еще только обсуждается. Проблема заключается в том, что температура влияет практически на все структуры и компоненты клеток одновременно и теоретически любая(ой) из них может выступить в качестве терморептора (рис.). Например, характерными изменениями, происходящими

в клетке при воздействии высоких температур, являются: изменения в мембранных структурах и цитоскелете, ремоделирование хроматина, изменение конформации белков, нарушение их синтеза и усиление распада, изменение скорости ионных потоков и различных биохимических реакций, накопление сигнальных молекул различной природы и т. д. [Тарчевский, 2002; Tuteja, Sopory, 2008; Колупаев, Карпец, 2010; Grover et al., 2013; Hasanuzzaman et al., 2013]. Тем не менее в настоящее время ключевая роль в процессах восприятия высокой температуры отводится плазматической мембране [Los, Murata, 2004; Horváth et al., 2012; Mittler

et al., 2012; Bahuguna, Jagadish, 2015]. Как известно, под влиянием высокой температуры физические свойства мембранных липидов изменяются, и это приводит к увеличению текучести мембран [Horváth et al., 1998; Falcone et al., 2004; Los, Murata, 2004; Königshofer et al., 2008]. В свою очередь, состояние липидного бислоя мембран влияет на активность мембраносвязанных белков, представленных, в частности, различными транспортерами, ионными каналами, ассоциированными с рецепторами протеинкиназами [Ruelland, Zachowski, 2010; Digel, 2011] и сенсорными белками [Horváth et al., 1998; McClung, Davis, 2010; Cybulski, de Mendoza, 2011]. Поэтому кажется естественным предположение о том, что изменение текучести плазматической мембраны является первичным актом в цепи событий, связанных с восприятием высокотемпературного воздействия, а изменения конформации мембраносвязанных белков, индуцируемые перестройками липидного бислоя, запускают в действие каскад сигнальных путей, обеспечивающих трансдукцию сигнала о тепловом воздействии и далее активацию защитных механизмов клеток. Об этом, в частности, говорит тот факт, что состояние липидного бислоя плазматической мембраны и синтез белков теплового шока (БТШ) связаны между собой. Например, при обработке бензиловым спиртом или под влиянием высоких температур в клетках суспензионной культуры *Nicotiana tabacum* L. увеличивается текучесть мембран, что приводит к синтезу HSP16 и HSP14.5 [Königshofer et al., 2008]. У синезеленой водоросли *Synechocystis* обработка бензиловым спиртом при оптимальной для роста температуре приводит к сходному эффекту: увеличению текучести клеточной мембраны и, как следствие, к активации транскрипции гена теплового стресса *HSPA* [Horváth et al., 1998; Török et al., 2001].

Следует сказать, что в плазматической мембране синезеленых водорослей и некоторых бактерий гистидин-киназа выступает в качестве сенсора холодного воздействия [Los et al., 2013]. Можно было бы ожидать, что существует и сенсор теплового воздействия, однако пока такого рода термосенсоры в мембранах растений не обнаружены [Los et al., 2013]. Возможно, эту роль играют активируемые теплом митоген-активируемые киназы (НАМК – heat-activated mitogen-activated protein kinase), активность которых также зависит от текучести плазматической мембраны [Sangwan et al., 2002]. Помимо них в качестве возможных термосенсоров могут выступать специфические кальциевые каналы, которые обнаружены в мембране клеток у мха

Physcomitrella patens (Hedw.) Bruch & Schimp. [Saidi et al., 2009]. У высших растений, например, у *Arabidopsis thaliana* L., очевидно, также имеются кальциевые каналы, одной из функций которых является восприятие повышения температуры окружающей среды. Поэтому мутанты *A. thaliana* по гену *CNGC2* и *P. patens* по гену *CNGCb*, кодирующим белки кальциевых каналов (cyclic nucleotide gated calcium channels), имеют гиперчувствительный к действию высокой температуры фенотип [Finka et al., 2012]. Теплоустойчивость таких растений может повышаться под влиянием высоких температур, но более низких по абсолютному значению по сравнению с теми, которые индуцируют рост теплоустойчивости у растений дикого типа. Причем у мутантов *P. patens* с делециями по гену *CNGCb* концентрация ионов кальция в цитоплазме при действии высоких температур выше, чем в клетках мха дикого типа. Таким образом, предполагается, что белки *CNGC2* и *CNGCb* могут выступать в качестве термосенсора клеток и отвечать за оптимальную реакцию растений на действие высоких температур [Finka et al., 2012].

В восприятии и проведении сигнала о высокотемпературном воздействии от плазматической мембраны внутрь клеток важную роль играет цитоскелет [Хохлова, Невмержицкая, 2011]. Реорганизация актинового цитоскелета может происходить при изменении текучести мембраны. В пользу этого говорит тот факт, что стабилизатор микрофиламентов жасплакинолид блокирует активацию НАМК в клетках *Synechocystis* при действии на них температуры 37 °C [Sangwan et al., 2002]. Под влиянием высокой температуры происходит деполяризация и реорганизация микротрубочек и микрофиламентов [Malerba et al., 2010; Vokszczanin et al., 2013; Lin et al., 2014]. Изменения в цитоскелете вкупе с перестройками липидного бислоя мембран влекут за собой открытие специфических кальциевых каналов, расположенных в плазмалемме, и последующее поступление ионизированного кальция из межклеточного пространства в клетку [Saidi et al., 2009; Reddy et al., 2011; Lin et al., 2014; Рихванов и др., 2014]. Повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток растений (приблизительно в 2–4 раза по сравнению с обычными условиями) при высокотемпературном воздействии происходит очень быстро, например, в цитоплазме клеток *A. thaliana* или у мха *P. patens* в течение 3–5 минут от начала повышения температуры [Saidi et al., 2009; Finka et al., 2012; Gao et al., 2012]. Но через короткое время (несколько минут) уровень кальция

в цитозоле начинает снижаться, даже если высокая температура продолжает действовать [Saidi et al., 2009; Finka et al., 2012]. Очевидно, это объясняется тем, что поддержание гомеостаза кальция в живых клетках является важным условием их нормального функционирования. Предполагается, что амплитуда колебаний уровня ионов кальция внутри клетки в течение первых минут после повышения температуры определяет ее ответ на высокотемпературные воздействия [Reddy et al., 2011; Wu et al., 2012; Рихванов и др., 2014; Lin et al., 2014]: кратковременное поступление ионов кальция в клетки приводит к синтезу БТШ (HSP) и, следовательно, к повышению теплоустойчивости клеток, а длительное поступление ионов кальция – к их гибели [Saidi et al., 2009; Рихванов и др., 2014].

Необходимо отметить, что в клетках растений изменение содержания ионов кальция в цитозоле может происходить и за счет их высвобождения из внутриклеточных депо, например из эндоплазматического ретикула (ЭР) или вакуолей, и, вероятно, выступать в качестве дополнительного или независимого механизма восприятия высокотемпературного воздействия. Например, восприятие высокой температуры может происходить за счет изменения потока ионов кальция между ЭР и митохондриями, что инициирует Ca^{2+} -зависимый сигнальный путь и может приводить или к активации защитных механизмов, или к деградации клеток [Pottosin, Schönknecht, 2007; Williams et al., 2014].

Следовательно, допустимо предполагать, что среди кальциевых каналов, которые могут отличаться друг от друга как по локализации (например, плазматическая мембрана и внутриклеточные мембраны), так и по способу регуляции (например, потенциал-зависимые и лиганд-управляемые кальциевые каналы), существуют и такие, которые реагируют именно на изменения температуры [Медведев, 2005], выполняя, таким образом, роль специфических термосенсоров.

Действие высоких температур приводит не только к входу ионов кальция в клетку, но и к выходу электролитов из клетки, что в большей степени связано с утечкой ионов калия [Demidchik et al., 2014]. Причем умеренный выход ионов калия из клетки может запускать реакции, способствующие адаптации растений. Однако большие потери ионов калия ведут к активации процессов, связанных с программируемой клеточной смертью [Demidchik et al., 2014].

Совсем недавно высказано предположение, что температурным сенсором может быть

фоторецептор фитохром В (phyB) [Legris et al., 2016]. Как оказалось, переход этого белка из активной формы (Pfr) в неактивную (Pr) – термальная реверсия – может происходить в отсутствие света при изменении температуры, а скорость термальной реверсии зависит от температуры окружающей среды [Legris et al., 2016].

Описанные выше изменения, а именно повышение текучести плазматической мембраны, перестройка цитоскелета и открытие кальциевых каналов, происходят в клетках очень быстро, что свидетельствует об их первоочередности в цепи событий, связанных с восприятием теплового сигнала. Однако в клетках растений под влиянием резких изменений температуры окружающей среды происходят и другие, более медленно развивающиеся процессы, участники которых также могут рассматриваться в качестве кандидатов на роль температурных сенсоров. Например, при действии на растения неблагоприятных температур в полости ЭР накапливаются неправильно синтезированные, несвернутые или неправильно свернутые белки [Deng et al., 2013]. В результате этого ЭР испытывает значительную перегрузку, и развивается ЭР-стресс. В ответ на ЭР-стресс в растительной клетке активируется защитный механизм – UPR (unfolded protein response) [Wan, Jiang, 2016]. Основным регулятором UPR выступает белок BiP (binding protein). При ЭР-стрессе BiP диссоциирует от IRE1 (трансмембранного рецепторного белка, локализованного в ЭР-мембране) [Liu et al., 2007a, b; Kørner et al., 2015], что влечет за собой изменения в транскрипционной активности генов белков, участвующих в контроле качества белка в клетках [Kørner et al., 2015]. Следовательно, ЭР-стресс можно рассматривать как вторичный стресс и одновременно как начальное звено в цепи событий, связанных с восприятием сигнала о высокотемпературном воздействии.

Необходимо отметить, что восприятие высокой температуры через накопление неправильно упакованных белков в клетках растений может происходить не только в полости ЭР, но и в цитозоле клетки. В этом случае денатурированные белки взаимодействуют с БТШ70 и БТШ90, которые связаны с факторами теплового шока (ФТШ или HSF). В результате ФТШ освобождаются и участвуют уже в трансдукции сигнала о высокотемпературном воздействии [Yamada, 2007; Шишова и др., 2008; Kadota, Shirasu, 2012].

Резюмируя сказанное выше, можно заключить, что главная роль в восприятии

растениями высокотемпературных воздействий в настоящее время отводится плазмалемме и кальциевым каналам, расположенным в ней, ионам кальция, которые с определенной скоростью и амплитудой поступают в клетку (кальциевая волна или кальциевые осцилляции), и цитоскелету, а также фитохрому В, ЭР, БТШ70 и БТШ90 (рис.). Однако вопрос о существовании в клетках растений специфических рецепторов восприятия высокой температуры остается пока открытым.

Передача сигнала о высокотемпературном воздействии

В передаче сигнала о высокотемпературном воздействии в растительных клетках участвуют различные сигнальные молекулы и транскрипционные факторы (ТФ) (рис.). Например, известно, что ионы кальция являются не только участниками системы восприятия теплового сигнала, но и способны после поступления в клетку передавать его на другие компоненты сигнальных путей. При этом происходит активация кальций-связывающих белков (кальмодулина (CaM) и кальций-зависимых протеинкиназ (CDPK) [Sangwan et al., 2002; Mittler et al., 2012; Рихванов и др., 2014]. CDPK, в свою очередь, способны взаимодействовать с митоген-активируемыми протеинкиназами (MAPK) [Sangwan et al., 2002; Mittler et al., 2012]. MAPK и кальмодулин – это участники каскада реакций, конечным результатом которых является активация ТФ, а затем синтез шоковых белков [Потехина, Надеждина, 2002; Link et al., 2002; Ranty et al., 2006]. Поэтому использование в экспериментах веществ, блокирующих кальциевые каналы, снижает закалывающий эффект высокой температуры на растения [Larkindale, Knight, 2002; Колупаев et al., 2005; Карпец, 2007].

Наряду с ионами кальция в трансдукции сигнала о высокотемпературном воздействии участвуют активные формы кислорода (АФК) (рис.). Как известно, АФК являются продуктами нормального метаболизма, но при действии стрессоров их концентрация в клетках и тканях резко возрастает [Mori, Schroeder, 2004; Колупаев, Карпец, 2009; Sharma et al., 2012]. Повышение их уровня в клетках растений играет двойственную роль [Gill, Tuteja, 2010; Suzuki et al., 2011a]: в высоких концентрациях АФК наносят вред [Scandalios, 2005; Halliwell, 2006], а при умеренном содержании в клетке они выполняют сигнальную функцию [Bhattacharjee, 2012]. При тепловом стрессе АФК генерируются в различных компартментах клеток. Значительную роль в их генерации

играет нарушение работы электрон-транспортных цепей в мембранах хлоропластов и митохондрий [Davidson, Schiestl, 2001; Колупаев, Карпец, 2009; Пономарева и др., 2014]. Другим механизмом усиленного накопления АФК является кальций-зависимая активация АФК-генерирующего фермента НАДФН-оксидазы плазматической мембраны [Колупаев, Карпец, 2010; Chou et al., 2012; Колупаев и др., 2013; Lin et al., 2014]. Умеренный окислительный стресс в клетках растений, вызванный повышением температуры окружающей среды, приводит к запуску защитных механизмов. АФК влияет на уровень экспрессии стрессовых генов и регулирует активность ТФ [Apel, Hirt, 2004]. H_2O_2 участвует в активации ФТШ (AtHSFA4a и AtHSFA8) при воздействии высокой температуры на растения *A. thaliana* [Davletova et al., 2005; Miller, Mittler, 2006; Kotak et al., 2007]. Кроме того, у *A. thaliana*, подверженных воздействию высокой температуры или обработке H_2O_2 , в клетках накапливаются мРНК БТШ – *HSP17,6*, *HSP18,2* и двух цитозольных аскорбатпероксидаз – *APX1* и *APX2*. Однако в присутствии аскорбиновой кислоты или ингибитора накопления АФК – DPI (diphenyleneiodonium chloride) индукция синтеза стрессовых генов резко уменьшается [Volkov et al., 2006], что еще раз подчеркивает важность АФК в передаче сигнала о тепловом стрессе.

Отметим, что не только АФК, но и другие молекулы со свойствами радикала, например оксид азота, могут участвовать в передаче стрессового сигнала [Карпец и др., 2012]. Действие оксида азота как сигнальной молекулы тесно сопряжено с такими важными посредниками, как кальций, АФК и фитогормоны [Колупаев, Карпец, 2010].

Определенную роль в передаче сигнала о высокотемпературном воздействии в клетках растений могут играть липидные сигнальные молекулы: фосфатидиловая кислота (РА), фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PIP2) и инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3) [Mishkind et al., 2009; Mittler et al., 2012; Hou et al., 2016]. Роль липидных молекул в передаче сигнала о неблагоприятных воздействиях активно исследуется, и в литературе имеются довольно подробные обзоры на эту тему [Singh et al., 2015; De Bigault Du Granrut, Cacas, 2016; Hong et al., 2016]. По-видимому, накопление сигнальных липидных молекул является одной из причин открытия кальциевых каналов в плазмалемме [Bokszczanin et al., 2013]. Однако в некоторых работах, наоборот, отмечена первичная роль изменения содержания ионов кальция в активации фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназы

(PIPK3), которая в последующем может активировать липоксигеназную сигнальную систему [Dressler et al., 2014; Hou et al., 2016].

Нельзя не отметить и участие в трансдукции сигнала о высокотемпературном воздействии в клетках растений гормонов, в частности абсцизовой кислоты (АБК), жасмоновой и салициловой кислот [Tuteja, Sopory, 2008]. Указанные фитогормоны в качестве сигнальных молекул способны вызывать накопление ионов кальция, активацию ТФ и различных сигнальных молекул, запуск синтеза шоковых белков [Tuteja, Sopory, 2008; Колупаев, Карпец, 2010]. Наконец, в процессе передачи стрессового сигнала также могут участвовать растворимые углеводы (сахара) и низкомолекулярные азотистые соединения (свободные аминокислоты, полиамины, бетаины) [Tuteja, Sopory, 2008; Колупаев, Карпец, 2010] и др.

Определенную роль в передаче сигнала об изменении температуры окружающей среды, как отмечалось выше, играет цитоскелет растительных клеток [Хохлова, Невмержицкая, 2011]. Элементы цитоскелета взаимодействуют с компонентами различных сигнальных систем, например, ионами кальция, полифосфоинозитидами, ГТФазами, MAP-киназами и др. [Хохлова, Невмержицкая, 2011]. Белками-мишенями киназ или кальций-зависимых сигнальных путей являются актинсвязывающие (ABPs) и ассоциированные с микротрубочками (MAPs) белки.

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что действие высоких температур приводит к накоплению и активации различных сигнальных молекул. В свою очередь, сигнальные молекулы активируют ТФ, их синтез и/или синтез шоковых белков.

Очень важным звеном в процессе передачи сигнала о высокотемпературном воздействии в ядро являются различные ТФ (рис.), которые представляют собой белки, распознающие определенные последовательности в *cis*-регуляторных областях ДНК, благодаря чему осуществляется избирательный контроль экспрессии генов [Меркулов, Меркулова, 2014; Todeschini et al., 2014]. При действии высоких температур у растений активируется целый ряд ТФ, некоторыми наиболее важными из них являются HSF (или ФТШ), DREB, Cys²His² zinc finger [von Koskull-Döring et al., 2007].

ФТШ запускают синтез БТШ. В промоторе генов БТШ находится консервативная последовательность -5'-аGAAg-3', получившая название «элемент теплового шока». ФТШ взаимодействуют с этими элементами и тем самым активируют синтез БТШ [Baniwal et al., 2004; Kotak et al.,

2007; Косаковская, 2008; Xue et al., 2014a]. Кроме того, элементы теплового шока обнаружены и в промоторах генов, кодирующих фермент аскорбатпероксидазу (APX1, APX2) и ТФ ZAT12 [Mittler, Zilinskas, 1992; Storozhenko et al., 1998; Miller, Mittler, 2006], в связи с чем можно предположить, что ФТШ регулируют транскрипционную активность не только генов БТШ, но и других белков (ферментов), участвующих в защитных реакциях растительных клеток.

Растения имеют более 20 ФТШ (или HSF) [Baniwal et al., 2004; von Koskull-Döring et al., 2007; Zhu et al., 2013], которые относятся к нескольким классам (А, В и С) [Qu et al., 2013] и обладают способностью активировать как ФТШ другого класса, так и ТФ другого семейства. Предполагается, что HSFA1 является одним из главных регуляторов ответа клеток растений на высокотемпературное воздействие. Так, было показано, что HSFA1 регулирует экспрессию примерно 65 % индуцируемых теплом генов у *A. thaliana* [Liu et al., 2011]. В другом исследовании растений *A. thaliana* показано, что среди генов, экспрессия которых регулируется ТФ HSFA1, 26,6 % приходится на гены шаперонов и кошаперонов, а 15,3 % – на гены ТФ [Liu, Charng, 2013]. Помимо этого известно, что у *A. thaliana* HSFA1d и HSFA1e совместно с HSFA1a и HSFA1b регулируют экспрессию генов *HSFA7a*, *HSFB1* и *HSFB2a* [von Koskull-Döring et al., 2007; Nishizawa-Yokoi et al., 2011]. HSFA1 контролируют экспрессию *HSFA2* и *DREB2A* [Liu et al., 2011], HSFA3 индуцирует синтез DREB2C [Chen et al., 2010].

Интересно, что изменения в экспрессии различных ФТШ в клетках растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при действии высоких температур не обязательно носят сходный характер, и, что важно, они зависят от продолжительности температурного воздействия. Так, в начальный период (1,5–5 ч) воздействия высокой температуры у пшеницы усиливается экспрессия генов *HSFA2*, *A6*, *A7*, *A4* и *A5*, в то время как экспрессия *HSFA1*, *A3*, *A8*, наоборот, снижается [Xue et al., 2014b]. У растений риса (*Oryza sativa* L.) в начальный период воздействия высокой температуры повышается содержание ФТШ группы A4, а при более длительном действии увеличивается содержание группы A1 [Jin et al., 2013]. У *A. thaliana* HSFA4a и HSFA8 являются возможными сенсорами H₂O₂ [Miller, Mittler, 2006].

ФТШ растений также вовлечены в регуляцию UPR. Было показано, что пре-мРНК *OsHSFA2d* у растений *Oryza sativa* ssp. *japonica* подвергается альтернативному сплайсингу, вследствие этого в их клетках присутствует несколько форм

мРНК гена *OsHSFA2d*. При отсутствии стрессовых условий в клетках в основном присутствует транскрипционно неактивная форма этой мРНК (*OsHSFA2dll*), тогда как при действии высокой температуры – транскрипционно активная форма мРНК (*OsHSFA2dl*). *OsHSFA2dl* кодирует белок из 357 аминокислот (*OsHSFA2dl*), который содержит все консервативные домены, характерные для ФТШ класса А. Другие два транскрипта кодируют небольшой белок, состоящий из 113-аминокислот (*OsHSFA2dll*), у которого в отличие от *OsHSFA2dl* ДНК-связывающий домен значительно короче и отсутствуют олигомеризационный и С-терминальный активационный домены. *OsHSFA2dl* локализован в ядре и функционирует как активатор транскрипции при тепловом стрессе, в том числе он регулирует экспрессию гена ключевого компонента UPR – *OsBiP1* [Cheng et al., 2015].

Еще одним ключевым ТФ, участвующим в регуляции генов, кодирующих шоковые белки, и необходимым участником передачи стрессового сигнала является MBF1. Этот ТФ активируется кальмодулином [Mittler et al., 2012]. К основным генам-мишеням MBF1 относят гены ТФ, например, *ZAT7* и *ZAT12* и *DREB2A*, аскорбатпероксидазы 2 (*APX2*) и БТШ [Suzuki et al., 2005, 2011a]. Очевидно, поэтому растения *A. thaliana* с постоянной экспрессией MBF1 отличаются повышенной теплоустойчивостью [Suzuki et al., 2011b].

Не менее важная роль в передаче сигнала о высокотемпературном воздействии отводится классу ТФ DREB (the dehydration responsive element-binding). DREB относятся к AP2/ERF семейству и состоят из двух подклассов DREB1/CBF и DREB2 [Agarwal et al., 2006; Lindemose et al., 2013]. Действие высокой температуры вызывает увеличение экспрессии подкласса DREB2 у *A. thaliana* [Sakuma et al., 2006], *Zea mays* L. [Qin et al., 2007] и некоторых других растений [Liu et al., 2008; Lata, Prasad, 2011]. В свою очередь, это приводит к активации экспрессии генов других ТФ и стрессовых генов [Nakashima et al., 2009; Sun et al., 2014]. Известно, что у *A. thaliana* DREB2A регулируют экспрессию *HSP70*, *HSP18.1*, *CPsHSP*, *AtCYP18-1* [Sakuma et al., 2006], DREB2A и DREB2C – экспрессию гена *HSFA3* [Schramm et al., 2008; Chen et al., 2010; Grover et al., 2013]. Сверхэкспрессия *OsDREB2B* у *A. thaliana* приводит не только к повышению экспрессии гена *DREB2A*, но и к увеличению теплоустойчивости трансгенных растений [Matsukura et al., 2010].

Нельзя не отметить семейство ТФ, которые в своей структуре имеют ДНК-связывающий домен по типу цинковых пальцев, откуда эти

ТФ и получили свое название – Cys²His² zinc finger (C2H2 ZF). Семейство включает в себя ТФ, участвующие в ответной реакции растений на действие ряда неблагоприятных факторов окружающей среды [Lindemose et al., 2013]. Известно, что высокие температуры индуцируют экспрессию некоторых групп этого семейства, например, ZFP1 и ZAT у *A. thaliana* [Ciftci-Yilmaz, 2007; Kim et al., 2015], *Festuca arundinacea* (Schreb.) [Martin et al., 2012], *Tamarix hispida* [Zang et al., 2015] и др. [Qu et al., 2013]. Предполагается, что эти ТФ являются участниками формирования теплоустойчивости у растений *A. thaliana* [Mittler et al., 2006; Ciftci-Yilmaz et al., 2007]. Показано, что ZFP1 активирует экспрессию генов, кодирующих каталазу и супероксиддисмутазу, и гена, кодирующего фермент синтеза пролина D-пирролин-5-карбоксилат-синтазу (*P5CS*) [Zang et al., 2015]. Высокий уровень экспрессии генов *ZAT10* и *ZAT12* приводит к повышению экспрессии генов антиоксидантных ферментов *APX1*, *APX2* [Rizhsky et al., 2004; Mittler et al., 2006; Shah et al., 2013] и регуляторных генов *WRKY*, *MBF1* и *FSD1* [Rizhsky et al., 2004; Davletova et al., 2005; Mittler et al., 2006]. Следовательно, можно думать, что ТФ, относящиеся к этому семейству (C2H2 ZF), влияют на теплоустойчивость растений через активацию антиоксидантной системы и регуляцию экспрессии некоторых других ТФ.

Рассматривая вопрос активации различных ТФ в клетках растений при высокотемпературном воздействии, нельзя оставить без внимания такие важные ТФ, как bZIP. bZIP участвуют в передаче сигнала о накоплении неправильно упакованных белков в полости ЭР. Как уже отмечалось, действие высокой температуры вызывает в клетках растений ЭР-стресс, в ответ на это активируется защитный механизм UPR (unfolded protein response). Этот процесс инициируется после диссоциации белка BiP с трансмембранными белками IRE1, bZIP17 и bZIP28 [Kørner et al., 2015]. Первый механизм включения UPR заключается в отсоединении BiP от IRE1, после чего IRE1 подвергается олигомеризации с последующим аутофосфорилированием цитозольного киназного домена и активацией рибонуклеазного домена. Активный IRE1 участвует в формировании альтернативно-сплайсированной формы мРНК *bZIP60*, которая кодирует активную форму этого ТФ, последний транслируется в ядро и регулирует транскрипцию генов белков, вовлеченных в ответ клетки на неупакованные белки [Kørner et al., 2015]. При активации другого пути UPR bZIP17 и bZIP28 диссоциируют с BiP и поступают в аппарат Гольджи, где происходит их

расщепление и высвобождение N-терминального фрагмента, содержащего ДНК-связывающий домен. После этого фрагмент перемещается в ядро, связывается с цис-регуляторными областями генов белков, участвующих в контроле качества белка в клетках [Kørner et al., 2015]. В настоящее время у растений *A. thaliana* помимо упомянутых IRE1, bZIP17 и bZIP28 обнаружены и другие белки, участвующие в восприятии и регуляции ЭР-стресса, в частности ТФ семейства NAC (NAC089, NAC062) [Yang et al., 2014a, b] и WRKY75 [Hossain et al., 2016].

Помимо вышеперечисленных ТФ в процессе передачи сигнала о высокотемпературном воздействии участвуют и другие ТФ, такие как MYB [El-kereamy et al., 2012; Almeida et al., 2013; Ambawat et al., 2013], WRKY [Zhu et al., 2013; Bakshi, Oelmuller, 2014] и др.

Интересно, что на способность ТФ активировать экспрессию генов влияет доступность хроматина для транскрипционного аппарата. Причем ремоделирование хроматина (конденсация/деконденсация) при действии на растения неблагоприятных факторов среды относят в настоящее время к одному из основных механизмов репрограммирования генома в условиях стресса [Arnholdt-Schmitt, 2004]. Действие высоких температур может приводить к снижению плотности его упаковки (деконденсации) за счет деметилирования и ацетилирования гистоновых белков. Например, у растений кукурузы (*Zea mays*), подвергнутых высокотемпературному воздействию, наблюдается модификация гистонов, в частности, возрастает общий уровень ацетилирования гистонов H3 K9, H4 K5 и H3, что сопровождается увеличением размера ядрышка и деконденсацией некоторых участков хроматина [Wang et al., 2015]. Открыт еще один механизм ремоделирования хроматина, по крайней мере, у растений *A. thaliana* [Kumar, Wigge, 2010]. Оказалось, при выращивании этих растений при температурах ниже оптимальных в нуклеосомах происходит замещение гистона H2A на H2A.Z, а при повышении температуры роста этот гистон вновь замещается на H2A. H2A.Z обнаружен в сайтах начала транскрипции очень многих генов и необходим для регулирования экспрессии генов и стабильности хроматина [Lu et al., 2009]. Высказано предположение, что при более низких температурах роста H2A.Z в нуклеосомах подавляет экспрессию генов путем физического блокирования транскрипции или путем предотвращения связывания активирующих ее комплексов. Замещение H2A.Z на H2A при более высоких температурах, напротив, способствует транскрипции этих генов. Эксперименты

с изолированным хроматином показали, что температура непосредственно изменяет состав нуклеосом и доступность промоторов некоторых генов для транскрипционного аппарата [Kumar, Wigge, 2010]. Это позволило высказать предположение, что хроматин играет ключевую роль в реакции на изменение температуры окружающей среды, возможно, у широкого круга растений и родственных им организмов [Kumar, Wigge, 2010].

Помимо описанного выше способа регуляции экспрессии генов шоковых белков посредством взаимодействия транс-элементов (в частности, транскрипционных факторов ТШ) с цис-регуляторными областями имеются и другие механизмы, позволяющие контролировать процесс транскрипции и трансляции в клетках растений в условиях стресса. Регуляция транскрипции генов в ходе развития растений, а также при действии на них неблагоприятных факторов среды может осуществляться за счет изменения степени метилирования ДНК, а именно CpG-островков в промоторе или цитозина в других частях гена. Усиление метилирования цитозина в области промотора гена влияет на эффективность связывания с ней ТФ и, как правило, приводит к подавлению транскрипционной активности генов [Zilberman et al., 2007]. Ингибирование метилирования ДНК у растений сопровождается, к примеру, индукцией генов запасных белков и изменением времени цветения [Soppe et al., 2000]. В некоторых исследованиях показано, что действие высоких температур на растения сопровождается повышением метилирования генома [Войко et al., 2010; Correia et al., 2013]. Вероятно, изменение степени метилирования ДНК имеет важное значение для процессов адаптации растений к неблагоприятным температурам. Так, оказалось, что при действии на растения *Brassica napus* L. высоких температур у теплоустойчивых сортов уровень метилирования ДНК был выше, чем у чувствительных к тепловому воздействию генотипов [Gao et al., 2014]. Исследование теплоустойчивости мутантов, у которых нарушены процессы метилирования ДНК, показало, что они важны и для формирования базовой (конституционной) теплоустойчивости растений [Pорова et al., 2013].

Контроль экспрессии генов на уровне трансляции может также осуществляться за счет изменения конформации сложных РНК-структур при изменении температуры окружающей среды. Предложен даже такой термин – «РНК термометры» [Narberhaus et al., 2006]. Чувствительные к температуре последовательности нуклеотидов РНК находятся в их

5'-нетранслируемой области. При низких температурах они образуют спаренные основания, тем самым маскируя сайт связывания с рибосомами. При более высоких температурах происходит плавление этих структур, открывается доступ для рибосом и иницируется трансляция [Narberhaus et al., 2006].

Другой интенсивно изучаемый механизм посттранскрипционной регуляции экспрессии генов растений при действии на них стресс-факторов состоит в контроле уровня транскриптов генов за счет малых РНК и так называемых длинных некодирующих РНК [Liu et al., 2015].

Из изложенного выше очевидно, что в клетках растений имеются разнообразные механизмы ответной реакции клеток на высокотемпературные воздействия на уровне генома, многие из которых еще слабо изучены. Не исключено, что в ближайшее время будут открыты новые способы транскрипционного и посттранскрипционного контроля теплоустойчивости растений.

Синтез шоковых белков

В настоящее время считается, что синтез шоковых белков необходим растениям для приобретения высокой теплоустойчивости и является завершающим этапом клеточного ответа на высокотемпературные воздействия. Как уже отмечалось, повышение температуры окружающей среды способно вызывать репрограммирование генома клеток, в результате которого индуцируется и/или увеличивается синтез одних белков (чаще всего шоковых) и снижается синтез других (обычных) белков. В целом в клетках растений, подвергнутых высокотемпературному воздействию, транскрипты, относящиеся к стресс-индуцируемым, составляют приблизительно 12 % от общего пула транскриптов [Zhang et al., 2005]. В растениях *N. tabacum* после воздействия высоких температур (37 °С в течение 1 ч, а затем 44 °С в течение 6 ч) уровень транскриптов генов низкомолекулярных БТШ (нмБТШ) возрастал более чем в 1500 раз по сравнению с уровнем этих белков у контрольных растений [Rizhsky et al., 2002]. Оказалось, что высокие температуры также способствуют повышению транскрипционной активности генов, кодирующих белки так называемого «домашнего хозяйства», т. е. тех, которые участвуют в поддержании структуры и функций клеток в обычных условиях. Как показано в работе Rizhsky с соавт. [2002], последовательное действие высоких температур на растения вызывает повышение

уровня транскриптов генов, кодирующих большую субъединицу рибулозобисфосфаткарбоксилазы, тиоредоксин, цитохром с-оксидазу и, что важно, некоторые ферменты, участвующие в утилизации АФК, например, аскорбатпероксидазу и глутатионпероксидазу. Экспрессия генов, кодирующих белки, участвующие в метаболизме сахаров, напротив, в этих условиях была, как правило, значительно ниже, чем у контрольных растений [Rizhsky et al., 2002].

Следует сказать, что шоковые, или стрессовые, белки – понятие довольно широкое, под которым можно подразумевать ферменты антиоксидантной защиты, убиквитин, LEA-белки, Pir-белки, дегидрины и др. [Wahid et al., 2007]. Однако в данном обзоре мы сфокусировали свое внимание на БТШ.

Экспрессия целого ряда БТШ повышается уже в первые часы и даже минуты высокотемпературного воздействия. Индукторами синтеза БТШ выступают (прямо или опосредованно) различные сигнальные молекулы. Так, установлено, что обработка растений экзогенным кальцием или повышение в них уровня кальмодулина сопровождается усилением экспрессии генов БТШ, например, *TaHSP26* и *TaHSP70* у *Triticum aestivum* и *HSP18,2* у *A. thaliana* [Liu et al., 2003, 2005]. При обработке клеток суспензионной культуры *N. tabacum* донорами оксида азота наблюдается не только синтез БТШ, но и повышение теплоустойчивости растений [Lamotte et al., 2004].

Многие БТШ функционируют как молекулярные шапероны, т. е. участвуют в упаковке новых белков и в деградации и/или восстановлении поврежденных белков. Кроме того, как уже отмечалось, БТШ являются компонентами системы рецепции повышенной температуры. Поэтому неудивительно, что эти белки играют важную роль в теплоустойчивости растений. Например, рядом авторов показано, что устойчивость растений к высоким температурам коррелирует со скоростью и уровнем накопления БТШ [Lin et al., 1984; Kee, Nobel, 1986; Rikhvanov et al., 2007]. Так, сверхэкспрессия БТШ101 в клетках *A. thaliana* способствовала усилению теплоустойчивости этих растений, тогда как выключение гена, кодирующего этот белок, путем введения антисмысловой мРНК приводило к снижению теплоустойчивости [Queitsch et al., 2000]. Добавим, что устойчивые и неустойчивые к действию высоких температур сорта одного и того же вида растений могут отличаться как спектром, так и количеством одних и тех же БТШ [Wang, Luthe, 2003].

В зависимости от молекулярной массы БТШ разделяются на пять групп: БТШ100, БТШ90,

БТШ70, БТШ60 и нмБТШ [Al-Whaibi, 2011]. Эти белки сосредоточены в разных компартментах клеток (цитозоле, митохондриях, хлоропластах, ЭР) и выполняют различные функции не только в условиях температурного стресса, но и в обычных условиях [Zhang et al., 2015].

Первая группа БТШ включает белки с молекулярной массой 100 кДа и выше, и они необходимы для повышения теплоустойчивости растений [Agarwal et al., 2002]. Исследования, проведенные на трансгенных и мутантных растениях *A. thaliana*, показали, что уровень теплоустойчивости положительно коррелирует с экспрессией БТШ101 [Hong, Vierling, 2000; Queitsch et al., 2000]. Установлено, что БТШ101 разрушают белковые агрегаты, которые возникают в клетке при действии высоких температур [Agarwal et al., 2002; Usman et al., 2014].

Содержание в клетке БТШ90 даже при отсутствии стрессового воздействия относительно велико – 1–2 % от суммы всех цитозольных белков [Козеко, 2010; Usman et al., 2014], что указывает на важную роль белков этого семейства в поддержании нормальной жизнедеятельности эукариотических клеток. Эти белки локализованы в различных структурах клетки, но, даже находясь в одной органелле, они имеют большое количество различных изоформ, характеризующихся разной функциональной активностью. Например, в цитозоле клеток у растений *A. thaliana* изоформы AtHSP90.1 и AtHSP90.3 показывают неодинаковую шаперонную активность: у AtHSP90.3 она выше, чем у AtHSP90.1 [Cha et al., 2013]. Отличительной особенностью БТШ90 является то, что они специфически осуществляют фолдинг и регулируют конформацию ряда белков разных сигнальных путей клетки [Козеко, 2010], в частности, рецепторов стероидных гормонов и сигнальных киназ [Xu, Lindquist, 1993; Goes, Marthin, 2001]. В нормальных условиях БТШ90 участвуют во внутриклеточном транспорте, а при действии высоких температур – в клеточном цикле и цитокинезе, связываются с белками с нарушенной структурой и передают их шаперонам (БТШ70) для ренатурации или протеасомам для протеолиза [Козеко, 2010]. Интересно, что повышение температуры в пределах оптимума стимулирует рост растений *A. thaliana*, так как в таких условиях БТШ90 оказывают влияние на накопление Tir1 (transport inhibitor response1) и, таким образом, проявляют себя как регулятор роста [Wang et al., 2016].

БТШ70 – большая группа белков, присутствующих почти всем живым организмам [Boorstein et al., 1994; Usman et al., 2014]. Установлено,

что БТШ70 предотвращают агрегацию частично денатурированных белковых молекул, участвуют в протеолитической деградации необратимо поврежденных белков и их транспорте к лизосомам и протеасомам [Колупаев, Карпец, 2010]. Функции БТШ70 могут зависеть и от их локализации в клетке. Так, в полости ЭР располагается трансмембранный шаперон БТШ70 (BiP), речь о котором уже шла выше – обязательный компонент системы контроля качества белка [Iwata, Koizumi, 2012]. У растений перца (*Capsicum annuum* L.) цитоплазматический HSP70 (CaHSP70-1) участвует в переносе сигнала о стрессовом воздействии и, соответственно, в формировании ответа на высокотемпературный стресс [Guo et al., 2014]. На растениях *Oryza sativa* показано, что в условиях высокотемпературного стресса пластидный БТШ70 (OsHSP70CP1) необходим для развития хлоропластов [Kim, An, 2013]. По-видимому, благодаря перечисленным функциям эти белки защищают растительные клетки от неблагоприятного воздействия высоких температур [Al-Whaibi, 2011] и от индуцированного ими окислительного стресса [Scarpeci et al., 2008; Montero-Barrientos et al., 2010].

БТШ с молекулярной массой 60 кДа является молекулярным шапероном. Эти белки часто называют шаперонинами, так как они имеют сложную четвертичную структуру, образованную двумя взаимодействующими друг с другом «кольцами», состоящими из 7–8 субъединиц [Марченков и др., 2006]. Благодаря такой структуре БТШ60 способны на своих противоположных поверхностях попеременно связывать и инкубировать белки, подлежащие упаковке [Мельников, Ротанова, 2010]. Предполагается, что БТШ60 совместно с БТШ70 участвуют в упаковке различных белков хлоропластов [Usman et al., 2014] и митохондрий [Deocarís et al., 2006], в том числе ключевого фермента фотосинтеза рибулозобисфосфаткарбоксилазы [Косаковская, 2008]. Установлено, что в неблагоприятных условиях содержание БТШ60 в клетках увеличивается в 2–3 раза [Марченков и др., 2006].

Биосинтез нмБТШ начинается в ответ на действие неблагоприятных факторов окружающей среды и сопровождается развитием устойчивости растений, при этом в тканях вегетативных органов растений при нормальных условиях нмБТШ не синтезируются [Waters et al., 1996; Косаковская, 2008]. При тепловом воздействии нмБТШ образуют агрегатные комплексы с массой от 210 до 280 кДа и вместе с БТШ70 формируют гранулы теплового шока [Kirschner et al., 2000]. Однако сам механизм,

благодаря которому нмБТШ защищают клетку, почти не изучен [Косаковская, 2008]. Известно лишь, что нмБТШ при стрессе защищают макромолекулы, в частности РНК, и участвуют в упаковке неправильно свернутых белков [Косаковская, 2008]. HSP16.45, по-видимому, непосредственно участвует в формировании теплоустойчивости [Yeh et al., 1997]. Об этом свидетельствует тот факт, что у трансгенных растений *A. thaliana* с повышенной экспрессией *LimHSP16,9* зафиксирован более высокий уровень устойчивости к действию высоких температур и других стресс-факторов [Mu et al., 2013]. Повышение теплоустойчивости растений *T. aestivum* под влиянием закалывающих температур сопровождается накоплением транскриптов генов *HSP19* [Нилова и др., 2015].

Таким образом, можно заключить, что БТШ необходимы для стабилизации многих структур и функций клеток в условиях действия на растения высоких температур. Особенно важно, что данная группа белков способна нормализовать структуру и функции других белков, которые могут накапливаться в большом количестве в клетках под влиянием стресса [Wan, Jiang, 2016]. Поэтому следует рассматривать БТШ как важнейший функциональный компонент реакции растений на высокотемпературные воздействия, во многом благодаря которому они приобретают более высокую теплоустойчивость и способность переносить неблагоприятные последствия, вызванные действием высокой температуры.

Заключение

Проведенный анализ литературы показывает, что в клетках растений под влиянием высоких температур происходит целый ряд важных событий, включая те, благодаря которым сигнал о высокотемпературном воздействии воспринимается и передается в ядро, вызывая репрограммирование генома клеток. В результате этого в клетках активизируется синтез большой группы шоковых (стрессовых) белков, которые активно участвуют в процессе повышения теплоустойчивости клеток. Вследствие этого теплоустойчивость клеток и растения в целом повышается и, следовательно, увеличиваются его шансы на выживание в условиях действия высокой температуры.

Однако нельзя не сказать, что, несмотря на очевидные успехи, достигнутые за последние годы при изучении этого вопроса, по-прежнему не вполне ясны многие аспекты восприятия высокотемпературного воздействия растениями. Так, например, наличие в клетке

специфических терморцепторов лишь предполагается [Mittler et al., 2012]. Не исключено, что сигнальные системы растений, как предполагают некоторые авторы [Kotak et al., 2007; Колупаев, Карпец, 2010; Lindemose et al., 2013], объединены в единую сигнальную сеть. Если это так, то в ближайшее время предстоит более детально изучить компоненты этой сети и взаимоотношения (взаимодействие) между ними. Не исключая при этом, что число участников сети может оказаться гораздо большим, чем представляется сейчас. Нет однозначного ответа и на вопрос о том, существуют ли принципиальные различия в клеточном ответе на высокотемпературные воздействия у разных групп растений и насколько велика ткане- и органоспецифичность в ответной реакции растений на тепловые воздействия. Ответы на все эти и некоторые другие вопросы помимо теоретической важности имеют и практическое значение, так как только глубокое понимание природы теплоустойчивости растений может помочь найти правильные пути селекционно-генетического улучшения целого ряда сельскохозяйственных культур, ощутимые потери урожая которых во многих регионах мира происходят из-за воздействия высоких температур.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0032).

Литература

Карпец Ю. В. О возможных механизмах индукции теплоустойчивости проростков пшеницы мягкой и сосны обыкновенной кратковременным действием высокой температуры // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія біологія. 2007. Вип. 3, № 12. С. 63–70.

Карпец Ю. В., Колупаев Ю. Е., Ястреб Т. О., Дмитриев А. П. Возможное взаимодействие сигнальных систем при индуцировании устойчивости растительных клеток к тепловому стрессу // Reports of National Academy of Sciences of Ukraine. 2012. № 9. С. 136–141.

Козеко Л. Е. Белки теплового шока 90 КДа: разнообразие, структура и функции // Цитология. 2010. Т. 52, № 11. С. 893–910.

Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 41, № 2. С. 95–104.

Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций на действие абиотических стрессоров. Киев: Основа, 2010. 352 с.

Колупаев Ю. Е., Обозный А. И., Швиденко Н. В. Роль пероксида водорода в формировании

сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 2. С. 221–229. doi: 10.7868/S0015330313020127

Косаковская И. В. Стрессовые белки растений / Ред. И. В. Косаковская. Киев: Фитосоциумцентр, 2008. 152 с.

Лутова Л. А., Ежова Т. А., Додуева И. Е., Осипова М. А. Генетика развития растений: для биологических специальностей университетов. СПб.: Издательство Н-Л, 2010. 432 с.

Марченков С. Ю., Марченко Н. Ю., Марченкова С. Ю., Семисотнов Г. В. Молекулярные шапероны прокариотических и эукариотических клеток // Успехи биологической химии. 2006. Т. 46. С. 279–302.

Медведев С. С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 1. С. 1–24.

Мельников Э. Э., Ротанова Т. В. Молекулярные шапероны // Биоорганическая химия. 2010. Т. 36, № 1. С. 5–14.

Меркулов В. М., Меркулова Т. И. Регуляторные транскрипционные факторы могут контролировать процесс транскрипции на стадии элонгации пре-мРНК // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18, № 2. С. 329–337.

Нилова И. А., Топчиева Л. В., Титов А. Ф. Экспрессия генов БТШ у пшеницы при действии высоких температур // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. № 12. С. 55–65. doi: 10.17076/eb240

Пономарева А. А., Рахматуллина Д. Ф., Газизова Н. И., Минибаева Ф. В. Динамические преобразования митохондрий при действии митохондриальных ядов // Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий: материалы: в 2-х ч. Международная научная конференция и школа молодых ученых (Калининград, 19–25 мая). Иркутск, 2014. С. 360–362.

Потехина Е. С., Надеждина Е. С. Митоген-активируемые протеинкиназные каскады и участие в них Ste20-подобных протеинкиназ // Успехи биологической химии. 2002. Т. 42. С. 235–256.

Рихванов Е. Г., Федосеева И. В., Пятрикас Д. В., Боровский Г. Б., Войников В. К. Механизм функционирования кальциевой сигнальной системы у растений при действии теплового стресса. Роль митохондрий в этом процессе // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 2. С. 155–169. doi: 10.7868/S0015330314020134

Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений / Ред. А. Н. Гречкин. М.: Наука, 2002. 294 с.

Хохлова Л. П., Невмержицкая Ю. Ю. Роль цитоскелета в сигнальных системах растений // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. 2011. Т. 153. С. 147–179.

Шишова М. Ф., Танкелюн О. В., Емельянов В. В., Полевой В. В. Рецепция и трансдукция сигналов у растений. СПб.: С.-Петербург. ун-т, 2008. 263 с.

Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Grover A. Plant Hsp100 proteins: structure, function and regulation // Plant Science. 2002. Vol. 163. P. 397–405. doi: 10.1016/S0168-9452(02)00209-1

Agarwal P. K., Agarwal P., Reddy M. K., Sopory S. K. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants // Plant Cell Rep. 2006. Vol. 25. P. 1263–1274. doi: 10.1007/s00299-006-0204-8

Almeida T., Pinto G., Correia B., Santos C., Goncalves S. OsMYB1 expression is modulated in response to heat and drought stresses and during plant recovery in *Quercus suber* // Plant Physiology and Biochemistry. 2013. P. 274–281. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.10.007

Al-Whaibi M. H. Plant heat-shock proteins: A mini review // Journal of King Saud University – Science. 2011. Vol. 23. P. 139–150. doi: 10.1016/j.jksus.2010.06.002

Ambawat S., Sharma P., Yadav N. R., Yadav R. C. MYB transcription factor gene as regulators for plant responses: an overview // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2013. P. 307–321. doi: 10.1007/s12298-013-0179-1

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction // Annual review of Plant Biology. 2004. Vol. 55. P. 373–399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701

Arnholdt-Schmitt B. Stress-induced cell reprogramming: A role for global genome regulation? // Plant Physiol. 2004. Vol. 136. P. 2579–2586. doi: 10.1104/pp.104.042531

Bahuguna R. N., Jagadish K. S. V. Temperature regulation of plant phenological development // Environmental and Experimental Botany. 2015. Vol. III. P. 83–90. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.10.007

Bakshi M., Oelmuller R. WRKY transcription factors. Jack of many trades in plants // Plant Signaling and Behavior. 2014. 9: e27700. doi: 10.4161/psb.27700

Baniwal S. K., Bharti K., Chan K. Y., Fautn M., Ganguli A., Kotak S., Mishra S. K., Nover L., Port M., Scharf K.-D., Tripp J., Weber Ch., Zielinski D., Koskull-Doring P. Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors // J. Biosci. 2004. Vol. 29, no. 4. P. 471–487.

Bhattacharjee S. The language of reactive oxygen species signaling in plants // Journal of Botany. 2012. Article ID 985298, 22 p. doi: 10.1155/2012/985298

Bokszczanin K. L., Solanaceae Pollen Thermotolerance Initial Training Network (SPOT-ITN) Consortium, Fragkostefanakis S. Perspectives on deciphering mechanisms underlying plant heat stress response and thermotolerance // Frontiers in Plant Science. Plant Physiology. 2013. Vol. 4. doi: 10.3389/fpls.2013.00315

Boorstein W. R., Ziegelhoffer Th., Craig E. A. Molecular evolution of the HSP70 multigene family // J. Mol. Evol. 1994. Vol. 38. P. 1–17.

Boyko A., Blevins T., Yao Y., Golubov A., Illynskyy Y., Hollander J., Meins F., Kovalchuk I. Transgenerational adaptation of Arabidopsis to stress requires DNA methylation and the function of Dicer-like proteins // PLoS ONE. 2010. Vol. 5: e9514. doi: 10.1371/journal.pone.0009514

Cha J.-Y., Kim J.-Y., Kang S. B., Kim M. R., Su'udi M., Kim W.-Y., Son D. Structural and functional differences of cytosolic 90-kDa heat-shock proteins (Hsp90s) in *Arabidopsis thaliana* // Plant Physiology and Biochemistry. 2013. Vol. 70. P. 368–373. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.05.039

Chen H., Hwang J. E., Lim Ch. J., Kim D. Y., Lee S. Y., Lim Ch. O. Arabidopsis DREB2C functions

as a transcriptional activator of HsfA3 during the heat stress response // *Biochemical and Biophysical Communications*. 2010. Vol. 401. P. 238–244. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.09.038

Cheng Q., Zhou Y., Liu Z., Zhang L., Song G., Gou Z., Wang W., Qu X., Zhu Y., Yang D. An alternatively spliced heat shock transcription factor, OsHSF2dl, function in the heat stress-induced unfolded protein response in rice // *Plant Biology*. 2015. Vol. 17. P. 419–429. doi: 10.1111/plb.12267

Chou T.-Sh., Chao Y.-Y., Kao Ch. H. Involvement of hydrogen peroxide in heat shock- and cadmium-induced expression of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in leaves of rice seedling // *Journal of Plant Physiology*. 2012. Vol. 169. P. 478–486. doi: 10.1016/j.jplph.2011.11.012

Ciftci-Yilmaz S., Morsy M., Song L., Coutu A., Krizek B. A., Lewis M. W., Warren D., Cushman J., Connolly E. L., Mittler R. The EAR-motif of the Cys²/His²-type zinc finger protein Zat7 plays a key role in the defense response of Arabidopsis to salinity stress // *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282, no. 12. P. 9260–9268. doi: 10.1074/jbc.M611093200

Correia B., Valledor L., Meijon M., Rodriguez J. L., Dias C., Canal M. J., Rodriguez R., Pinto G. Is the interplay between epigenetic markers related to the acclimation of cork oak plants to high temperatures? // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8: e53543. doi: 10.1371/journal.pone.0053543

Cybulski L. E., de Mendoza D. Playing with transmembrane signals // *Commun. Integr. Biol.* 2011. Vol. 4. P. 69–71. doi: 10.4161/cib.4.1.13778

Davidson J. F., Schiestl R. H. Mitochondrial respiratory electron carriers are involved in oxidative stress during heat stress in *Saccharomyces cerevisiae* // *Molecular and Cellular Biology*. 2001. Vol. 21, no. 24. P. 8483–8489. doi: 10.1128/MCB.21.24.8483-8489.2001

Davletova S., Schlauch K., Coutu J., Mittler R. The zinc-finger protein Zat12 plays a central role in reactive oxygen and abiotic stress signaling in Arabidopsis // *Plant Physiology*. 2005. Vol. 139. P. 847–856. doi: 10.1104/pp.105.068254

De Bigault Du Granrut A., Cacas J. L. How very-long-chain fatty acids could signal stressful conditions in plants? // *Front. Plant Sci.* 2016. Vol. 7: 1490. doi: 10.3389/fpls.2016.01490

Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S. S., Pozhvanov G. A., Sokolik A., Yurin V. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment // *Journal of Experimental Botany*. 2014. Vol. 65, no. 5. P. 1259–1270. doi: 10.1093/jxb/eru004

Deng Y., Srivastava R., Howell S. H. Endoplasmic reticulum (ER) stress response and its physiological roles in plants // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 8188–8212. doi: 10.3390/ijms14048188

Deocaris C. C., Kaul S. C., Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60 // *Cell stress and Chaperons*. 2006. Vol. 11, no. 2. P. 116–128. doi: 10.1379/CSC-144R.1

Digel I. Primary thermosensory events in cells // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2011. Vol. 704. P. 451–468. doi: 10.1007/978-94-007-0265-3_25

Dressler L., Golbik R., Ulbrich-Hofmann R. Lanthanides as substitutes for calcium ions in the activation of plant alpha-type phospholipase D // *Biol. Chem.* 2014. Vol. 395. P. 791–799. doi: 10.1515/hsz-2014-0112

El-kereamy A., Bi Y.-M., Ranathunge K., Beatty P. H., Good A. G., Rothstein S. J. The rice R2R3-MYB Transcription factor OsMYBB55 is involved in the tolerance to high temperature and modulates amino acid metabolism // *PLoS ONE*. 2012. 7 (12): e52030. doi: 10.1371/journal.pone.0052030.

Falcone D. L., Ogas J. P., Somerville Ch. R. Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of Arabidopsis with alterations in membrane lipid composition // *BMC Plant Biology*. 2004. 4:17. doi: 10.1186/1471-2229-4-17

Finka A., Cuendet A. F. H., Maathuis F. J. M., Saidi Y., Gloubinoff P. Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance // *The Plant Cell*. 2012. Vol. 24. P. 3333–3348. doi: 10.1105/tpc.112.095844

Gao F., Han X., Wu J., Zheng S., Sun D., Zhou R., Li B. A heat-activated calcium-permeable channel – Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 6 – involved in heat shock responses // *The Plant Journal*. 2012. P. 1056–1069. doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.04969.x

Gao G., Li J., Li H., Li F., Xu K., Yan G., Chen B., Qiao J., Wu X. Comparison of the heat stress induced variations in DNA methylation between heat-tolerant and heat-sensitive rapeseed seedlings // *Breed. Sci.* 2014. Vol. 64. P. 125–133. doi: 10.1270/jsbbs.64.125

Gill S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010. Vol. 48. P. 909–930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Goes F. S., Martin J. Hsp chaperone complex are required for the activity and stability of yeast protein kinases Mik1, Wee1 and Swe1 // *Eur. J. Biochem.* 2001. Vol. 268, no. 8. P. 2281–2289. doi: 10.1046/j.1432-1327.2001.02105.x

Grover A., Mittal Dh., Negi M., Lavania D. Generating high temperature tolerant transgenic plants: Achievements and challenges // *Plant Science*. 2013. Vol. 205–206. P. 38–47. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.01.005

Guo M., Zhai Y.-F., Lu J.-P., Chai L., Chai W.-G., Gong Zh.-H., Lu M.-H. Characterization of *CaHsp70-1*, a Pepper heat-shock protein gene in response to heat stress and some regulation exogenous substances in *Capsicum annuum* L. // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. P. 19741–19759. doi: 10/3390/ijms151119741

Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life // *Plant Physiology*. 2006. Vol. 141. P. 312–322. doi: 10.1104/pp.106.077073

Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam Md. M., Roychowdhury R., Fujita M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 4, no. 5. P. 9643–9684. doi: 10.3390/ijms14059643

Hong S. W., Vierling E. Mutants of *Arabidopsis thaliana* defective in the acquisition of tolerance to high

- temperature stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000. Vol. 97. P. 4392–4397. doi: 10.1073/pnas.97.8.4392
- Hong Y., Zhao J., Guo L., Kim S. C., Deng X., Wang G., Zhang G., Li M., Wang X. Plant phospholipase D and C and their diverse functions in stress response // *Progr. Lipid Res.* 2016. Vol. 62. P. 55–74. doi: 10.1016/j.plipres.2016.01.002
- Horváth I., Glatz A., Nakamoto H., Mishkind M. L., Munnik T., Saidi Y., Gloubinoff P., Harwood J. L., Vigh L. Heat shock response in photosynthetic organisms: Membrane and lipid connections // *Progress in lipid research*. 2012. Vol. 51. P. 208–220. doi: 10.1016/j.plipres.2012.02.002
- Horváth I., Glatz A., Varvasovszki V., Török Z., Pali T., Balogh G., Kovacs E., Nádasdi L., Benkő S., Joó F., Vigh L. Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: Identification of *hsp17* as a «fluidity gene» // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95. P. 3513–3518.
- Hossain Md. A., Henriquez-Valencia C., Gomez-Paez M., Medina J., Orellana Ar., Vicente-Carbajosa J., Zouhar J. Identification of novel components of the unfolded protein response in *Arabidopsis* // *Front Plant Sci*. 2016. Vol. 7. doi: 10.3389/fpls.2016.00650
- Hou Q., Ufer G., Bartels D. Lipid signaling in plant responses to abiotic stress // *Plant Cell Environ*. 2016. Vol. 39. P. 1029–1048. doi: 10.1111/pce.12666
- Iwata Y., Koizumi N. Plant transducer of the endoplasmic reticulum unfolded protein response // *Trends in Plant Science*. 2012. Vol. 17, no. 12. P. 720–727. doi: 10.1016/j.tplants.2012.06.014
- Jin G.-H., Gho H.-J., Jung K.-H. A systematic view of rice heat shock transcription factor family using phylogenomic analysis // *Journal of Plant Physiology*. 2013. Vol. 170. P. 321–329. doi: 10.1016/j.jplph.2012.09.008
- Kadota Y., Shirasu K. The HSP90 complex of plants // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. P. 689–697. doi: 10.1016/j.bbamer.2011.09.016
- Kee S. C., Nobel P. S. Concomitant changes in high temperature tolerance and heat-shock proteins in desert succulents // *Ibid*. 1986. Vol. 80. P. 596–598.
- Kim G.-D., Cho Y.-H., Yoo S.-D. Regulatory functions of evolutionarily conserved AN1/A20-like zinc finger family proteins in *Arabidopsis* stress responses under high temperature // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015. Vol. 257, no. 2. P. 213–220. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.12.090
- Kim S.-R., An G. Rice chloroplast-localized heat shock protein 70, OsHsp, is essential for chloroplast development under high-temperature conditions // *Journal of Plant Physiology*. 2013. Vol. 70, no. 9. P. 854–863. doi: 10.1016/j.jplph.2013.01.006
- Kirschner M., Winkelhaus S., Thierfelder J. M., Nover L. Transient expression and heat-stress-induced co-aggregation of endogenous and heterologous small heat-stress proteins in tobacco protoplasts // *Plant J*. 2000. Vol. 24. P. 397–411. doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00887.x
- Kolupaev Yu. E., Akinina G. E., Mokrousov A. V. Induction of heat tolerance in wheat coleoptiles by calcium ions and its relation to oxidative stress // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2005. Vol. 52, no. 2. P. 199–204. doi: 10.1007/s11183-005-0030-9
- Königshofer H., Tromballa H.-W., Löppert H.-G. Early events in signalling high-temperature stress in tobacco BY2 cells involve alteration in membrane fluidity and enhanced hydrogen peroxide production // *Plant, Cell and Environment*. 2008. Vol. 31. P. 1771–1780. doi: 10.1111/j.1365-3040.20002.01880.x
- Kørner C. J., Du X., Vollmer M. E., Pajeroska-Mukhtar K. M. Endoplasmic reticulum stress signaling in plant immunity – at the crossroad of life and death // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16. P. 26582–26598. doi: 10.3390/ijms161125964
- Kotak S., Larkindale J., Lee U., Koskull-Doring P., Vierling E., Scharf K.-D. Complexity of the heat stress response in plants // *Current Opinion in Plant Biology*. 2007. Vol. 10. P. 310–316. doi: 10.1016/j.pbi.2007.04.011
- Kumar S. V., Wigge P. A. H2A.Z-Containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis* // *Cell*. 2010. Vol. 140. P. 136–147. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.006
- Lamotte O., Guold K., Lecourieux D., Sequeira-Legrand A., Garcia-Lebrun A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D. Analysis of nitric oxide signaling functions in tobacco cells challenged by the elicitor cryptogein // *Plant Physiol*. 2004. Vol. 135. P. 516–529. doi: 10.1104/pp.104.038968
- Larkindale J., Knight M. R. Protection against heat stress-induced oxidative damage in *Arabidopsis* involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid // *Plant Physiology*. 2002. Vol. 128. P. 682–695. doi: 10.1104/pp.010320
- Lata Ch., Prasad M. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants // *Journal of Experimental Botany*. 2011. Vol. 62, no. 14. P. 4731–4748. doi: 10.1093/jxb/err210
- Legris M., Klose C., Burgie E. S., Costigliolo C., Neme M., Hiltbrunner A., Wigge Ph. A., Schafer E., Vierstra R. D., Casal J. Phytochrome B integrates light and temperature signals in *Arabidopsis* // *Science*. 2016. ISSUE 6314. P. 897–900. doi: 10.1126/science.aaf5656
- Lin C.-Y., Chen Y.-M., Key J. L. Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings // *Plant Physiol*. 1984. Vol. 74. P. 152–160.
- Lin F., Qu Y., Zhang Q. Molecules regulating cytoskeletal organization in plant abiotic stress tolerance // *Plant Signaling and Behavior*. 2014. Vol. 9. doi: 10.4161/psb.28337
- Lindemose S., O'Shea Ch., Jensen M. K., Skriver K. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 5842–5878. doi: 10.3390/ijms14035842
- Link V., Sinha K., Vashista P., Hofmann M. G., Proels R. K., Ehness R., Roitsch T. A heat-activated MAP kinase in tomato: a possible regulator of the heat stress response // *FEBS Letters*. 2002. Vol. 531. P. 179–183. doi: 10.1016/S0014-5793(02)03498-1
- Liu H., Charny Y. Common and distinct function of *Arabidopsis* class A1 and A2 heat shock factors in diverse abiotic stress responses and development // *Plant Physiology*. 2013. Vol. 163. P. 276–290. doi: 10.1104/pp.113.221168
- Liu H.-T., Li B., Shang Zh.-L., Li X.-Zh., Mu R.-L., Sun D.-Y., Zhou R.-G. Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat // *Plant Physiol*. 2003. Vol. 132. P. 1186–1195. doi: 10.1104/pp.102.018564

- Liu H.-T., Sun D.-Y., Zhou R.-G. Ca²⁺ and AtCaM3 are involved in the expression of heat shock protein gene in Arabidopsis // Plant, Cell and Environment. 2005. Vol. 28. P. 1276–1284. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01365.x
- Liu Hh.-Ch., Liao H-T., Charng Y.-Y. The role of class A1 heat shock factors (HSF1s) in response to heat and other stresses in Arabidopsis // Plant, Cell and Environment. 2011. Vol. 34, no. 5. P. 738–751. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02278.x
- Liu J., Feng L., Li J., He Z. Genetic and epigenetic control of plant heat responses // Front. Plant Sci. 2015. Vol. 6. Article 267. doi: 10.3389/fpls.2015.00267
- Liu J.-X., Srivastava R., Che P., Howell S. H. Salt stress responses in Arabidopsis utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling // The Plant Journal. 2007a. Vol. 51. P. 897–909. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03195.x
- Liu J.-X., Srivastava R., Che P., Howell S. H. An endoplasmic reticulum stress response in Arabidopsis is mediated by proteolytic processing and nuclear relocation of a membrane-associated transcription factor, bZIP28 // Plant Cell. 2007b. Vol. 19, no. 12. P. 4111–4119. doi: 10.1105/tpc.106.050021
- Liu L., Zhu K., Yang Y., Wu J., Chen F., Yu D. Molecular cloning, expression profiling and trans-activation property studies of a DREB2-like gene from chrysanthemum (*Dendranthema vestitum*) // Journal of Plant research. 2008. Vol. 121, no. 2. P. 215–226. doi: 10.1007/s265-007-0140-x
- Los D. A., Murata N. Membrane fluidity and roles in the perception of environmental signaling // Biochimica et Biophysica Acta. 2004. Vol. 1666. P. 142–157. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.08.002
- Los D. A., Mironov K. S., Allakhverdiev S. I. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions // Photosynthesis Research. 2013. Vol. 116. P. 489–509. doi: 10.1007/s11120-013-9823-4
- Lu P. Y., Lévesque N., Kobor M. S. NuA4 and SWR1-C: Two chromatin-modifying complexes with overlapping functions and components // Biochem. Cell Biol. 2009. Vol. 87. P. 799–815. doi: 10.1139/O09-062
- Malerba M., Crosti P., Cerana R. Effect of heat stress on actin cytoskeleton and endoplasmic reticulum of tobacco BY-2 cultured cells and its inhibition by Co²⁺// Protoplasma. 2010. P. 23–30. doi: 10.1007/s00709-009-0078-z
- Martin R., Cutter K. G., Baldwin J. C., Dombrowski J. E. Identification and characterization of a salt stress-inducible zinc finger protein from *Festuca arundinacea* // BMC research Notes. 2012. 5:66. doi: 10.1186/1756-0500-5-66
- Matsukura S., Mizoi J., Yoshida T., Todaka D., Ito Y., Maruyama K., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Comprehensive analysis of rice DREB2-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes // Molecular Genetics and Genomics. 2010. Vol. 283. P. 185–196. doi: 10.1007/s00438-009-0506-y
- McClung C. R., Davis S. J. Ambient thermometers in plants: from physiological outputs towards mechanisms of thermal sensing // Curr. Biol. 2010. 20: R1086–R1092. doi: 10.1016/j.cub.2010.10.035
- Miller G., Mittler R. Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? // Annals of Botany. 2006. Vol. 98. P. 279–288. doi: 10.1093/aob/mc1107
- Mishkind M., Vermeer J. E. M., Darwish E., Munnik T. Heat stress activates phospholipase D and triggers PIP₂ accumulation at the plasma membrane and nucleus // The Plant Journal. 2009. Vol. 60. P. 10–21. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03933.x
- Mittler R., Finka An., Goloubinoff P. How do plants feel the heat? // Trends in Biochemical Science. 2012. Vol. 37, no. 3. P. 118–125. doi: 10.1016/j.tibs.2011.11.007
- Mittler R., Kim Y., Song L., Coutu J., Coutu A., Ciftci-Yilmaz S., Lee H., Stevenson B., Zhu J.-K. Gain- and loss-of-function mutations in Zat10 enhance the tolerance of plants to abiotic stress // FEBS Lett. 2006. Vol. 580. P. 6537–6542. doi: 10.1016/j.febslet.2006.11.002
- Mittler R., Zilinskas B. A. Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase // Journal of Biological Chemistry. 1992. Vol. 267. P. 21802–21807.
- Montero-Barrientos M., Hermosa R., Cardoza R. E., Gutierrez S. Transgenic expression of the Trichoderma harzianum hsp70 gene increases Arabidopsis resistance to heat and other abiotic stresses // Journal of Plant Physiology. 2010. Vol. 167. P. 659–665. doi: 10.1016/j.jplph.2009.11.012
- Mori I. C., Schroeder J. I. Reaction oxygen species activation of plant Ca²⁺ channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction // Plant Physiology. 2004. Vol. 135. P. 702–708. doi: 10.1104/pp.104.042069
- Mu Ch., Zhang Sh., Yu G., Ni Ch., Li X., Liu H. Over-expression of small heat shock protein LimHSP16.45 in Arabidopsis enhances tolerance to abiotic stresses // PLoS ONE. 2013. Vol. 8 (12): e82264. doi: 10.1371/journal.pone.0082264
- Nakashima K., Ito Y., Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and Grasses // Plant Physiology. 2009. Vol. 149. P. 88–95. doi: 10.1104/pp.108.129791
- Narberhaus F., Torsten Waldminghaus T., Chowdhury S. RNA thermometers // FEMS Microbiol. Rev. 2006. Vol. 30. P. 3–16. doi: 10.1111/j.1574-6976.2005.004.x
- Nishizawa-Yokoi A., Nosaka R., Hayashi H., Tainaka H., Maruta T., Tamoi M., Ikeda M., Ohme-Takagi M., Yoshimura K., Yabuta Y., Shigeoka Sh. HsfA1d and Hsf1e involved in the transcriptional regulation of HsfA2 function as key regulators for the Hsf signaling network in response to environmental stress // Plant and Cell Physiology. 2011. Vol. 52, no. 5. P. 933–945. doi: 10.1093/pcp/pcr045
- Popova O. V., Dinh H. Q., Aufsatz W., Jonak C. The RdDM pathway is required for basal heat tolerance in Arabidopsis // Molecular Plant. 2013. Vol. 6. P. 396–410. doi: 10.1093/mp/sst023
- Pottosin I. I., Schönknecht G. Vacuolar calcium channels // J. Exp. Bot. 2007. Vol. 58, no. 7. P. 1559–1569. doi: 10.1093/jxb/erm035
- Qin F., Kakimoto M., Sakuma Y., Maruyama K., Osakabe Y., Tran L.-S. P., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Regulation and function analysis of

ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. // *The Plant Journal*. 2007. Vol. 50. P. 54–69. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03034.x

Qu A.-L., Ding Y.-F., Jiang Q., Zhu Ch. Molecular mechanisms of the plant heat stress response // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2013. Vol. 432. P. 203–207. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.01.104

Queitsch C., Hong S. W., Vierling E., Lindquist S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2000. Vol. 12. P. 479–492.

Ranty B., Albon D., Galaud J.-Ph. Plant calmodulin and calmodulin-related proteins // *Plant Signaling and Behavior*. 2006. P. 96–104.

Reddy A. S. N., Ali G. S., Celesnik H., Day I. S. Coping with stresses: role of calcium – and calcium/calmodulin-regulated gene expression // *The Plant Cell*. 2011. Vol. 32. P. 2010–2032. doi: 10.1105/tpc.111.084988

Rikhvanov E. G., Gamburg K. Z., Varakina N. N., Rusaleva T. M., Fedoseeva I. V., Tauson E. L., Stupnikova I. V., Stepanov A. V., Borovskii G. B., Voinikov V. K. Nuclear-mitochondrial cross-talk during heat shock in *Arabidopsis* cell culture // *The Plant Journal*. 2007. Vol. 52. P. 763–778. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03275.x

Rizhsky L., Davletova S., Liang H., Mittler R. The zinc finger protein Zat12 is required for cytosolic ascorbate peroxidase 1 expression during oxidative stress in *Arabidopsis* // *The Journal of Biological Chemistry*. 2004. Vol. 279, no. 12. P. 11736–11743. doi: 10.1074/jbc.M313350200

Rizhsky L., Liang H., Mittler R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco // *Plant Physiol*. 2002. Vol. 130. P. 1143–1151. doi: 10.1104/pp.006858

Ruelland E., Zachowski A. How plants sense temperature? // *Environ. Exp. Bot.* 2010. Vol. 69. P. 225–232. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.05.011

Saidi Y., Finka An., Muriset M., Bromberg Z., Weiss Y. G., Maathuis F. J. M., Goloubinoff P. The heat response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane // *The Plant Cell*. 2009. Vol. 21. P. 2829–2843. doi: 10.1105/tpc.108.065318

Sakuma Y., Maruyama K., Qin F., Osakabe Y., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinizaki K. Dual function of an *Arabidopsis* transcription factor DREB2A in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression // *PNAS*. 2006. Vol. 103, no. 49. P. 18822–18827. doi: 10.1073/pnas.0605639103

Sangwan V., Örvär B. L., Beyerly J., Hirt H., Dhindsa R. S. Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways // *Plant J*. 2002. Vol. 31. P. 629–638. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01384.x

Scandalios J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses // *Brazilian Journal of Medical and Biology Research*. 2005. Vol. 38. P. 995–1014. doi: 10.1590/S0100-879X2005000700003

Scarpeci E. T., Zanor M. I., Valle E. M. Investigation the role of plant heat shock proteins during oxidative stress // *Plant Signaling and Behavior*. 2008. Vol. 3. P. 856–857. doi: 10.1007/s11103-007-9274-4

Schramm F., Larkindale J., Kiehlmann E., Ganguli A., English G., Vierling E., Koskull-Doring P. A cascade of transcription factor DREB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of *Arabidopsis* // *The Plant Journal*. 2008. Vol. 53. P. 264–274. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.0334.x

Shah K., Singh M., Rai A. Ch. Effect of heat-shock induced oxidative stress is suppressed in *Bc-ZAT12* expressing drought tolerant tomato // *Phytochemistry*. 2013. Vol. 95. P. 109–117. doi: 10.1016/j.phytochem.2013.07.026

Sharma P., Jha A. B., Dubey R. Sh., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful condition // *Journal of Botany*. 2012. Article ID 217037, 26 p. doi: 10.1155/2012/217037

Singh A., Bhatnagar N., Pandey A., Pandey G. K. Plant phospholipase C family: regulation and functional role in lipid signaling // *Cell Calcium*. 2015. Vol. 58. P. 139–146. doi: 10.1016/j.ceca.2015.04.003

Soppe W. J., Jacobsen S. E., Alonso-Blanco C., Jackson J. P., Kakutani T., Koornneef M., Peeters A. J. The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene // *Mol. Cell*. 2000. Vol. 6. P. 791–802. doi: 10.1016/S1097-2765(05)00090-0

Storozhenko S., De Pauw P., Van Montagu M., Kushnir I. D. The heat-shock element is a functional component of the *Arabidopsis* APX1 gene promoter // *Plant Physiology*. 1998. Vol. 118. P. 1005–1014.

Sun J., Ren L., Cheng Y., Gao J., Dong B., Chen S., Chen F., Jiang J. Identification of differentially expressed gene in *Chrysanthemum nankingense* (Asteraceae) under heat stress by RNA Seq // *Gene*. 2014. Vol. 552. P. 59–66. doi: 10.1016/j.gene.2014.09.013

Suzuki N., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M. A., Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling // *Current Opinion in Plant Biology*. 2011a. Vol. 14. P. 691–699. doi: 10.1016/j.pbi.2011.07.014

Suzuki N., Rizhsky L., Ling H., Shuman J., Shulaev V., Mittler R. Enhanced tolerance to environmental stress in transgenic plants expressing the transcriptional coactivator multiprotein bridging factor 1c¹ [w] // *Plant Physiol*. 2005. Vol. 139. P. 1313–1322. doi: 10.1104/pp.105.070110

Suzuki N., Sejima H., Tam R., Schalaus K., Mittler R. Identification of the MBF1 heat-response regulon of *Arabidopsis thaliana* // *The Plant Journal*. 2011b. Vol. 66. P. 844–851. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04550.x

Todeschini A.-L., Georges A., Veitia R. A. Transcription factors: specific DNA binding and specific gene regulation // *Trends in Genetics*. 2014. Vol. 30, no. 6. doi: 10.1016/j.tig.2014.04.002

Török Z., Crul T., Maresca B., Schutz G. J., Viana F., Dindia L., Piotto S., Brameshuber M., Balogh G., Peter M., Porta A., Trapani A., Gombos I., Glatz A., Gungor B., Peksel B., Jr L. V., Csoboz B., Horvath I., Vijayan M. M., Hooper Ph. L., Harwood J. L., Vigh L. Plasma membranes as heat stress sensors: from lipid-controlled molecular switches to therapeutic applications // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014. Vol. 1838. P. 1594–1618. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.12.015

Tuteja N., Sopory S. K. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants // *Plant Signaling and Behavior*. 2008. P. 525–536.

Usman M. G., Rafii M. Y., Ismail M. R., Malek M. A., Latif M. Ab., Oladosu Yu. Heat shock proteins: functions and response against heat stress in plants // *IJSTR*. 2014. Vol. 3. P. 204–218.

Volkov R. A., Panchuk I. I., Schoff F. Heat-stress-dependency and developmental modulation of gene expression: the potential of house-keeping genes as internal standards in mRNA expression profiling using real-time PT-PCR // *Journal of Experimental Botany*. 2003. Vol. 54, no. 391. P. 2343–2349. doi: 10.1093/jxb/erg244

Volkov R. A., Panchuk I. I., Mullineaux Ph. M., Schoff F. Heat stress-induced H₂O₂ is require for effective expression of heat gene in *Arabidopsis* // *Plant Molecular Biology*. 2006. Vol. 61. P. 733–746. doi: 10.1007/s1103-006-0045-4

von Koskull-Döring F., Scharf K.-D., Nover L. The diversity of plants heat stress transcription factors // *Trends Plant. Sci.* 2007. Vol. 12, no. 10. P. 452–457. doi: 10.1016/j.tplants.2007.08.014

Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M. R. Heat tolerance in plants: An overview // *Environmental and Experimental Botany*. 2007. Vol. 61. P. 199–223. doi: 10.1016/j.envexpbot.2007.05.011

Wan Sh., Jiang L. Endoplasmic reticulum (ER) stress and the unfolded protein response (UPR) in plants // *Protoplasma*. 2016. Vol. 253. P. 753–764. doi: 10.1007/s00709-015-0842-1

Wang D., Luthe D. S. Heat sensitivity in a bentgrass variant. Failure to accumulate a chloroplast heat shock protein isoform implicated in heat tolerance // *Plant Physiol.* 2003. Vol. 133. P. 319–327. doi: 10.1104/pp.102.018309

Wang P., Zhao L., Hou H., Zhang H., Huang Y., Wang Y., Li H., Gao F., Yan Sh., Li L. Epigenetic changes are associated with programmed cell death induced by heat stress in seedling leaves of *Zea mays* // *Plant Cell Physiol.* 2015. Vol. 56, no. 5. P. 965–976. doi: 10.1093/pcp/pcv023

Wang R., Zhang Yi., Kiffer M., Yu H., Kepinski S., Estelle M. HSP90 regulates temperature-dependent seedling growth in *Arabidopsis* by stabilizing the auxin co-receptor F-box protein TIR1 // *Nature communications*. 2016. 7:10269. doi: 10.1038/ncomms.10269

Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants // *Journal of Experimental Botany*. 1996. Vol. 47, no. 296. P. 325–338.

Williams B., Verchot J., Dickman M. When supply does not meet demand-ER stress and plant programmed cell death // *Frontiers in Plant Science*. *Plant Cell Biology*. 2014. Vol. 5. doi: 10.3389/fpls.00211

Wu H.-Ch., Jinn T.-L. Oscillation regulation of Ca²⁺/calmodulin and heat-stress related genes in response to heat stress in rice (*Oryza sativa* L.) // *Plant Signaling and Behavior*. 2012. Vol. 7, no. 9. P. 1056–1057. doi: 10.4161/psb.21124

Xu Y., Lindquist S. Heat-shock protein hsp90 governs the activity of pp60v-src kinase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. Vol. 90. P. 7074–7078.

Xue G.-P., Sadat Sh., Drenth J., McIntyre C. L. The heat shock factor family from *Triticum aestivum* in response to heat and other major abiotic stresses and their role in regulation of heat shock protein genes // *Journal of Experimental Botany*. 2014a. Vol. 65, no. 2. P. 539–557. doi: 10.1093/jxb/ert399

Xue G.-P., Drenth J., McIntyre C. L. TaHsfA6f is a transcriptional activator that regulates a suite of heat stress protection genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) including previously unknown Hsf targets // *Journal of Experimental Botany*. 2014b. Vol. 66. P. 1025–1039. doi: 10.1093/jxb/eru462

Yamada K., Fukao Y., Hayashi M., Fukazawa M., Suzuki I., Nishimura M. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* // *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282, no. 52. P. 37794–37804. doi: 10.1074/jbc.M707168200

Yang Z. T., Lu S. J., Wang M. J., Bi D. L., Sun L., Zhou S. F., Song S. F., Liu J. X. A plasma membrane-tethered transcription factor, NAC062/ANAC062/NTL6, mediates the unfolded protein response in *Arabidopsis* // *Plant J.* 2014a. Vol. 79. P. 1033–1043. doi: 10.1111/tbj.12604

Yang Z. T., Wang M. J., Sun L., Lu S. J., Bi D. L., Sun L., Song Z. T., Zhang Sh. Sh., Zhou Sh. F., Liu J. X. The membrane-associated transcription factor NAC089 controls ER-stress-induced programmed cell death in plants // *PLoS Genet.* 2014b. Vol. 10. e1004243. doi: 10.1371/journal.pgen.1004243

Yeh Ch. H., Chang P. F. L., Yen K. W., Lin W. Ch., Chen Y. M., Lin Ch. Yu. Expression of a gene encoding a 16.9-kDa heat-shock protein Oshsp16.9, in *Escherichia coli* enhance thermotolerance // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 10967–10972.

Zang D., Wang Ch., Ji X., Wang Y. *Tamarix hispida* zinc finger protein ThZFP1 participates in salt and osmotic stress tolerance by increasing proline content and SOD and POD activities // *Plant Science*. 2015. Vol. 235. P. 111–121. doi: 10.1016/j.plantsci.2015.02.016

Zhang J., Liu B., Li J., Zhang L., Wang Y., Zheng H., Lu M., Chen J. Hsf and Hsp gene families in *Populus*: genome wide identification, organization and correlated expression during development and in stress responses // *BMC Genomics*. 2015. 16:181. doi: 10.1186/s12864-015-1398-3

Zhang Y., Mian M. A. R., Chekhovskiy K. et al. Differential gene expression in *Festuca* under heat stress conditions // *J. Exp. Bot.* 2005. Vol. 413. P. 897–907. doi: 10.1093/jxb/eri082

Zhu X., Liu Sh., Meng Ch., Qin L., Kong L., Xia G. *WRKY* transcription factors in wheat and their induction by biotic and abiotic stress // *Plant Molecular Biology Reporter*. 2013. Vol. 31. P. 1053–1067. doi: 10.1007/s11105-013-0565-4

Zilberman D., Gehring M., Tran R. K., Ballinger T., Henikoff S. Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription // *Nature Genetics*. 2007. Vol. 39. P. 61–69. doi: 10.1038/ng1929

Поступила в редакцию 23.01.2017

References

Karpets Yu. V. O vozmoznykh mekhanizmax induksirovaniya teploustoichivosti prorostrkov pshenitsy myagkoi i sosny obyknovnoy kratkovremennym deistviem vysokoi temperatury [On possible mechanisms of heat tolerance induction in seedlings of the common wheat and the Scots pine by short-term high temperature stress]. *Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo agrarnogo universitetu. Seriya biologiya* [Bull. of Kharkiv National Agr. Univ. Biol. Ser.]. 2007. Iss. 3, no. 12. P. 63–70.

Karpets Yu. V., Kolupaev Yu. E., Yastreb T. O., Dmitriev A. P. Vozmozhnoe vzaimodeistvie signal'nykh sistem pri induksirovani ustoichivosti rastitel'nykh kletok k teplovomu stressu [Possible interaction of signaling systems during the induction of heat stress tolerance in plant cells]. *Reports of National Academy of Sciences of Ukraine*. 2012. No. 9. P. 136–141.

Kozeko L. E. Belki teplovogo shoka 90 kDa: raznobrazie, struktura i funktsii [90-kDa heat-shock proteins: diversity, structure, and functions]. *Tsitologiya* [Cell and Tissue Biology]. 2010. Vol. 52, no. 11. P. 893–910.

Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V. Aktivnye formy kisloroda pri adaptatsii rastenii k stressovym temperaturam [Reactive oxygen species during plants adaptation to thermal stress]. *Fiziologiya i biokhimiya kul't. rastenii* [Physiology and Biochemistry of Cult. Plants]. 2009. Vol. 41, no. 2. P. 95–104.

Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V. Formirovanie adaptivnykh reaktsii na deistvie abioticheskikh stressorov [Formation of adaptive reactions to abiotic stress]. Kiev: Osnova, 2010. 352 p.

Kolupaev Yu. E., Oboznyi A. I., Shvidenko N. V. Rol' peroksida vodoroda v formirovanii signala, induksiruyushchego razvitie teploustoichivosti prorostrkov pshenitsy [Role of hydrogen peroxide in generation of a signal inducing heat tolerance of wheat seedlings]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. Journal of Plant Physiology]. 2013. Vol. 60, no. 2. P. 221–229. doi: 10.7868/S0015330313020127

Kosakovskaya I. V. Stressovye belki rastenii [Plant stress proteins]. Ed. I. V. Kosakovskaya. Kiev: Fitosotsiotsentr, 2008. 152 p.

Lutova L. A., Ezhova T. A., Dodueva I. E., Osipova M. A. Genetika razvitiya rastenii: dlya biologicheskikh spetsial'nostei universitetov [Genetics of plant development (for biology sciences university students)]. St. Petersburg: Izd-vo N-L, 2010. 432 p.

Marchenkov S. Yu., Marchenko N. Yu., Marchenkova S. Yu., Semisotnov G. V. Molekulyarnye shaperony prokarioticheskikh i eukarioticheskikh kletok [Molecular chaperones of prokaryotic and eukaryotic cells]. *Uspekhi biologicheskoi khimii* [Biochemistry. Special Iss. Biol. Chemistry Reviews]. 2006. Vol. 46. P. 279–302.

Medvedev S. S. Kal'tsievaya signal'naya sistema rastenii [Calcium signaling system of plants]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. Journal of Plant Physiology]. 2005. Vol. 52, no. 1. P. 1–24.

Mel'nikov E. E., Rotanova T. V. Molekulyarnye shaperony [Molecular chaperones]. *Bioorganicheskaya khimiya* [Russ. Journal of Bioorganic Chem.]. 2010. Vol. 36, no. 1. P. 5–14.

Merkulov V. M., Merkulova T. I. Regulyatornye transkriptsionnye faktory mogut kontrolirovat' protsess transkriptsii na stadii elongatsii pre-mRNK [Regulatory transcription factors may participate in post-initiation control of transcription]. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding]. 2014. Vol. 18, no. 2. P. 329–337.

Nilova I. A., Topchieva L. V., Titov A. F. Ekspressiya genov BTSh u pshenitsy pri deistvii vysokikh temperatur [HSP gene expression in wheat under heat stress]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. of KarRS of RAS]. 2015. No. 12. P. 55–65. doi: 10.17076/eb240

Ponomareva A. A., Rakhmatullina D. F., Gazizova N. I., Minibaeva F. V. Dinamicheskie preobrazovaniya mitokhondrii pri deistvii mitokhondrial'nykh yadov [Dynamic changes of mitochondria under mitochondrial poison influence]. *Fiziologiya rastenii – teoreticheskaya osnova innovatsionnykh agro- i fitobiotekhnologii: materialy: v 2-kh ch. Mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsii i shkola molodykh uchenykh* (Kaliningrad, 19–25 maya) [Plant Physiology as a Theoretical Basis for Innovative Agrarian and Phytobiological Technologies: Proceed. of the Int. Scientific Conf. and School for Young Res. (in 2 Parts) (Kaliningrad, May 19–25)]. Irkutsk, 2014. P. 360–362.

Potekhina E. S., Nadezhdina E. S. Mitogen-aktiviruemye proteinkinaznye kaskady i uchastie v nikh Ste20-podobnykh proteinkinaz [Mitogen-activated protein kinase cascades and the participation of Ste20-like protein kinase]. *Uspekhi biologicheskoi khimii* [Biochemistry. Special Iss. Biol. Chemistry Reviews]. 2002. Vol. 42. P. 235–256.

Rikhvanov E. G., Fedoseeva I. V., Pyatrikas D. V., Borovskii G. B., Voinikov V. K. Mekhanizm funktsionirovaniya kal'tsievoi signal'noi sistemy u rastenii pri deistvii teplovogo stressa. Rol' mitokhondrii v etom protsesse [Role of mitochondria in the operation of calcium signaling system in heat-stressed plants]. *Fiziologiya Rastenii* [Russ. Journal of Plant Physiology]. 2014. Vol. 61, no. 2. P. 155–169. doi: 10.7868/S0015330314020134

Tarchevskii I. A. Signal'nye sistemy kletok rastenii [Signaling systems of plant cells]. Ed. A. N. Grechkin. Moscow: Nauka, 2002. 294 p.

Khokhlova L. P., Nevmerzhitskaya Yu. Yu. Rol' tsitoskeleta v signal'nykh sistemakh rastenii [Role of cytoskeleton in plant signaling systems]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta* [Proceed. of Kazan Univ. Nat. Sciences Ser.]. 2011. Vol. 153. P. 147–179.

Shishova M. F., Tankelyun O. V., Emel'yanov V. V., Polevoi V. V. Retseptsiya i transduksiya signalov u rastenii [Signal perception and transduction in plants]. St. Petersburg: S.-Peterb. un-t, 2008. 263 p.

Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Grover A. Plant Hsp100 proteins: structure, function and regulation. *Plant Science*. 2002. Vol. 163. P. 397–405. doi: 10.1016/S0168-9452(02)00209-1

Agarwal P. K., Agarwal P., Reddy M. K., Sopory S. K. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Rep.* 2006. Vol. 25. P. 1263–1274. doi: 10.1007/s00299-006-0204-8

Almeida T., Pinto G., Correia B., Santos C., Goncalves S. *OsMYB1* expression is modulated in response to heat and drought stresses and during plant recovery

- in *Quercus suber*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013. P. 274–281. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.10.007
- Al-Whaibi M. H. Plant heat-shock proteins: A mini review. *Journal of King Saud University – Science*. 2011. Vol. 23. P. 139–150. doi: 10.1016/j.jksus.2010.06.002
- Ambawat S., Sharma P., Yadav N. R., Yadav R. C. MYB transcription factor gene as regulators for plant responses: an overview. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2013. P. 307–321. doi: 10.1007/s12298-013-0179-1
- Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction. *Annual review of Plant biology*. 2004. Vol. 55. P. 373–399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
- Arnholdt-Schmitt B. Stress-induced cell reprogramming: A role for global genome regulation? *Plant Physiol*. 2004. Vol. 136. P. 2579–2586. doi: 10.1104/pp.104.042531
- Bahuguna R. N., Jagadish K. S. V. Temperature regulation of plant phenological development. *Environmental and Experimental Botany*. 2015. Vol. 111. P. 83–90. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.10.007
- Bakshi M., Oelmüller R. WRKY transcription factors. Jack of many trades in plants. *Plant Signaling and Behavior*. 2014. 9: e27700. doi: 10.4161/psb.27700
- Baniwal S. K., Bharti K., Chan K. Y., Fautn M., Ganguli A., Kotak S., Mishra S. K., Nover L., Port M., Scharf K.-D., Tripp J., Weber Ch., Zielinski D., Koskull-Doring P. Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors. *J. Biosci*. 2004. Vol. 29, no. 4. P. 471–487.
- Bhattacharjee S. The language of reactive oxygen species signaling in plants. *Journal of Botany*. 2012. Article ID 985298, 22 p. doi: 10.1155/2012/985298
- Bokszczanin K. L., Solanaceae Pollen Thermotolerance Initial Training Network (SPOT-ITN) Consortium, Fragkostefanakis S. Perspectives on deciphering mechanisms underlying plant heat stress response and thermotolerance. *Frontiers in Plant Science. Plant Physiology*. 2013. Vol. 4. doi: 10.3389/fpls.2013.00315
- Boorstein W. R., Ziegelhoffer Th., Craig E. A. Molecular evolution of the HSP70 multigene family. *J. Mol. Evol*. 1994. Vol. 38. P. 1–17.
- Boyko A., Blevins T., Yao Y., Golubov A., Ilnytskyy Y., Hollander J., Meins F., Kovalchuk I. Transgenerational adaptation of *Arabidopsis* to stress requires DNA methylation and the function of Dicer-like proteins. *PLoS ONE*. 2010. Vol. 5: e9514. doi: 10.1371/journal.pone.0009514
- Cha J.-Y., Kim J.-Y., Kang S. B., Kim M. R., Su'udi M., Kim W.-Y., Son D. Structural and functional differences of cytosolic 90-kDa heat-shock proteins (Hsp90s) in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013. Vol. 70. P. 368–373. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.05.039
- Chen H., Hwang J. E., Lim Ch. J., Kim D. Y., Lee S. Y., Lim Ch. O. *Arabidopsis* DREB2C functions as a transcriptional activator of HsfA3 during the heat stress response. *Biochemical and Biophysical Communications*. 2010. Vol. 401. P. 238–244. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.09.038
- Cheng Q., Zhou Y., Liu Z., Zhang L., Song G., Gou Z., Wang W., Qu X., Zhu Y., Yang D. An alternatively spliced heat shock transcription factor, OsHSF2dl, function in the heat stress-induced unfolded protein response in rice. *Plant Biology*. 2015. Vol. 17. P. 419–429. doi: 10.1111/plb.12267
- Chou T.-Sh., Chao Y.-Y., Kao Ch. H. Involvement of hydrogen peroxide in heat shock- and cadmium-induced expression of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in leaves of rice seedling. *Journal of Plant Physiology*. 2012. Vol. 169. P. 478–486. doi: 10.1016/j.jplph.2011.11.012
- Ciftci-Yilmaz S., Morsy M., Song L., Coutu A., Krizek B. A., Lewis M. W., Warren D., Cushman J., Connolly E. L., Mittler R. The EAR-motif of the Cys²/His²-type zinc finger protein Zat7 plays a key role in the defense response of *Arabidopsis* to salinity stress. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282, no. 12. P. 9260–9268. doi: 10.1074/jbc.M611093200
- Correia B., Villedor L., Meijon M., Rodriguez J. L., Dias C., Canal M. J., Rodriguez R., Pinto G. Is the interplay between epigenetic markers related to the acclimation of cork oak plants to high temperatures? *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8: e53543. doi: 10.1371/journal.pone.0053543
- Cybulski L. E., de Mendoza D. Playing with transmembrane signals. *Commun. Integr. Biol*. 2011. Vol. 4. P. 69–71. doi: 10.4161/cib.4.1.13778
- Davidson J. F., Schiestl R. H. Mitochondrial respiratory electron carriers are involved in oxidative stress during heat stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*. 2001. Vol. 21, no. 24. P. 8483–8489. doi: 10.1128/MCB.21.24.8483-8489.2001
- Davletova S., Schlauch K., Coutu J., Mittler R. The zinc-finger protein Zat12 plays a central role in reactive oxygen and abiotic stress signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 2005. Vol. 139. P. 847–856. doi: 10.1104/pp.105.068254
- De Bigault Du Granrut A., Cacas J. L. How very-long-chain fatty acids could signal stressful conditions in plants? *Front. Plant Sci*. 2016. Vol. 7:1490. doi: 10.3389/fpls.2016.01490
- Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S. S., Pozhvanov G. A., Sokolik A., Yurin V. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*. 2014. Vol. 65, no. 5. P. 1259–1270. doi: 10.1093/jxb/eru004
- Deng Y., Srivastava R., Howell S. H. Endoplasmic reticulum (ER) stress response and its physiological roles in plants. *Int. J. Mol. Sci*. 2013. Vol. 14. P. 8188–8212. doi: 10.3390/ijms14048188
- Deocaris C. C., Kaul S. C., Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60. *Cell stress and Chaperons*. 2006. Vol. 11, no. 2. P. 116–128. doi: 10.1379/CSC-144R.1
- Digel I. Primary thermosensory events in cells. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2011. Vol. 704. P. 451–468. doi: 10.1007/978-94-007-0265-3_25
- Dressler L., Golbik R., Ulbrich-Hofmann R. Lanthanides as substitutes for calcium ions in the activation of plant alpha-type phospholipase D. *Biol. Chem*. 2014. Vol. 395. P. 791–799. doi: 10.1515/hsz-2014-0112

- El-kereamy A., Bi Y.-M., Ranathunge K., Beaty P. H., Good A. G., Rothstein S. J. The rice R2R3-MYB Transcription factor OsMYBB55 is involved in the tolerance to high temperature and modulates amino acid metabolism. *PLoS ONE*. 2012. 7 (12): e52030. doi: 10.1371/journal.pone.0052030
- Falcone D. L., Ogas J. P., Somerville Ch. R. Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of Arabidopsis with alterations in membrane lipid composition. *BMC Plant Biology*. 2004. 4:17. doi: 10.1186/1471-2229-4-17
- Finka A., Cuendet A. F. H., Maathuis F. J. M., Saidi Y., Gloubinoff P. Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *The Plant Cell*. 2012. Vol. 24. P. 3333–3348. doi: 10.1105/tpc.112.095844
- Gao F., Han X., Wu J., Zheng S., Sun D., Zhou R., Li B. A heat-activated calcium-permeable channel – Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 6 – involved in heat shock responses. *The Plant Journal*. 2012. P. 1056–1069. doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.04969.x
- Gao G., Li J., Li H., Li F., Xu K., Yan G., Chen B., Qiao J., Wu X. Comparison of the heat stress induced variations in DNA methylation between heat-tolerant and heat-sensitive rapeseed seedlings. *Breed. Sci.* 2014. Vol. 64. P. 125–133. doi: 10.1270/jsbbs.64.125
- Gill S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010. Vol. 48. P. 909–930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Goes F. S., Martin J. Hsp chaperone complex are required for the activity and stability of yeast protein kinases Mik1, Wee1 and Swe1. *Eur. J. Biochem.* 2001. Vol. 268, no. 8. P. 2281–2289. doi: 10.1046/j.1432-1327.2001.02105.x
- Grover A., Mittal Dh., Negi M., Lavania D. Generating high temperature tolerant transgenic plants: Achievements and challenges. *Plant Science*. 2013. Vol. 205–206. P. 38–47. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.01.005
- Guo M., Zhai Y.-F., Lu J.-P., Chai L., Chai W.-G., Gong Zh.-H., Lu M.-H. Characterization of *CaHsp70-1*, a Pepper heat-shock protein gene in response to heat stress and some regulation exogenous substances in *Capsicum annum* L. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. P. 19741–19759. doi: 10/3390/ijms151119741
- Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. 2006. Vol. 141. P. 312–322. doi: 10.1104/pp.106.077073
- Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam Md. M., Roychowdhury R., Fujita M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 4, no 5. P. 9643–9684. doi: 10.3390/ijms14059643
- Hong S. W., Vierling E. Mutants of *Arabidopsis thaliana* defective in the acquisition of tolerance to high temperature stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2000. Vol. 97. P. 4392–4397. doi: 10.1073/pnas.97.8.4392
- Hong Y., Zhao J., Guo L., Kim S. C., Deng X., Wang G., Zhang G., Li M., Wang X. Plant phospholipase D and C and their diverse functions in stress response. *Progr. Lipid Res.* 2016. Vol. 62. P. 55–74. doi: 10.1016/j.plipres.2016.01.002
- Horváth I., Glatz A., Nakamoto H., Mishkind M. L., Munnik T., Saidi Y., Gloubinoff P., Harwood J. L., Vigh L. Heat shock response in photosynthetic organisms: Membrane and lipid connections. *Progress in lipid research*. 2012. Vol. 51. P. 208–220. doi: 10.1016/j.plipres.2012.02.002
- Horváth I., Glatz A., Varvasovszki V., Török Z., Pali T., Balogh G., Kovacs E., Nádasdi L., Benkő S., Joó F., Vigh L. Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: Identification of *hsp17* as a “fluidity gene”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95. P. 3513–3518.
- Hossain Md. A., Henriguez-Valencia C., Gomez-Paez M., Medina J., Orellana Ar., Vicente-Carbajosa J., Zouhar J. Identification of novel components of the unfolded protein response in Arabidopsis. *Front Plant Sci*. 2016. Vol. 7. doi: 10.3389/fpls.2016.00650
- Hou Q., Ufer G., Bartels D. Lipid signaling in plant responses to abiotic stress. *Plant Cell Environ.* 2016. Vol. 39. P. 1029–1048. doi: 10.1111/pce.12666
- Iwata Y., Koizumi N. Plant transducer of the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Trends in Plant Science*. 2012. Vol. 17, no. 12. P. 720–727. doi: 10.1016/j.tplants.2012.06.014
- Jin G.-H., Gho H.-J., Jung K.-H. A systematic view of rice heat shock transcription factor family using phylogenomic analysis. *Journal of Plant Physiology*. 2013. Vol. 170. P. 321–329. doi: 10.1016/j.jplph.2012.09.008
- Kadota Y., Shirasu K. The HSP90 complex of plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. P. 689–697. doi: 10.1016/j.bbamer.2011.09.016
- Kee S. C., Nobel P. S. Concomitant changes in high temperature tolerance and heat-shock proteins in desert succulents. *Ibid*. 1986. Vol. 80. P. 596–598.
- Kim G.-D., Cho Y.-H., Yoo S.-D. Regulatory functions of evolutionarily conserved AN1/A20-like zinc finger family proteins in *Arabidopsis* stress responses under high temperature. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015. Vol. 257, no. 2. P. 213–220. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.12.090
- Kim S.-R., An G. Rice chloroplast-localized heat shock protein 70, OsHsp, is essential for chloroplast development under high-temperature conditions. *Journal of Plant Physiology*. 2013. Vol. 70, no. 9. P. 854–863. doi: 10.16/j.jplph.2013.01.006
- Kirschner M., Winkelhaus S., Thierfelder J. M., Nover L. Transient expression and heat-stress-induced co-aggregation of endogenous and heterologous small heat-stress proteins in tobacco protoplasts. *Plant J*. 2000. Vol. 24. P. 397–411. doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00887.x
- Kolupaev Yu. E., Akinina G. E., Mokrousov A. V. Induction of heat tolerance in wheat coleoptiles by calcium ions and its relation to oxidative stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2005. Vol. 52, no. 2. P. 199–204. doi: 10.1007/s11183-005-0030-9
- Königshofer H., Tromballa H.-W., Löppert H.-G. Early events in signalling high-temperature stress in tobacco BY2 cells involve alteration in membrane fluidity and enhanced hydrogen peroxide production. *Plant*,

- Cell and Environment*. 2008. Vol. 31. P. 1771–1780. doi: 10.1111/j.1365-3040.20002.01880.x
- Körner C. J., Du X., Vollmer M. E., Pajerowska-Mukhtar K. M. Endoplasmic reticulum stress signaling in plant immunity – at the crossroad of life and death. *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16. P. 26582–26598. doi: 10.3390/ijms161125964
- Kotak S., Larkindale J., Lee U., Koskull-Doring P., Vierling E., Scharf K.-D. Complexity of the heat stress response in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2007. Vol. 10. P. 310–316. doi: 10.1016/j.pbi.2007.04.011
- Kumar S. V., Wigge P. A. H2A.Z-Containing nucleosomes mediate the thermosensory response in Arabidopsis. *Cell*. 2010. Vol. 140. P. 136–147. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.006
- Lamotte O., Guold K., Lecourieux D., Sequeira-Legendre A., Garcia-Lebrun A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D. Analysis of nitric oxide signaling functions in tobacco cells challenged by the elicitor cryptogein. *Plant Physiol*. 2004. Vol. 135. P. 516–529. doi: 10.1104/pp.104.038968
- Larkindale J., Knight M. R. Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plant Physiology*. 2002. Vol. 128. P. 682–695. doi: 10.1104/pp.010320
- Lata Ch., Prasad M. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. *Journal of Experimental Botany*. 2011. Vol. 62, no. 14. P. 4731–4748. doi: 10.1093/jxb/err210
- Legris M., Klose C., Burgie E. S., Costigliolo C., Neme M., Hiltbrunner A., Wigge Ph. A., Schafer E., Vierstra R. D., Casal J. Phytochrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. *Science*. 2016. ISSUE 6314. P. 897–900. doi: 10.1126/science.aaf5656
- Lin C.-Y., Chen Y.-M., Key J. L. Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings. *Plant Physiol*. 1984. Vol. 74. P. 152–160.
- Lin F., Qu Y., Zhang Q. Molecules regulating cytoskeletal organization in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signaling and Behavior*. 2014. Vol. 9. doi: 10.4161/psb.28337
- Lindemose S., O’Shea Ch., Jensen M. K., Skriver K. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 5842–5878. doi: 10.3390/ijms14035842
- Link V., Sinha K., Vashista P., Hofmann M. G., Proels R. K., Ehness R., Roitsch T. A heat-activated MAP kinase in tomato: a possible regulator of the heat stress response. *FEBS Letters*. 2002. Vol. 531. P. 179–183. doi: 10.1016/S0014-5793(02)03498-1
- Liu H., Charng Y. Common and distinct function of Arabidopsis class A1 and A2 heat shock factors in diverse abiotic stress responses and development. *Plant Physiology*. 2013. Vol. 163. P. 276–290. doi: 10.1104/pp.113.221168
- Liu H.-T., Li B., Shang Zh.-L., Li X.-Zh., Mu R.-L., Sun D.-Y., Zhou R.-G. Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat. *Plant Physiol*. 2003. Vol. 132. P. 1186–1195. doi: 10.1104/pp.102.018564
- Liu H.-T., Sun D.-Y., Zhou R.-G. Ca²⁺ and AtCaM3 are involved in the expression of heat shock protein gene in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*. 2005. Vol. 28. P. 1276–1284. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01365.x
- Liu Hh.-Ch., Liao H-T., Charng Y.-Y. The role of class A1 heat shock factors (HSF1s) in response to heat and other stresses in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*. 2011. Vol. 34, no. 5. P. 738–751. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02278.x
- Liu J., Feng L., Li J., He Z. Genetic and epigenetic control of plant heat responses. *Front. Plant Sci*. 2015. Vol. 6. Article 267. doi: 10.3389/fpls.2015.00267
- Liu J.-X., Srivastava R., Che P., Howell S. H. An endoplasmic reticulum stress response in Arabidopsis is mediated by proteolytic processing and nuclear relocation of a membrane-associated transcription factor, bZIP28. *Plant Cell*. 2007b. Vol. 19, no. 12. P. 4111–4119. doi: 10.1105/tpc.106.050021
- Liu J.-X., Srivastava R., Che P., Howell S. H. Salt stress responses in Arabidopsis utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling. *The Plant Journal*. 2007a. Vol. 51. P. 897–909. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03195.x
- Liu L., Zhu K., Yang Y., Wu J., Chen F., Yu D. Molecular cloning, expression profiling and trans-activation property studies of a DREB2-like gene from chrysanthemum (*Dendranthema vestitum*). *Journal of Plant Research*. 2008. Vol. 121, no. 2. P. 215–226. doi: 10.1007/s265-007-0140-x
- Los D. A., Murata N. Membrane fluidity and roles in the perception of environmental signaling. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2004. Vol. 1666. P. 142–157. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.08.002
- Los D. A., Mironov K. S., Allakhverdiev S. I. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. *Photosynthesis Research*. 2013. Vol. 116. P. 489–509. doi: 10.1007/s11120-013-9823-4
- Lu P. Y., Lévesque N., Kobor M. S. NuA4 and SWR1-C: Two chromatin-modifying complexes with overlapping functions and components. *Biochem. Cell Biol*. 2009. Vol. 87. P. 799–815. doi: 10.1139/O09-062
- Malerba M., Crosti P., Cerana R. Effect of heat stress on actin cytoskeleton and endoplasmic reticulum of tobacco BY-2 cultured cells and its inhibition by Co²⁺. *Protoplasma*. 2010. P. 23–30. doi: 10.1007/s00709-009-0078-z
- Martin R., Cutter K. G., Baldwin J. C., Dombrowski J. E. Identification and characterization of a salt stress-inducible zinc finger protein from *Festuca arundinacea*. *BMC research Notes*. 2012. 5:66. doi: 10.1186/1756-0500-5-66
- Matsukura S., Mizoi J., Yoshida T., Todaka D., Ito Y., Maruyama K., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Comprehensive analysis of rice DREB2-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes. *Molecular Genetics and Genomics*. 2010. Vol. 283. P. 185–196. doi: 10.1007/s00438-009-0506-y
- McClung C. R., Davis S. J. Ambient thermometers in plants: from physiological outputs towards mechanisms of thermal sensing. *Curr. Biol*. 2010. 20: R1086 – R1092. doi: 10.1016/j.cub.2010.10.035
- Miller G., Mittler R. Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? *Annals of Botany*. 2006. Vol. 98. P. 279–288. doi: 10.1093/aob/mc1107

- Mishkind M., Vermeer J. E. M., Darwish E., Mun-
nik T. Heat stress activates phospholipase D and trig-
gers PIP₂ accumulation at the plasma membrane and
nucleus. *The Plant Journal*. 2009. Vol. 60. P. 10–21. doi:
10.1111/j.1365-313X.2009.03933.x
- Mittler R., Finka An., Goloubinoff P. How do plants
feel the heat? *Trends in Biochemical Science*. 2012.
Vol. 37, no. 3. P. 118–125. doi: 10.1016/j.tibs.2011.11.007
- Mittler R., Kim Y., Song L., Coutu J., Coutu A., Cift-
ci-Yilmaz S., Lee H., Stevenson B., Zhu J.-K. Gain- and
loss-of-function mutations in Zat10 enhance the toleran-
ce of plants to abiotic stress. *FEBS Lett*. 2006. Vol. 580.
P. 6537–6542. doi: 10.1016/j.febslet.2006.11.002
- Mittler R., Zilinskas B. A. Molecular cloning and cha-
racterization of a gene encoding pea cytosolic ascor-
bate peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*. 1992.
Vol. 267. P. 21802–21807.
- Montero-Barrientos M., Hermosa R., Cardoza R. E.,
Gutierrez S. Transgenic expression of the *Trichoderma*
harzianum hsp70 gene increases Arabidopsis resis-
tance to heat and other abiotic stresses. *Journal of Plant*
Physiology. 2010. Vol. 167. P. 659–665. doi: 10.1016/
j.jplph.2009.11.012
- Mori I. C., Schroeder J. I. Reaction oxygen species
activation of plant Ca²⁺ channels. A signaling mechanism
in polar growth, hormone transduction, stress signal-
ing, and hypothetically mechanotransduction. *Plant*
Physiology. 2004. Vol. 135. P. 702–708. doi: 10.1104/
pp.104.042069
- Mu Ch., Zhang Sh., Yu G., Ni Ch., Li X., Liu H.
Overexpression of small heat shock protein LimH-
SP16.45 in Arabidopsis enhances tolerance to abio-
tic stresses. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8 (12): e82264. doi:
10.1371/journal.pone.0082264
- Nakashima K., Ito Y., Yamaguchi-Shinozaki K. Tran-
scriptional regulatory networks in response to abiotic
stresses in Arabidopsis and Grasses. *Plant Physiology*.
2009. Vol. 149. P. 88–95. doi: 10.1104/pp.108.129791
- Narberhaus F., Torsten Waldminghaus T., Chowd-
hury S. RNA thermometers. *FEMS Microbiol. Rev*. 2006.
Vol. 30. P. 3–16. doi: 10.1111/j.1574-6976.2005.004.x
- Nishizawa-Yokoi A., Nosaka R., Hayashi H., Taina-
ka H., Maruta T., Tamoi M., Ikeda M., Ohme-Takagi M.,
Yoshimura K., Yabuta Y., Shigeoka Sh. HsfA1d and
Hsf1e involved in the transcriptional regulation of HsfA2
function as key regulators for the Hsf signaling network
in response to environmental stress. *Plant and Cell Phy-
siology*. 2011. Vol. 52, no. 5. P. 933–945. doi: 10.1093/
pcp/pcr045
- Popova O. V., Dinh H. Q., Aufsatz W., Jonak C. The
RdDM pathway is required for basal heat tolerance in
Arabidopsis. *Molecular Plant*. 2013. Vol. 6. P. 396–410.
doi: 10.1093/mp/sst023
- Pottosin I. I., Schönknecht G. Vacuolar calcium
channels. *J. Exp. Bot*. 2007. Vol. 58, no. 7. P. 1559–
1569. doi: 10.1093/jxb/erm035
- Qin F., Kakimoto M., Sakuma Y., Maruyama K.,
Osakabe Y., Tran L.-S. P., Shinozaki K., Yamagu-
chi-Shinozaki K. Regulation and function analysis of
ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in
Zea mays L. *The Plant Journal*. 2007. Vol. 50. P. 54–69.
doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03034.x
- Qu A.-L., Ding Y.-F., Jiang Q., Zhu Ch. Molecular
mechanisms of the plant heat stress response. *Bioche-
mical and Biophysical Research Communications*. 2013.
Vol. 432. P. 203–207. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.01.104
- Queitsch C., Hong S. W., Vierling E., Lindquist S.
Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermo-
tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2000. Vol. 12.
P. 479–492.
- Ranty B., Albon D., Galaud J.-Ph. Plant calmodulin
and calmodulin-related proteins. *Plant Signaling and*
Behavior. 2006. P. 96–104.
- Reddy A. S. N., Ali G. S., Celesnik H., Day I. S. Cop-
ing with stresses: role of calcium – and calcium/calmod-
ulin-regulated gene expression. *The Plant Cell*. 2011.
Vol. 32. P. 2010–2032. doi: 10.1105/tpc.111.084988
- Rikhvanov E. G., Gamburg K. Z., Varakina N. N., Ru-
saleva T. M., Fedoseeva I. V., Tauson E. L., Stupniko-
va I. V., Stepanov A. V., Borovskii G. B., Voinikov V. K.
Nuclear-mitochondrial cross-talk during heat shock in
Arabidopsis cell culture. *The Plant Journal*. 2007. Vol. 52.
P. 763–778. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03275.x
- Rizhsky L., Davletova S., Liang H., Mittler R. The
zinc finger protein Zat12 is required for cytosolic ascor-
bate peroxidase 1 expression during oxidative stress in
Arabidopsis. *The Journal of Biological Chemistry*.
2004. Vol. 279, no. 12. P. 11736–11743. doi: 10.1074/jbc.
M313350200
- Rizhsky L., Liang H., Mittler R. The combined effect
of drought stress and heat shock on gene expression in
tobacco. *Plant Physiol*. 2002. Vol. 130. P. 1143–1151. doi:
10.1104/pp.006858
- Ruelland E., Zachowski A. How plants sense tem-
perature? *Environ. Exp. Bot*. 2010. Vol. 69. P. 225–232.
doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.05.011
- Saidi Y., Finka An., Muriset M., Bromberg Z.,
Weiss Y. G., Maathuis F. J. M., Goloubinoff P. The heat
response in moss plants is regulated by specific calci-
um-permeable channels in the plasma membrane. *The*
Plant Cell. 2009. Vol. 21. P. 2829–2843. doi: 10.1105/
tpc.108.065318
- Sakuma Y., Maruyama K., Qin F., Osakabe Y., Shi-
nozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Dual function of
an Arabidopsis transcription factor DREB2A in water-
stress-responsive and heat-stress-responsive gene ex-
pression. *PNAS*. 2006. Vol. 103, no. 49. P. 18822–18827.
doi: 10.1073/pnas.0605639103
- Sangwan V., Örvär B. L., Beyerly J., Hirt H., Dhind-
sa R. S. Opposite changes in membrane fluidity mimic
cold and heat stress activation of distinct plant MAP ki-
nase pathways. *Plant J*. 2002. Vol. 31. P. 629–638. doi:
10.1046/j.1365-313X.2002.01384.x
- Scandalios J. G. Oxidative stress: molecular percep-
tion and transduction of signals triggering antioxidant
gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biolo-
gy Research*. 2005. Vol. 38. P. 995–1014. doi: 10.1590/
S0100-879X2005000700003
- Scarpeci E. T., Zanol M. I., Valle E. M. Investiga-
tion the role of plant heat shock proteins during oxida-
tive stress. *Plant Signaling and Behavior*. 2008. Vol. 3.
P. 856–857. doi: 10.1007/s11103-007-9274-4
- Schramm F., Larkindale J., Kiehlmann E., Gan-
guli A., English G., Vierling E., Koskull-Doring P. A cas-
cade of transcription factor DREB2A and heat stress

transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of Arabidopsis. *The Plant Journal*. 2008. Vol. 53. P. 264–274. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.0334.x

Shah K., Singh M., Rai A. Ch. Effect of heat-shock induced oxidative stress is suppressed in Bc-ZAT12 expressing drought tolerant tomato. *Phytochemistry*. 2013. Vol. 95. P. 109–117. doi: 10.1016/j.phytochem.2013.07.026

Sharma P., Jha A. B., Dubey R. SH., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and anti-oxidative defense mechanism in plants under stressful condition. *Journal of Botany*. 2012. Article ID 217037, 26 p. doi: 10.1155/2012/217037

Singh A., Bhatnagar N., Pandey A., Pandey G. K. Plant phospholipase C family: regulation and functional role in lipid signaling. *Cell Calcium*. 2015. Vol. 58. P. 139–146. doi: 10.1016/j.ceca.2015.04.003

Soppe W. J., Jacobsen S. E., Alonso-Blanco C., Jackson J. P., Kakutani T., Koornneef M., Peeters A. J. The late flowering phenotype of fwa mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene. *Mol. Cell*. 2000. Vol. 6. P. 791–802. doi: 10.1016/S1097-2765(05)00090-0

Storozhenko S., De Pauw P., Van Montagu M., Kushnir I. D. The heat-shock element is a functional component of the Arabidopsis APX1 gene promoter. *Plant Physiology*. 1998. Vol. 118. P. 1005–1014.

Sun J., Ren L., Cheng Y., Gao J., Dong B., Chen S., Chen F., Jiang J. Identification of differentially expressed gene in *Chrysanthemum nankingense* (Asteraceae) under heat stress by RNA Seq. *Gene*. 2014. Vol. 552. P. 59–66. doi: 10.1016/j.gene.2014.09.013

Suzuki N., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M. A., Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Current Opinion in Plant Biology*. 2011a. Vol. 14. P. 691–699. doi: 10.1016/j.pbi.2011.07.014

Suzuki N., Rizhsky L., Ling H., Shuman J., Shulaev V., Mittler R. Enhanced tolerance to environmental stress in transgenic plants expressing the transcriptional coactivator multiprotein bringing factor 1c¹[^{tw}]. *Plant Physiol*. 2005. Vol. 139. P. 1313–01322. doi: 10.1104/pp.105.070110

Suzuki N., Sejima H., Tam R., Schalaus K., Mittler R. Identification of the MBF1 heat-response regulon of Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal*. 2011b. Vol. 66. P. 844–851. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04550.x

Todeschini A.-L., Georges A., Veitia R. A. Transcription factors: specific DNA binding and specific gene regulation. *Trends in Genetics*. 2014. Vol. 30, no. 6. doi: 10.1016/j.tig.2014.04.002

Török Z., Crul T., Maresca B., Schutz G. J., Viana F., Dindia L., Piotto S., Brameshuber M., Balogh G., Peter M., Porta A., Trapani A., Gombos I., Glatz A., Gungor B., Peksel B., Jr L. V., Csoboz B., Horvath I., Vijayan M. M., Hooper Ph. L., Harwood J. L., Vigh L. Plasma membranes as heat stress sensors: from lipid-controlled molecular switches to therapeutic applications. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014. Vol. 1838. P. 1594–1618. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.12.015

Tuteja N., Sopory S. K. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant Signaling and Behavior*. 2008. P. 525–536.

Usman M. G., Rafii M. Y., Ismail M. R., Malek M. A., Latif M. Ab., Oladosu Yu. Heat shock proteins: functions and response against heat stress in plants. *IJSTR*. 2014. Vol. 3. P. 204–218.

Volkov R. A., Panchuk I. I., Schoff F. Heat-stress-dependency and developmental modulation of gene expression: the potential of house-keeping genes as internal standards in mRNA expression profiling using real-time PT-PCR. *Journal of Experimental Botany*. 2003. Vol. 54, no. 391. P. 2343–2349. doi: 10.1093/jxb/erg244

Volkov R. A., Panchuk I. I., Mullineaux Ph. M., Schoff F. Heat stress-induced H₂O₂ is require for effective expression of heat gene in Arabidopsis. *Plant Molecular Biology*. 2006. Vol. 61. P. 733–746. doi: 10.1007/s1103-006-0045-4

von Koskull-Döring F., Scharf K.-D., Nover L. The diversity of plants heat stress transcription factors. *Trends Plant. Sci*. 2007. Vol. 12, no. 10. P. 452–457. doi: 10.1016/j.tplants.2007.08.014

Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M. R. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*. 2007. Vol. 61. P. 199–223. doi: 10.1016/j.envexpbot.2007.05.011

Wan Sh., Jiang L. Endoplasmic reticulum (ER) stress and the unfolded protein response (UPR) in plants. *Protoplasma*. 2016. Vol. 253. P. 753–764. doi: 10.1007/s00709-015-0842-1

Wang D., Luthe D. S. Heat sensitivity in a bentgrass variant. Failure to accumulate a chloroplast heat shock protein isoform implicated in heat tolerance. *Plant Physiol*. 2003. Vol. 133. P. 319–327. doi: 10.1104/pp.102.018309

Wang P., Zhao L., Hou H., Zhang H., Huang Y., Wang Y., Li H., Gao F., Yan Sh., Li L. Epigenetic changes are associated with programmed cell death induced by heat stress in seedling leaves of *Zea mays*. *Plant Cell Physiol*. 2015. Vol. 56, no. 5. P. 965–976. doi: 10.1093/pcp/pcv023

Wang R., Zhang Y., Kiffer M., Yu H., Kepinski S., Estelle M. HSP90 regulates temperature-dependent seedling growth in Arabidopsis by stabilizing the auxin co-receptor F-box protein TIR1. *Nature communications*. 2016. 7:10269. doi: 10.1038/ncomms.10269

Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants. *Journal of Experimental Botany*. 1996. Vol. 47, no. 296. P. 325–338.

Williams B., Verchot J., Dickman M. When supply does not meet demand-ER stress and plant programmed cell death. *Frontiers in Plant Science. Plant Cell Biology*. 2014. Vol. 5. doi: 10.3389/fpls.00211

Wu H.-Ch., Jinn T.-L. Oscillation regulation of Ca²⁺/calmodulin and heat-stress related genes in response to heat stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Signaling and Behavior*. 2012. Vol. 7, no. 9. P. 1056–1057. doi: 10.4161/psb.21124

Xu Y., Lindquist S. Heat-shock protein hsp90 governs the activity of pp60v-src kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. Vol. 90. P. 7074–7078.

Xue G.-P., Sadat Sh., Drenth J., McIntyre C. L. The heat shock factor family from *Triticum aestivum* in response to heat and other major abiotic stresses and their role in regulation of heat shock protein genes. *Journal of*

Experimental Botany. 2014a. Vol. 65, no. 2. P. 539–557. doi: 10.1093/jxb/ert399

Xue G.-P., Drenth J., McIntyre C. L. TaHsfA6f is a transcriptional activator that regulates a suite of heat stress protection genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) including previously unknown Hsf targets. *Journal of Experimental Botany*. 2014b. Vol. 66. P. 1025–1039. doi: 10.1093/jxb/eru462

Yamada K., Fukao Y., Hayashi M., Fukazawa M., Suzuki I., Nishimura M. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282, no. 52. P. 37794–37804. doi: 10.1074/jbc.M707168200

Yang Z. T., Lu S. J., Wang M. J., Bi D. L., Sun L., Zhou S. F., Song S. F., Liu J. X. A plasma membrane-tethered transcription factor, NAC062/ANAC062/NTL6, mediates the unfolded protein response in *Arabidopsis*. *Plant J*. 2014a. Vol. 79. P. 1033–1043. doi: 10.1111/tbj.12604

Yang Z. T., Wang M. J., Sun L., Lu S. J., Bi D. L., Sun L., Song Z. T., Zhang Sh. Sh., Zhou Sh. F., Liu J. X. The membrane-associated transcription factor NAC089 controls ER-stress-induced programmed cell death in plants. *PLoS Genet*. 2014b. Vol. 10. e1004243. doi: 10.1371/journal.pgen.1004243

Yeh Ch. H., Chang P. F. L., Yen K. W., Lin W. Ch., Chen Y. M., Lin Ch. Yu. Expression of a gene encoding a 16.9-kDa heat-shock protein Oshsp16.9, in

Escherichia coli enhance thermotolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 10967–10972.

Zang D., Wang Ch., Ji X., Wang Y. *Tamarix hispida* zinc finger protein ThZFP1 participates in salt and osmotic stress tolerance by increasing proline content and SOD and POD activities. *Plant Science*. 2015. Vol. 235. P. 111–121. doi: 10.1016/j.plantsci.2015.02.016

Zhang J., Liu B., Li J., Zhang L., Wang Y., Zheng H., Lu M., Chen J. Hsf and Hsp gene families in *Populus*: genome wide identification, organization and correlated expression during development and in stress responses. *BMC Genomics*. 2015. 16:181. doi: 10.1186/s12864-015-1398-3

Zhang Y., Mian M. A. R., Chekhovskiy K. et al. Differential gene expression in *Festuca* under heat stress conditions. *J. Exp. Bot*. 2005. Vol. 413. P. 897–907. doi: 10.1093/jxb/eri082

Zhu X., Liu Sh., Meng Ch., Qin L., Kong L., Xia G. WRKY transcription factors in wheat and their induction by biotic and abiotic stress. *Plant Molecular Biology Reporter*. 2013. Vol. 31. P. 1053–1067. doi: 10.1007/s11105-013-0565-4

Zilberman D., Gehring M., Tran R. K., Ballinger T., Henikoff S. Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. *Nature Genetics*. 2007. Vol. 39. P. 61–69. doi: 10.1038/ng1929

Received January 23, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Нилова Ирина Александровна

младший научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: im-ira@mail.ru
тел.: (8142) 762712

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
тел.: (8142) 769810

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:

Nilova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: im-ira@mail.ru
tel.: (8142) 762712

Topchieva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: topchieva67@mail.ru
tel.: (8142) 769810

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

УДК 57.053:577.112.7:577.112.8

1. ТРАНСПОРТЕРЫ ОРГАНИЧЕСКИХ АНИОНОВ (ОАТ). МОЛЕКУЛЯРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, СТРУКТУРА, ФУНКЦИЯ, УЧАСТИЕ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ У ЖИВОТНЫХ (ОБЗОР)

Л. П. Смирнов, И. В. Суховская, Е. В. Борвинская

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Подсемейство транспортеров органических анионов (ОАТ), которое составляет примерно половину белков семейства SLC22, входящего в состав суперсемейства MFS-транспортеров, привлекает большое внимание исследователей в связи с активным участием в обмене эндогенных метаболитов, различных лекарственных средств, токсинов, молекул пищевого происхождения. Экспрессия генов, кодирующих ОАТ, наблюдается во многих органах, включая почки, печень, обонятельную слизистую, мозг, сетчатку глаза и плаценту. В настоящее время известно 10 ОАТ, из которых у человека найдено семь, а у грызунов восемь. ОАТ можно рассматривать как часть эволюционно-консервативной системы, защищающей высшие организмы от потенциально токсичных соединений, появляющихся в окружающей среде. Полипептидная цепь ОАТ состоит из 536–556 аминокислотных остатков. Характерной особенностью вторичной структуры молекулы, как и у других представителей суперсемейства MFS, является наличие 12 трансмембранных спиралей, внутриклеточная локализация N- и C-концевых участков молекулы, большая внеклеточная петля между 1 и 2 доменами и большая внутриклеточная петля, связывающая 6 и 7 домены. Ядерные рецепторы, такие как Hnf4 α и Hnf1 α , регулируют экспрессию ОАТ во взаимосвязи с ферментами I и II фаз биотрансформации (DME – drug metabolizing enzymes). Взаимосвязь между ОАТ и DME в тканях играет существенную роль с точки зрения образования и инактивации ключевых метаболитов, сигнальных молекул, разного рода токсинов. Согласно гипотезе дистанционного опознавания и сигнализации (Remote Sensing and Signaling Hypothesis), ОАТ участвуют в дистанционной межорганный коммуникации путем регуляции уровней сигнальных молекул и ключевых метаболитов в тканях и жидкостях. ОАТ также могут играть определенную роль в коммуникации между организмами путем транспорта небольших молекул через кишечник, плаценту, в грудное молоко и летучих молекул, обладающих сигнальными свойствами, через мочу.

Ключевые слова: ОАТ; переносчики органических анионов; филогения; межорганный коммуникация.

L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya, E. V. Borvinskaya. ORGANIC ANION TRANSPORTERS. MOLECULAR DIVERSITY, STRUCTURE, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION SYSTEM IN ANIMALS (A REVIEW)

The organic anion transporter (OAT) subfamily, which constitutes roughly a half of the SLC22 transporter family and shares many structural characteristics with other MFS pro-

teins, has received a great deal of attention because of its role in handling of common drugs, toxins, and nutrients (vitamins, flavonoids). OAT coding genes are expressed in many tissues, including kidney, liver, olfactory mucosa, brain, retina, and placenta. We currently know of 10 OATs, 7 in humans and 8 in rodents. OATs can be regarded as a part of the evolutionarily conservative system that protects higher organisms against potentially toxic compounds encountered in the environment. OATs polypeptide chain consists of 536–556 amino acid residues. Like in other members of the MFS superfamily, a characteristic trait of the molecule secondary structure is 12 transmembrane helices and intracellular localization of the N- and C-termini of the molecule, a large extracellular loop between domains 1 and 2, and a large intracellular loop connecting domains 6 and 7. Nuclear receptors, such as Hnf4 α and Hnf1 α , appear to regulate the expression of OATs in conjunction with phase I and phase II drug metabolizing enzymes. According to the “Remote Sensing and Signaling Hypothesis,” OATs can be involved in remote interorgan communication by regulating the levels of signaling molecules and key metabolites in tissues and body fluids. OATs can also play a part in interorganismal communication by transporting small molecules via the intestine, placental barrier, into breast milk, as well as volatile odorants via urine.

Key words: OATs; organic anion transporters; phylogeny; interorgan communication.

В начале двухтысячных годов Международным союзом биохимии и молекулярной биологии (International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB)) была принята система классификации транспортных белков, которая включает 9 суперсемейств [Chang et al., 2004]. Из них самым большим является суперсемейство вторичных переносчиков MFS (Major Facilitator Superfamily), содержащее более 74 семейств [Saier et al., 1999; Reddy et al., 2012], исключительное функциональное разнообразие которых связано с фактической возможностью транспортировать любой тип небольших или среднего размера молекул, обладающих биологической активностью. Почти все белки, включенные в состав MFS, имеют общую топологию, которая включает 12 трансмембранных доменов, а N- и C-концевые участки транспортера фиксированы на цитоплазматической стороне мембраны [Chang et al., 2004].

В состав суперсемейства MFS входят белки семейства SLC22, которые осуществляют трансмембранный перенос «органических электролитов» – структурно различных соединений, имеющих отрицательный, положительный либо одновременно оба заряда (цвиттерионы) при физиологических значениях pH. К этой группе соединений относятся эндогенные субстраты, имеющие физиологическое значение, а также ксенобиотики, важные с точки зрения фармакологии и токсикологии [Pelis, Wright, 2014; Saier et al., 2014].

В семействе SLC22, в свою очередь, выделяют транспортеры органических анионов (OAT), катионов (OCT) и карнитин/цвиттерионов (OCTN). В настоящей работе дан анализ современного состояния исследований OAT, группы белков, которые составляют примерно

от одной трети до половины представителей семейства SLC22 [Nigam et al., 2015]. Обзор включает информацию о номенклатуре, тканевой локализации транспортеров, филогенетических связях в семействе OAT, структуре и транспортной функции OAT, участии OAT в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков, а также в дистанционной межорганной коммуникации путем регуляции уровней сигнальных молекул и ключевых метаболитов.

Номенклатура OAT

В настоящее время очевидным является факт, что OAT играют чрезвычайно важную роль в транспорте исключительно широкого круга соединений, включающих множество молекул эндогенного происхождения (гормоны, нутриенты, метаболиты) и клинически важных лекарственных препаратов. Трансмембранный перенос, осуществляемый OAT, происходит во множестве органов, включая почки, печень, мозг, глаза, кишечник [Van Wert et al., 2010]. Филогенетический анализ свидетельствует, что эволюция белков этого семейства началась более 450 млн лет назад. Они выявлены у бактерий, низших эукариот, растений и млекопитающих [Koepsell, Endou, 2004; Jacobsson et al., 2007]. Высказано предположение, что распространение и дивергенция семейства генов SLC22 у млекопитающих в процессе эволюционной радиации сыграли существенную роль в развитии адаптаций у этой группы животных [Zhu et al., 2015].

OAT можно рассматривать как часть эволюционно консервативной системы, защищающей высшие организмы от потенциально

Транспортеры органических анионов подсемейства OAT [по: Nigam et al., 2015]

OAT	Ген		Экспрессия	Установленные субстраты
	Человек	Мышь		
OAT1	<i>SLC22A6</i>	<i>Slc22a6</i>	Почки, сосудистое сплетение мозга	Низкомолекулярные ксенобиотики, циклические нуклеотиды, простагландин E ₂ , <i>p</i> -аминогиппуровая кислота, индоксил сульфат, соединения ртути
OAT2	<i>SLC22A7</i>	<i>Slc22a7</i>	Печень, почки	Антивирусные препараты, цГМФ, простагландин E ₂ , салицилаты
OAT3	<i>SLC22A8</i>	<i>Slc22a8</i>	Почки, эпителий мозга, сосудистое сплетение мозга, сетчатка глаза, семенники	Низкомолекулярные ксенобиотики, конъюгаты половых гормонов, карнитин, простагландин E ₂ , витамины, метаболиты растений
OAT4	<i>SLC22A11</i>		Плацента, почки, мозг	Эстрон сульфат, дегидроэпиандростерон сульфат, простагландин E ₂ , ураты, охратоксин А
OAT5		<i>Slc22a19</i>	Почки	Эстрон сульфат, дегидроэпиандростерон сульфат, простагландин E ₂ , охратоксин А
OAT6	<i>SLC22A20</i>	<i>Slc22a20</i>	Назальная слизистая, семенники, печень	Эстрон сульфат, одоранты
OAT7	<i>SLC22A9</i>		Печень	Эстрон сульфат, дегидроэпиандростерон сульфат
OAT8		<i>Slc22a9</i> (крыса)	Почки	Эстрон сульфат, дегидроэпиандростерон сульфат, охратоксин А
OAT9		<i>Slc22a27</i>	Печень	Ксенобиотики, эстрон сульфат, охратоксин А, карнитин
OAT10	<i>SLC22A13</i>	<i>Slc22a13</i>	Почки, мозг, тонкий и толстый кишечник	Никотин, ураты

токсичных соединений, появляющихся в окружающей среде [Burckhardt, 2012]. OAT также играют важную роль в обмене между жидкостными компартментами тела (кровь-центральная нервная система, кровь-моча, кишечник-кровь, кровь-желчь, кровь-плацента и др.) [Nigam et al., 2015]. В настоящее время показано присутствие OAT почти во всех типах эпителиальных клеток, а также в эндотелии и других клетках.

По современным представлениям, в составе OAT, обнаруженных у человека и лабораторных млекопитающих (крыс, мышей), числится 10 трансмембранных белков [Nigam et al., 2015]. У человека найдено семь OAT из десяти (OAT1, 2, 3, 4, 6, 7, 10), а у грызунов восемь (OAT1, 2, 3, 5, 6, 8, 9 и 10).

OAT-транспортеры обозначаются либо в соответствии с порядком идентификации – OAT1–10, либо по номенклатуре соответствующих белку генов, например, OAT1 – это *SLC22A6* у человека и *Slc22a6* у мыши (табл.). Найгем с соавторами [Nigam et al., 2015] отмечают, что современные номенклатура и обозначение OAT человека и грызунов крайне запутанны и требуют ревизии в свете появляющихся новых данных по расшифровке аминокислотных последовательностей этих белков у других видов. Кроме того, помимо транспорта именно органических анионов некоторые транспортеры,

такие как OAT1 и близкородственный OAT3, осуществляют транспорт также некоторых метаболитов и лекарственных препаратов, являющихся органическими катионами и цвиттер-ионами [Ahn et al., 2009; Vallon et al., 2012]. Это накладывает некоторые ограничения на использование номенклатуры, основанной на функциональных свойствах этих белков. Тем не менее название OAT можно считать достаточным для описания этой группы транспортеров [Nigam et al., 2015]. В тексте данной работы мы будем обозначать эти транспортеры только заглавными буквами, а в случае, если белок выделен не у человека, использовать приставку из строчных букв, например, OAT крысы как rOAT.

Тканевая локализация OAT

OAT1 (*SLC22A6*) экспрессируется в основном в почках и локализуется на базолатеральных мембранах клеток ренальных проксимальных трубочек (RPT) [Hosoyamada et al., 1999].

OAT2 (*SLC22A7*) обнаружен в синусоидальных мембранах гепатоцитов [Simonson et al., 1994], а также в почках, где локализация транспортеров имеет видовую специфику. Например, у человека OAT2 найден в базолатеральных мембранах клеток RPT [Enomoto et al., 2002], а у крыс – в полостных мембранах RPT [Brzica et al., 2009].

Высокий уровень экспрессии OAT3 (*SLC22A8*) у человека показан в базолатеральных мембранах RPT [Motohashi et al., 2002]. Этот транспортер также выявлен в мозге, скелетной мускулатуре [Cha et al., 2001] и тканях надпочечников [Asif et al., 2005].

OAT4 (*SLC22A11*) обнаружен в почках, плаценте [Cha et al., 2000] и тканях надпочечников [Asif et al., 2005]. В почках OAT4 встроен в полостные мембраны клеток RPT, где он экспрессируется совместно с OAT1 и OAT3 [Ekaratanawong et al., 2004].

OAT5 является примером неточной номенклатуры, так как под этим названием описано два отдельных транспортера, гены которых *SLC22A10* и *Slc22a19* не являются ортологами [Jacobsson et al., 2007; Klein et al., 2010], так как mOAT5 мышей является гомологом OAT8 грызунов. Установлено, что OAT5 человека (*SLC22A10*) экспрессируется исключительно в клетках печени [Sun et al., 2001].

OAT6 (*SLCA20*) сначала был описан у мыши [Monte et al., 2004], затем обнаружен у человека [Jacobsson et al., 2007], хотя функциональные свойства hOAT6 не установлены. Показан высокий уровень экспрессии mOAT6 в назальном эпителии и более слабый в семенниках [Monte et al., 2004; Schnabolk et al., 2006; Thiebaud et al., 2011]. Интересно, что этот транспортер может взаимодействовать с летучими пахучими соединениями (эфирами пропионовой и масляной кислот), которые накапливаются у животных с нокаутом по OAT1 [Kaler et al., 2006]. Однако роль OAT6 в функционировании обонятельных клеток остается неизвестной. В семенниках существенный уровень экспрессии обнаружен в клетках Сертоли, создающих барьер между семенниками и кровью, что указывает на участие OAT6 в барьерных функциях этих эпителиальных клеток [Schnabolk et al., 2010].

OAT7 (*SLC22A9*) является, вероятно, транспортером, специфичным для печени, и локализован на синусоидальных мембранах гепатоцитов [Sun et al., 2001]. Номенклатура этого транспортера, как и ряда других, представляет собой пример неточности, потому что OAT7 обнаружен у человека, а его ортологи найдены у приматов, а не у грызунов [Nigam et al., 2015].

OAT8 (*Slc22a9*) найден у крыс и имеет еще одно название – *Ust1r/Slc22a9* [Yokoyama et al., 2008]. Сравнение последовательностей показало, что rOAT8 является гомологом белков крысы и мыши, ранее обозначенных как OAT5 (*Slc22a19*) [Yokoyama et al., 2008]. Эти белки обнаружены в почках и локализованы на апикальной поверхности RPT [Youngblood et al., 2004; Anzai et al., 2005].

Гены *SLC22A27* (mOAT9) найдены у мышей на хромосоме 19. Первоначально они рассматривались как результат амплификации генов в кластере транспортеров органических ионов [Wu et al., 2009]. Позднее этот транспортер был назван OAT9. Данные о его субстратной специфичности чрезвычайно скудны. Тем не менее представляется вероятным, что mOAT9 способен переносить карнитин. Иммунохимический анализ выявил локализацию транспортера на апикальной и синусоидальной мембранах RPT [Tsuchida et al., 2010].

OAT10 (*SLC22A13*) сначала был идентифицирован как транспортер органических катионов из-за сходной гомологии с транспортерами органических катионов OCT1 и NKT [Nishiwaki et al., 1998]. Позднее он был переименован в OAT10 из-за высокого сродства к никотину и низкого к мочевой кислоте, что выяснилось, когда этот белок был экспрессирован в ооцитах *Xenopus* и в эпителиальных клетках аденокарциномы человека линии Caco-2 [Bahn et al., 2008; Anderson, Thwaites, 2010; Burckhardt, 2012]. Транскрипты *SLC22A13* (OAT10) выявлены во многих органах, но наибольшая экспрессия отмечена в почках, тонком и толстом кишечнике, а также в апикальных мембранах RPT. Экспрессия характеризуется гендерной спецификой и выше в почках у женщин [Bahn et al., 2008].

Филогенетические взаимосвязи в семействе OAT

Зу с соавторами [Zhu et al., 2015] провели филогенетический анализ 175 наборов аминокислотных последовательностей из базы данных NCBI и показали, что OAT1 (*SLC22A6*) обнаруживается у животных почти всех классов позвоночных, за исключением птиц и яйцекладущих, что свидетельствует в пользу древнего происхождения семейства OAT. В том числе ортологи OAT1 были обнаружены у японской миноги, данио (*Danio rerio*) и лососевых рыб. Транспортер OAT2 такой же древний, как и OAT1, и представлен у всех исследованных позвоночных, включая хрящевых и костистых рыб, птиц, сумчатых и плацентарных млекопитающих. Белок OAT3, другой близкий родственник OAT1, вероятно, впервые появился у сумчатых [Zhu et al., 2015]. Возможно, предковый ген OAT3 возник позднее генов OAT1 и OAT2, однако, чтобы подтвердить это предположение, требуется дополнительный анализ [Zhu et al., 2015]. Транспортеры семейства OAT6 эволюционировали параллельно с OAT1, так как наборы последовательностей OAT1, обнаруженные

у рыб, сходны с OAT6 мышей в большей степени, чем ожидалось [Monte et al., 2004]. Например, анализ идентичности drOAT1 *D. rerio* показал 49 % сходства по аминокислотной последовательности с mOAT1 и mOAT6. У японской миноги был выявлен набор последовательностей, который соответствовал как OAT1, так и ближайшему родственнику – OAT6, активно экспрессирующему в обонятельных клетках слизистой млекопитающих [Kaler et al., 2006]. У акул OAT1 не обнаружен, но присутствует OAT6.

Михальевич и соавторы [Mihaljevic et al., 2016] обнаружили, что drOAT1 и drOAT3 являются «один к одному» (one-to-one) ортологами OAT1 и OAT3 человека, что может указывать на высокий уровень функционального консерватизма этих транспортеров, сохранившегося в процессе эволюции позвоночных. При этом тканевые особенности параметров экспрессии могут указывать на разную функцию этих транспортеров у рыб и млекопитающих. Например, у *D. rerio* высокий уровень экспрессии OAT1 и OAT3 наблюдался в мозге самок [Mihaljevic et al., 2016], в то время как у человека и мыши эти транспортеры экспрессируются главным образом в почках [Lee et al., 2006]. Тем не менее и для drOAT3 характерна активная экспрессия в почках, особенно у самок, что может свидетельствовать в пользу функциональных особенностей, аналогичных транспортерам млекопитающих и связанных с переносом ксенобиотиков [Mihaljevic et al., 2016].

У *D. rerio* обнаружено пять разновидностей транспортера OAT2 (a–e). Интересно отметить, что если гены OAT2 высших тетрапод демонстрируют «один-к-одному» (one-to-one) ортологию относительно друг друга, то у всех исследованных видов рыб ортология относительно соответствующих генов человека – по «one-to-many»-типу. Это может быть следствием независимой полной геномной дупликации (WGD) у костистых рыб с дополнительной WGD у лососевых, к которой можно добавить дупликации индивидуальных генов или генных кластеров [Howe et al., 2013; Berthelot et al., 2014]. Анализ консервативной синтении показал наличие множественной дупликации генов у *D. rerio*. Показана консервативная синтения пяти OAT2 генов на хромосомах 11 (OAT2a) и 17 (OAT2b–e), соответствующая гену OAT2 человека на хромосоме 6 [Mihaljevic et al., 2016].

Среди ко-ортологов OAT2 *D. rerio* нет полипептидов, которые бы соответствовали OAT2 человека по профилям экспрессии. OAT2 человека доминирует в печени, средний уровень экспрессии отмечен в почках,

слабый – в семенниках, кишечнике и матке [Simonson et al., 1994]. Между тем, у *D. rerio* отсутствует высокий уровень экспрессии генов OAT2 в печени. В отличие от млекопитающих для всех OAT2 (a–e) *D. rerio* показан высокий уровень экспрессии в семенниках и в мозге. Обнаруженные различия указывают, по всей видимости, на потенциально различную роль OAT2 у рыб и млекопитающих [Mihaljevic et al., 2016]. В частности, OAT2 у человека играет важную роль в осуществлении почками транспорта креатинина, мочевой кислоты и многочисленных ксенобиотиков [Sato et al., 2010; Shen et al., 2015]. Сходство профилей экспрессии в почках показано для OAT2c и OAT2e и человеческого OAT2 [Simonson et al., 1994; Rizwan, Burckhardt, 2007], что может указывать на функциональное сходство этих транспортеров у исследованных видов позвоночных [Mihaljevic et al., 2016].

Помимо вышеперечисленных следует упомянуть транспортер мочевой кислоты URAT1 (первоначально назывался как Rst (renal specific transporter)), кодируемый геном *SLC22A12*, который не входит в группу OAT1–10 [Mori et al., 1997]. Этот транспортер функционально тесно связан с OAT1, OAT3 и OAT6 и в геноме сцеплен с геном OAT4 [Eraly et al., 2003]. Генетические варианты *SLC22A12* у человека связаны с аномалиями в метаболизме мочевой кислоты – гиперурициемией и гипоурициемией [Enomoto et al., 2002]. Нокауты по *SLC22A12*, а также по *SLC22A6* (mOAT1) и *SLC22A8* (mOAT3) у мышей, приводят к изменениям в метаболизме мочевой кислоты [Eraly et al., 2008; Hosoyamada et al., 2010].

Генетическая взаимосвязь между OAT1–10 и URAT1 представляется следующим образом: на ранних этапах эволюции образовались две основные ветви: одна – OAT1 и OAT3, другая – OAT6 [Burckhardt, 2012]. Третья ветвь распалась на OAT2/OAT10 – кластер, состоящий из OAT5, 7, 8, 9, и группу из OAT4 и URAT1. У человека гены *SLC22A6* и *SLC22A8*, кодирующие OAT1 и OAT3, расположены парно на хромосоме 11q12.3 и 19q, а у мыши гены *Slc22a11* и *Slc22a12*, кодирующие OAT4 и URAT1, – на хромосоме 11q13 [Eraly et al., 2003; Jacobsson et al., 2007]. Гены, кодирующие OAT1/OAT3 и OAT4/URAT1, вероятно, являются продуктами дупликации [Burckhardt, 2012].

Структура OAT

Полипептидная цепь OAT состоит из 536–556 аминокислотных остатков. Вторичная структура молекулы характерна для всех MFS-транспортеров, особенностью которых является

наличие 12 трансмембранных спиралей, внутриклеточная локализация N- и C-концевых участков молекулы, большая внеклеточная петля между доменами 1 и 2 и большая внутриклеточная петля, связывающая домены 6 и 7. На большой внеклеточной петле расположено несколько сайтов гликозилирования [Srimarogeng et al., 2008]. Удаление N-гликозидных остатков у OAT1 и OAT4 нарушает встраивание этих транспортеров в мембрану, а гликозилирование Asp в позиции 39 влияет на связывание субстрата и его транслокацию [Tanaka et al., 2004b; Zhou et al., 2005]. На большой внеклеточной петле имеются также четыре консервативных остатка цистеина, расположенные в одних и тех же позициях и образующие дисульфидные мостики, которые важны для встраивания в определенные участки мембраны, а также для стабилизации молекулы [Tanaka et al., 2004a]. Большая внутриклеточная петля имеет консенсусные сайты, с помощью которых происходит фосфорилирование различными протеинкиназами [Srimarogeng et al., 2008]. Обнаружено, что OAT4 имеет на C-концевом участке так называемую PDZ-консенсусную последовательность, обычно состоящую из четырех аминокислот (-лизил-треонил-лизил-лейцил, KTKL), с помощью которой OAT4 соединяется с PDZ-доменом мультивалентных мембранных белков, таких как PDZK1 и NHERF1 [Miyazaki et al., 2005]. PDZ-домен состоит из 80–90 объединенных общей структурой аминокислот и представляет собой «молекулярный якорь», с помощью которого трансмембранные белки фиксируются на внутренней стороне плазматической мембраны [Hung, Sheng, 2002; Kim, Sheng, 2004; Ye, Zhang, 2013].

Перри с соавторами [Perry et al., 2006], используя в качестве модели кристаллическую структуру транспортера 3-фосфоглицерина (*Escherichia coli*), относящегося к тому же суперсемейству (MFS), что и OAT1, создали трехмерную гомологичную модель человеческого OAT1. Согласно этой модели трансмембранные домены 1, 2, 4 и 5 с N-конца и домены 7, 8, 10 и 11 с C-конца формируют канал связывания и транслокации. Подсчитан объем предполагаемого канала (830 \AA^3), который может приспособиться как к отдельному субстрату/ингибитору, так, потенциально, и к нескольким одновременно. Например, такие субстраты OAT1, как цидофовир и пробенецид, имеют объемы 158 и 233 \AA^3 соответственно. В процессе связывания и транспорта лигандов участвуют аминокислотные остатки, такие как Tyr²³⁰, Lys⁴³¹, Phe⁴³⁸, Arg⁴⁶⁶ [Perry et al., 2006; Rizwan et al., 2007], которые организуют канал связывания

и переноса. Доступность Cys⁴⁴⁰ в домене 11 объясняет механизм переноса тиол-реактивных соединений, для которых мембрана обычно непроницаема. Это свидетельствует в пользу соответствия представленной 3D-модели OAT1 реальному строению молекулы транспортера [Astorga et al., 2011]. Мутация Tyr²³⁰ в OAT1 блокирует транспорт *p*-аминогиппуровой кислоты, но не цидофовира, что указывает на наличие множества лигандсвязывающих областей, определяющих мультиселективность OAT1 [Perry et al., 2006].

Некоторые детали реализации молекулой OAT транспортных функций

В настоящее время установлено, что OAT1–OAT4 являются Na-независимыми анионообменниками [Pelis, Wright, 2014]. Тем не менее транспорт органических анионов (ОА) OAT1 и OAT3 косвенно связан с градиентом Na⁺ через третичный активный транспорт, в котором задействованы Na, K-АТФаза и Na-зависимый транспорт дикарбоновых соединений [Sweet et al., 2003]. В процессе реализации этого механизма Na, K-АТФаза создает и поддерживает градиент Na⁺, который, в свою очередь, поддерживает Na-зависимый транспорт α -кетоглутарата (α -КГ), одного из метаболитов цикла Кребса, являющегося предпочтительным физиологическим противоионом для OAT1 и OAT3. Концентрация α -КГ в плазме составляет примерно 8 мМ, а его внутриклеточная концентрация в клетках RPT существенно выше, что частично обусловлено Na-зависимым транспортом [Pelis, Wright, 2014]. Транспорт ОА с помощью OAT1 и OAT3 осуществляется через обменный процесс, стимулируемый градиентом α -КГ, направленным из клетки. По крайней мере, для OAT1 обменный процесс может быть как электронейтральным, так и электроразряженным, все зависит от природы транспортируемой молекулы. Например, при обмене монокарбоновой *p*-аминогиппуровой кислоты на дикарбоновый α -КГ в соотношении 1:1 происходит перенос положительного заряда внутрь клетки [Aslamkhan et al., 2003]. Отсутствие изменений электрохимического потенциала в ооцитах *Xenopus* при добавлении α -КГ в среду культивации указывает на электронейтральный характер обмена одной дикарбоновой молекулы на другую, осуществляемого OAT1 [Burckhardt et al., 2000]. Эксперименты по стимуляции экспрессии OAT2, проведенные на ооцитах *Xenopus*, показали, что сукцинат и фумарат, а не α -КГ, используются OAT2 как противоионы при транспорте эстрон-3-сульфата [Kobayashi et al., 2005].

Внеклеточный хлорид-ион стимулирует транспорт OAT1 путем увеличения скорости переноса [Rizwan et al., 2007]. Исследования, проведенные с помощью сайт-направленного мутагенеза, показали, что стимуляция транспортной функции OAT1 осуществляется через взаимодействие Arg⁴⁶⁶ с Cl⁻ [Rizwan et al., 2007]. Глутарат, OH⁻ и Cl⁻ могут выступать в роли противоионов при осуществлении транслокации ОА транспортером OAT4 [Hagos et al., 2007]. Механизмы транспорта, осуществляемого другими OAT, остаются до сих пор неизвестными [Pelis, Wright, 2014].

Взаимосвязь между OAT и ферментами I и II фаз биотрансформации

При сравнении данных, полученных *in vitro* и *in vivo*, обнаружено, что OAT-транспортеры очень тесно связаны с ферментами фаз I (введение в молекулу ксенобиотика полярных групп) и II (образование конъюгатов с глутатионом или глюкуроновой кислотой) биотрансформации, и это один из основных механизмов распределения и элиминации метаболитов [Wu et al., 2013]. При проведении экспериментов с нокаутами *in vitro* было показано участие OAT, главным образом OAT3 и OAT1, в транспорте сульфатированных и глюкуронизированных субстратов [Vallon et al., 2008; Wikoff et al., 2011; Wu et al., 2013]. OAT3, например, переносит не только большой набор немодифицированных ОА и некоторых катионов, но также множество глюкуронизированных и сульфатированных субстратов, включающих пищевые флавоноиды, конъюгированные лекарства и половые стероиды. В этой связи интересно отметить, что экспрессия OAT и DME регулируется одними и теми же факторами транскрипции (Hnf4) [Martovetsky et al., 2013]. Например, воздействие на культуру эмбриональных почечных клеток антагонистами Hnf4 нарушало экспрессию не только разных DME, но и некоторых SLC-транспортеров, включая OAT1 и OAT3 [Martovetsky et al., 2013]. Повышенный уровень экспрессии факторов Hnf1 α и Hnf4 α в первичных фибробластах эмбрионов мыши не только индуцировал коэкспрессию DME фаз I, II и транспортеров, но и стимулировал поглощение ОА. В дополнение к факторам Hnf4 α и Hnf1 α другие факторы транскрипции также участвуют в регуляции DME фаз I и II в клетках RPT. Взаимосвязь между OAT и DME в тканях играет существенную роль с точки зрения образования и инактивации ключевых метаболитов и сигнальных молекул, вовлеченных в дистанционную коммуникацию между органами, эпителиальными

и неэпителиальными клетками (включая нервную систему и клетки крови), тканевыми жидкостями [Wikoff et al., 2011; Martovetsky et al., 2013; Wu et al., 2013]. Вероятно, в основном состоянии у млекопитающих функционирует объединенная сеть DME и транспортеров, которая настроена на поддержку гомеостаза [Nigam et al., 2015]. Часто трансформированные при участии DME молекулы более предпочтительны для транспортеров. Например, OAT3 лучше, чем OAT1, приспособлен к транспорту глюкуронизированных молекул (фаза II) [Nigam et al., 2015].

Дистанционная коммуникация между органами и тканями, участие OAT в этом процессе

Для того чтобы объяснить, как в организме транспортеры участвуют в механизмах опознавания и управления концентрацией различных субстратов, была предложена гипотеза дистанционного опознавания и сигнализации (remote sensing and signaling hypothesis) [Monte et al., 2004; Kaler et al., 2006, 2007; Nigam et al., 2007; Ahn, Nigam, 2009]. Первоначально эта гипотеза базировалась на анализе OAT семейства SLC22, затем появились аргументы в пользу участия транспортеров других семейств, например, SLC21 (OATP) и так называемых ABC (АТФ-связывающих кассетных) транспортеров, участвующих в выведении из клеток разного рода токсических соединений [Nigam et al., 2015].

Физиологическими субстратами для OAT являются множество эндогенных метаболитов. При этом для данных транспортеров характерна тканеспецифичная экспрессия в эпителиальных и эндотелиальных клетках, непосредственно контактирующих с жидкостными компартментами тела. Это, по мнению Yu с соавторами [Wu et al., 2011], подтверждает факт участия этих транспортеров в дистанционной коммуникации между тканями у высших животных. Используя системный подход к сравнительному изучению мышей дикого типа и дефицитных по OAT3, они показали, что отсутствие этого транспортера ведет, во-первых, к нарушениям в различных метаболических путях, в том числе цикле Кребса, аминокислотном и нуклеотидном обмене. Во-вторых, критически изменяет экспрессию генов, кодирующих DME I и II фаз биотрансформации. В-третьих, отсутствие транспортера приводит к изменениям в метаболических путях, отвечающих за регуляцию вторичных метаболитов, в том числе сигнальных молекул (простагландинов и стероидов) и пищевых

соединений растительного происхождения (витамины, флавоноиды). Наблюдается накопление одного из представителей группы флавоноидов – эпикатехина, который влияет на показатели кровяного давления. У мышей, дефицитных по OAT3, зарегистрировано пониженное давление [Vallon et al., 2008].

Далее показано [Monte et al., 2004], что OAT6 экспрессируется в основном в обонятельном эпителии у мышей, в меньшей степени в семенниках и первичных эмбриональных тканях. В обонятельном эпителии OAT6 экспрессируется не только в нейронах вомероназального органа, но и в других типах клеток слизистой носовых пазух [Kaler et al., 2006]. Этот транспортер проявляет высокую степень сродства к небольшим летучим молекулам, которые ранее были идентифицированы в моче мышей как сигнальные запаховые метки [Willse et al., 2005]. Повышенный уровень этих меток был найден в плазме мышей с нокаутом по OAT1, что может свидетельствовать об участии этого транспортера в экскреции из почек запаховых меток, которые затем идентифицируются обонятельными клетками других особей через транспорт с участием OAT6 [Kaler et al., 2006]. Вероятно, этот путь является частью сигнальной системы, осуществляющей взаимосвязь между организмами [Ahn, Nigam, 2009], так как млекопитающие используют запаховые метки мочи для установления видовой, гендерной и родственной идентичности [Sherborne et al., 2007; Bates et al., 2008]. Поэтому с точки зрения экологии транспортеры являются важной составляющей ключевого звена коммуникации между разными организмами, поскольку в подавляющем большинстве случаев в их общении задействованы побочные продукты метаболизма, которые часто являются субстратами для OAT, например, феромоны [Wu et al., 2011].

Гипотеза дистанционного опознавания и сигнализации предполагает широкое участие транспортеров семейства SLC22 в регуляции различных метаболических путей. Семейство SLC поддерживает баланс между множественными метаболитами, разделенными эпителием отдельных органов. Главная функция транспортеров – перенос эндогенных метаболитов и токсинов, распределение и поддержание эффективных концентраций нутриентов и антиоксидантов в органах. В результате постоянного прессинга окружающей среды на организм через нутриенты, токсины, взаимодействие с другими организмами происходят перманентные флуктуации гомеостаза метаболических процессов на клеточном и органном уровне в границах толерантности к тому или иному

воздействию, и эти сдвиги нивелируются сетью транспортеров со сходными субстратными предпочтениями через транспорт, опознавание и сигнализацию [Wu et al., 2011].

По-прежнему ряд вопросов в рамках гипотезы участия транспортеров в дистанционном опознавании и сигнализации остаются нерешенными. Во-первых, неизвестны природа механизма опознавания и то, как осуществляется обмен информацией между транспортерами, расположенными рядом и удаленно друг от друга. Во-вторых, неясно, как осуществляется эта регуляция – на уровне белков-транспортеров или на эпигенетическом уровне, либо та и другая стратегии задействованы одновременно. Наиболее подробную информацию и описание гипотезы дистанционного опознавания и сигнализации (remote sensing and signaling hypothesis), которая сформировалась на рубеже 2006–2011 годов, можно найти в серии работ [Kaler et al., 2006, 2007; Wu et al., 2011; Nigam et al., 2015].

Заключение

Достаточно большой массив проведенных исследований однозначно указывает на важную роль транспортеров семейства SLC в осуществлении взаимосвязи между метаболическими процессами, передаче сигнала, преобразовании разного рода эндогенных метаболитов, лекарств и токсинов и даже в коммуникации особей между собой. Однако многие вопросы о механизмах работы транспортеров OAT остаются пока нерешенными. Список исследованных видов животных на предмет выявления у них OAT и изучения их свойств остается весьма незначительным и ограничен главным образом человеком и лабораторными животными. Поэтому стоит еще раз подчеркнуть, что необходимо продолжать исследования в области молекулярной, клеточной, структурной и органной биологии отдельных сочленов семейства SLC22.

Работа осуществлялась при поддержке средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0033) и Программы Президиума РАН № 21 «Биоразнообразие природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга», проект № 0221-2015-0003.

Литература

Ahn S. Y., Nigam S. K. Toward a systems level understanding of organic anion and other multispecific

drug transporters: a remote sensing and signaling hypothesis // *Mol Pharmacol*. 2009. Vol. 76. P. 481–490. doi: 10.1124/mol.109.056564

Ahn S. Y., Eraly S. A., Tsigelny I., Nigam S. K. Interaction of organic cations with organic anion transporters // *J. Biol. Chem*. 2009. Vol. 284. P. 31422–31430. doi: 10.1074/jbc.M109.024489.

Anderson C. M., Thwaites D. T. Hijacking solute carriers for proton-coupled drug transport // *Physiology*. 2010. Vol. 25. P. 364–377.

Anzai N., Jutabha P., Enomoto A., Yokoyama H., Nonoguchi H., Hirata T., Shiraya K., He X., Cha S. H., Takeda M., Miyazaki H., Sakata T., Tomita K., Igarashi T., Kanai Y., Endou H. Functional characterization of rat organic anion transporter 5 (Slc22a19) at the apical membrane of renal proximal tubules // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2005. Vol. 315. P. 534–544. doi: 10.1124/jpet.105.088583

Asif A. R., Steffgen J., Metten M., Grunewald R. W., Muller G. A., Bahn A., Burckhardt G., Hagos Y. Presence of organic anion transporters 3 (OAT3) and 4 (OAT4) in human adrenocortical cells // *Pflugers Archiv*. 2005. Vol. 450. P. 88–95. doi: 10.1007/s00424-004-1373-3

Aslamkhan A., Han Y. H., Walden R., Sweet D. H., Pritchard J. B. Stoichiometry of organic anion/dicarboxylate exchange in membrane vesicles from rat renal cortex and hOAT1-expressing cells // *Am. J. Physiol. Renal Physiology*. 2003. Vol. 285. P. 775–783. doi: 10.1152/ajprenal.00140.2003

Astorga B., Wunz T. M., Morales M., Wright S. H., Pelis R. M. Differences in the substrate binding regions of renal organic anion transporters 1 (OAT1) and 3 (OAT3) // *Am. J. Physiol. Renal Physiology*. 2011. Vol. 301. P. 378–386. doi: 10.1152/ajprenal.00735.2010

Bahn A., Hagos Y., Reuter S., Balen D., Brzica H., Krick W., Burckhardt B. C., Sabolic I., Burckhardt G. Identification of a new urate and high affinity nicotinate transporter, hOAT10 (SLC22A13) // *J. Biol. Chem*. 2008. Vol. 283. P. 16332–16341. doi: 10.1074/jbc.M800737200

Bates L. A., Sayialel K. N., Njiraini N. W., Poole J. H., Moss C. J., Byrne R. W. African elephants have expectations about the locations of out-of-sight family members // *Biol. Lett*. 2008. Vol. 4. P. 34–36. doi: 10.1098/rsbl.2007.0529

Berthelot C., Brunet F., Chalopin D., Juanchich A., Bernard M., Noël B., Bento P., Da Silva C., Labadie K., Alberti A., Aury J. M., Louis A., Dehais P., Bardou P., Montfort J., Klopp C., Cabau C., Gaspin C., Thorgaard G. H., Boussaha M., Quillet E., Guyomard R., Galiana D., Bobe J., Volff J. N., Genet C., Wincker P., Jaillon O., Roest Crollius H., Guiguen Y. The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole genome duplication in vertebrates // *Nat Commun*. 2014. Vol. 5. P. 36–57. doi: 10.1038/ncomms4657

Brzica H., Breljak D., Ljubojevic M., Balen D., Micek V., Anzai N. *et al*. Optimal methods of antigen retrieval for organic anion transporters in cryosections of the rat kidney // *Arhiv za Higijenu Rada I Toksikologiju*. 2009. Vol. 60. P. 7–17.

Burckhardt G. Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs) // *Pharmacology & Therapeutics*. 2012. Vol. 136. P. 106–130. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.07.010

Burckhardt B. C., Wolff N. A., Burckhardt G. Electrophysiologic characterization of an organic anion transporter cloned from winter flounder kidney (fROAT) // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*. 2000. Vol. 11. P. 9–17.

Cha S. H., Sekine T., Kusuvara H., Yu E., Kim J. Y., Kim D. K., Sugiyama Y., Kanai Y., Endou H. Molecular cloning and characterization of multispecific organic anion transporter 4 expressed in the placenta // *J. Biol. Chem*. 2000. Vol. 275. P. 4507–4512.

Cha S. H., Sekine T., Fukushima J. I., Kanai Y., Kobayashi Y., Goya T., Endou H. Identification and characterization of human organic anion transporter 3 expressing predominantly in the kidney // *Molecular Pharmacology*. 2001. Vol. 59. P. 1277–1286.

Chang A. B., Lin R., Studley W. K., Tran C. V., Saier M. H. Jr. Phylogeny as a guide to structure and function of membrane transport proteins (Review) // *Mol. Membr. Biol*. 2004. Vol. 21. P. 171–181. doi: 10.1080/09687680410001720830

Ekaratanawong S., Anzai N., Jutabha P., Miyazaki H., Noshiro R., Takeda M., Kanai Y., Sophasan S., Endou H. Human organic anion transporter 4 is a renal apical organic anion / dicarboxylate exchanger in the proximal tubules // *J. Pharmacol. Sci*. 2004. Vol. 94. P. 297–304.

Enomoto A., Takeda M., Shimoda M., Narikawa S., Kobayashi Y., Kobayashi Y., Yamamoto T., Sekine T., Cha S. H., Niwa T., Endou H. Interaction of human organic anion transporters 2 and 4 with organic anion transport inhibitors // *J. Pharmacol. and Experimental Therapeutics*. 2002. Vol. 301. P. 797–802.

Eraly S. A., Hamilton B. A., Nigam S. K. Organic anion and cation transporters occur in pairs of similar and similarly expressed genes // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2003. Vol. 300. P. 333–342.

Eraly S. A., Vallon V., Rieg T., Gangoiti J. A., Wikoff W. R., Siuzdak G., Barshop B. A., Nigam S. K. Multiple organic anion transporters contribute to net renal excretion of uric acid // *Physiol. Genomics*. 2008. Vol. 33. P. 180–192. doi: 10.1152/physiolgenomics.00207.2007

Hagos Y., Stein D., Ugele B., Burckhardt G., Bahn A. Human renal organic anion transporter 4 operates as an asymmetric urate transporter // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*. 2007. Vol. 18. P. 430–439. doi: 10.1681/ASN.2006040415

Hosoyamada M., Sekine T., Kanai Y., Endou H. Molecular cloning and functional expression of a multispecific organic anion transporter from human kidney // *Am. J. Physiol*. 1999. Vol. 276. P. 122–128.

Hosoyamada M., Takiue Y., Morisaki H., Cheng J., Ikawa M., Okabe M., Morisaki T., Ichida K., Hosoya T., Shibasaki T. Establishment and analysis of SLC22A12 (URAT1) knockout mouse // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2010. Vol. 29. P. 314–320. doi: 10.1080/15257771003738634

Howe K., Clark M. D., Torroja C. F., Torrance J., Berthelot C., Muffato M., Collins J. E., Humphray S., McLaren K. *et al*. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome // *Nature*. 2013. Vol. 496. P. 498–503. doi: 10.1038/nature12111

- Hung A. Y., Sheng M. PDZ domains: structural modules for protein complex assembly // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 5699–5702. doi: 10.1074/jbc.R100065200
- Jacobsson J. A., Haitina T., Lindblom J., Fredriksson R. Identification of six putative human transporters with structural similarity to the drug transporter SLC22 family // *Genomics.* 2007. Vol. 90. P. 595–609. doi: 10.1016/j.ygeno.2007.03.017
- Kaler G., Truong D. M., Sweeney D. E., Logan D. W., Nagle M., Wu W., Eraly S. A., Nigam S. K. Olfactory mucosa-expressed organic anion transporter, Oat6, manifests high affinity interactions with odorant organic anions // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 351. P. 872–876. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.10.136
- Kaler G., Truong D. M., Khandelwal A., Nagle M., Eraly S. A., Swaan P. W., Nigam S. K. Structural variation governs substrate specificity for organic anion transporter (OAT) homologs. Potential remote sensing by OAT family members // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 23841–23853. doi: 10.1074/jbc.M703467200
- Kim E., Sheng M. PDZ domain proteins of synapses // *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. Vol. 5. P. 771–781. doi: 10.1038/nrn1517
- Klein K., Jungst C., Mwinyi J., Stieger B., Krempler F., Patsch W., Eloranta J. J., Kullak-Ublick G. A. The human organic anion transporter genes OAT5 and OAT7 are transactivated by hepatocyte nuclear factor-1 alpha (HNF-1 alpha) // *Mol. Pharm.* 2010. Vol. 78. P. 1079–1087. doi: 10.1124/mol.110.065201
- Kobayashi Y., Ohshiro N., Sakai R., Ohbayashi M., Kohyama N., Yamamoto T. Transport mechanism and substrate specificity of human organic anion transporter 2 (hOat2 [SLC22A7]) // *J. of Pharmacy and Pharmacology.* 2005. Vol. 57. P. 573–578. doi: 10.1211/0022357055966
- Koepsell H., Endou H. The SLC22 drug transporter family // *Pflugers Arch – Eur. J. Physiol.* 2004. Vol. 447. P. 666–676. doi: 10.1007/s00424-003-1089-9
- Lee K. L., Jung S. M., Kwak J. O., Cha S. H. Introduction of organic anion transporters (SLC22A) and a regulatory mechanism by caveolins // *Electrolyte Blood Press.* 2006. Vol. 4. P. 8–17. doi: 10.5049/EBP.2006.4.1.8
- Martovetsky G., Tee J. B., Nigam S. K. Hepatocyte nuclear factors 4α and 1α (Hnf4α and Hnf1α) regulate kidney developmental expression of drug-metabolizing enzymes and drug transporters // *Mol. Pharmacol.* 2013. Vol. 84. P. 808–823. doi: 10.1124/mol.113.088229
- Mihaljevic I., Popovic M., Zaja R., Smital T. Phylogenetic, syntenic, and tissue expression analysis of slc22 genes in zebrafish (*Danio rerio*) // *BMC Genomics.* 2016. Vol. 17. P. 626–639.
- Miyazaki H., Anzai N., Ekaratanawong S., Sakata T., Shin H. J., Jutabha P., Hirata T., He X., Nonoguchi H., Tomita K., Kanai Y., Endou H. Modulation of renal apical organic anion transporter 4 function by two PDZ domain containing proteins // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2005. Vol. 16. P. 3498–3506. doi: 10.1681/ASN.2005030306
- Monte J. C., Nagle M. A., Eraly S. A., Nigam S. K. Identification of a novel murine organic anion transporter family member, OAT6, expressed in olfactory mucosa // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 323. P. 429–436. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.08.112
- Mori K., Ogawa Y., Ebihara K., Aoki T., Tamura N., Sugawara A., Kuwahara T., Ozaki S., Mukoyama M., Tashiro K., Tanaka I., Nakao K. Kidney-specific expression of a novel mouse organic cation transporter-like protein // *FEBS Lett.* 1997. Vol. 417. P. 371–374.
- Motohashi H., Sakurai Y., Saito H., Masuda S., Urakami Y., Goto M., Fukatsu A., Ogawa O., Inui K. Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2002. Vol. 13. P. 866–874.
- Nigam S. K., Bush K. T., Bhatnagar V. Drug and toxicant handling by the OAT organic anion transporters in the kidney and other tissues // *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 2007. Vol. 3. P. 443–448. doi: 10.1038/ncpneph0558
- Nigam S. K., Bush K. T., Martovetsky G., Ahn S.-Y., Liu H. C., Richard E., Bhatnagar V., Wu W. The organic anion transporter (OAT) family: a systems biology perspective // *Physiol. Rev.* 2015. Vol. 95. P. 83–123. doi: 10.1152/physrev.00025.2013
- Nishiwaki T., Daigo Y., Tamari M., Fujii Y., Nakamura Y. Molecular cloning, mapping, and characterization of two novel human genes, ORCTL3 and ORCTL4, bearing homology to organic-cation transporters // *Cytogenet. Cell. Genet.* 1998. Vol. 83. P. 251–255. doi: 10.1159/000015197
- Pelis R. M., Wright S. H. SLC22, SLC44, and SLC47 Transporters – Organic Anion and Cation Transporters: Molecular and Cellular Properties // *Current Topics in Membranes.* 2014. Vol. 73. P. 233–261. doi: 10.1016/B978-0-12-800223-0.00006-2
- Perry J. L., Dembla-Rajpal N., Hall L. A., Pritchard J. B. A three-dimensional model of human organic anion transporter 1: Aromatic amino acids required for substrate transport // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. P. 38071–38079. doi: 10.1074/jbc.M608834200
- Reddy V. S., Shlykov M. A., Castillo R., Sun E. I., Saier M. H. Jr. The major facilitator superfamily (MFS) revised // *The FEBS Journal.* 2012. Vol. 279. P. 2022–2035. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08588.x
- Rizwan A. N., Burckhardt G. Organic anion transporters of the SLC22 family: biopharmaceutical, physiological, and pathological roles // *Pharm. Res.* 2007. Vol. 24. P. 450–470. doi: 10.1007/s11095-006-9181-4
- Rizwan A. N., Krick W., Burckhardt G. The chloride dependence of the human organic anion transporter 1 (hOAT1) is blunted by mutation of a single amino acid // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 13402–13409. doi: 10.1074/jbc.M609849200
- Saier M. H. Jr., Beatty J. T., Goffeau A., Harley K. T., Heijne W. H. M., Huang S.-C., Jack D. L., Jahn P. S., Lew K., Liu J., Pao S. S., Paulsen I. T., Tseng T.-T., Virk P. S. The major facilitator superfamily // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 1999. Vol. 1. P. 257–279.
- Saier M. H. Jr., Reddy V. S., Tamang D. G., Vastermark A. The transporter classification database // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. P. 251–258. doi: 10.1093/nar/gkt1097
- Sato M., Mamada H., Anzai N., Shirasaka Y., Nakanishi T., Tamai I. Renal Secretion of Uric Acid by Organic Anion Transporter 2 (OAT2/SLC22A7) in Human // *Biol. Pharm. Bull.* 2010. Vol. 33. P. 498–503.
- Schnabolk G. W., Youngblood G. L., Sweet D. H. Transport of estrone sulfate by the novel organic

- anion transporter Oat6 (Slc22a20) // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006. Vol. 291. P. 314–321. doi: 10.1152/ajprenal.00497.2005
- Schnabolk G. W., Gupta B., Mulgaonkar A., Kulkarni M., Sweet D. H. Organic anion transporter6 (Slc22a20) specificity and Sertoli cell-specific expression provide new insight on potential endogenous roles // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2010. Vol. 334. P. 927–935. doi: 10.1124/jpet.110.168765
- Shen H., Liu T., Morse B. L., Zhao Y., Zhang Y., Qiu X., Chen C., Lewin A. C., Tang X. T., Liu G., Christopher L. J., Marathe P., Lai Y. Characterization of organic anion transporter 2 (SLC22A7): a highly efficient transporter for creatinine and species-dependent renal tubular expression // *Drug Metab Dispos.* 2015. Vol. 43. P. 984–993. doi: 10.1124/dmd.114.062364
- Sherborne A. L., Thom M. D., Paterson S., Jury F., Ollier W. E., Stockley P., Beynon R. J., Hurst J. L. The genetic basis of inbreeding avoidance in house mice // *Curr Biol.* 2007. Vol. 17. P. 2061–2066. doi: 10.1016/j.cub.2007.10.041
- Simonson G. D., Vincent A. C., Roberg K. J., Huang Y., Iwanij V. Molecular cloning and characterization of a novel liver-specific transport protein // *J. of Cell Science.* 1994. Vol. 107. P. 3–72.
- Srimaroeng C., Perry J. L., Pritchard J. B. Physiology, structure, and regulation of the cloned organic anion transporters // *Xenobiotica.* 2008. Vol. 38. P. 889–935. doi: 10.1080/00498250801927435
- Sun W., Wu R. R., van Poelje P. D., Erion M. D. Isolation of a family of organic anion transporters from human liver and kidney // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. Vol. 283. P. 417–422. doi: 10.1006/bbrc.2001.4774
- Sweet D. H., Chan L. M., Walden R., Yang X. P., Miller D. S., Pritchard J. B. Organic anion transporter 3 [Slc22a8] is a dicarboxylate exchanger indirectly coupled to the Na⁺ gradient // *Am. J. Physiol. Renal Physiology.* 2003. Vol. 284. P. 763–769. doi: 10.1152/ajprenal.00405.2002
- Tanaka K., Xu W., Zhou F., You G. Role of glycosylation in the organic anion transporter OAT1 // *J. Biol. Chem.* 2004a. Vol. 279. P. 14961–14966. doi: 10.1074/jbc.M400197200
- Tanaka K., Zhou F., Kuze K., You G. Cysteine residues in the organic anion transporter mOAT1 // *Biochem. J.* 2004b. Vol. 380. P. 283–287. doi: 10.1042/BJ20031724
- Thiebaud N., Menetrier F., Belloir C., Minn A. L., Neiers F., Artur Y., Le Bon A. M., Heydel J. M. Expression and differential localization of xenobiotic transporters in the rat olfactory neuro-epithelium // *Neurosci. Lett.* 2011. Vol. 505. P. 180–185. doi: 10.1016/j.neulet.2011.10.018
- Tsuchida H., Anzai N., Shin H. J., Wempe M. F., Jutabha P., Enomoto A., Cha S. H., Satoh T., Ishida M., Sakurai H., Endou H. Identification of a novel organic anion transporter mediating carnitine transport in mouse liver and kidney // *Cell Physiol. Biochem.* 2010. Vol. 25. P. 511–522. doi: 10.1159/000303060
- Yokoyama H., Anzai N., Ljubojevic M., Ohtsu N., Sakata T., Miyazaki H., Nonoguchi H., Islam R., Onozato M., Tojo A., Tomita K., Kanai Y., Igarashi T., Sabolic I., Endou H. Functional and immunochemical characterization of a novel organic anion transporter Oat8 (Slc22a9) in rat renal collecting duct // *Cell Physiol. Biochem.* 2008. Vol. 21. P. 269–278. doi: 10.1159/000129385
- Youngblood G. L., Sweet D. H. Identification and functional assessment of the novel murine organic anion transporter Oat5 (Slc22a19) expressed in kidney // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2004. Vol. 287. P. 236–244. doi: 10.1152/ajprenal.00012.2004
- Vallon V., Eraly S. A., Wikoff W. R., Rieg T., Kaler G., Truong D. M., Ahn S. Y., Mahapatra N. R., Mahata S. K., Gangoiti J. A., Wu W., Barshop B. A., Siuzdak G., Nigam S. K. Organic anion transporter 3 contributes to the regulation of blood pressure // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 19. P. 1732–1740. doi: 10.1681/ASN.2008020180
- Vallon V., Eraly S. A., Rao S. R., Gerasimova M., Rose M., Nagle M., Anzai N., Smith T., Sharma K., Nigam S. K., Rieg T. A role for the organic anion transporter OAT3 in renal creatinine secretion in mice // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2012. Vol. 302. P. 1293–1299. doi: 10.1152/ajprenal.00013.2012
- Van Wert A. L., Gionfriddo M. R., Sweet D. H. Organic anion transporters: discovery, pharmacology, regulation and roles in pathophysiology // *Biopharm. Drug Dispos.* 2010. Vol. 31. P. 1–71. doi: 10.1002/bdd.693
- Willse A., Belcher A. M., Preti G., Wahl J. H., Thresher M., Yang P., Yamazaki K., Beauchamp G. K. Identification of major histocompatibility complex regulated body odorants by statistical analysis of a comparative gas chromatography/mass spectrometry experiment // *Anal. Chem.* 2005. Vol. 77. P. 2348–2361. doi: 10.1021/ac048711t
- Wikoff W. R., Nagle M. A., Kouznetsova V. L., Tsigelny I. F., Nigam S. K. Untargeted metabolomics identifies enterobiome metabolites and putative uremic toxins as substrates of organic anion transporter 1 (Oat1) // *J. Proteome Res.* 2011. Vol. 10. P. 2842–2851. doi: 10.1021/pr200093w
- Wu W., Baker M. E., Eraly S. A., Bush K. T., Nigam S. K. Analysis of a large cluster of SLC22 transporter genes, including novel USTs, reveals species-specific amplification of subsets of family members // *Physiol. Genomics.* 2009. Vol. 38. P. 116–124. doi: 10.1152/physiolgenomics.90309.2008
- Wu W., Dnyanmote A. V., Nigam S. K. Remote communication through solute carriers and ATP binding cassette drug transporter pathways: an update on the remote sensing and signaling hypothesis // *Mol. Pharmacol.* 2011. Vol. 79. P. 795–805. doi: 10.1124/mol.110.070607
- Wu W., Jamshidi N., Eraly S. A., Liu H. C., Bush K. T., Palsson B. O., Nigam S. K. Multispecific drug transporter slc22a8 (oat3) regulates multiple metabolic and signaling pathways // *Drug. Metab. Dispos.* 2013. Vol. 41. P. 1825–1834. doi: 10.1124/dmd.113.052647
- Ye F., Zhang M. Structures and target recognition modes of PDZ domains: recurring themes and emerging pictures // *Biochem. J.* 2013. Vol. 455. P. 1–14. doi: 10.1042/BJ20130783
- Zhou F., Xu W., Hong M., Pan Z., Sinko P. J., Ma J., You G. The role of N-linked glycosylation in protein folding, membrane targeting, and substrate binding of human organic anion transporter hOAT4 // *Molecular*

Pharmacology. 2005. Vol. 67. P. 868–876. doi: 10.1124/mol.104.007583

Zhu C., Nigam K. B., Date R. C., Bush K. T., Springer S. A., Saier M. H. Jr., Wu W., Nigam S. K. Evolutionary analysis and classification of OATs, OCTs, OCTNs, and other SLC22 transporters: structure-function

implications and analysis of sequence motifs // PLOS ONE. 2015. Vol. 10 (11). e0140569. doi: 10.1371/journal.pone.0140569

Поступила в редакцию 07.04.2017

References

Ahn S. Y., Nigam S. K. Toward a systems level understanding of organic anion and other multispecific drug transporters: a remote sensing and signaling hypothesis. *Mol. Pharmacol.* 2009. Vol. 76. P. 481–490. doi: 10.1124/mol.109.056564

Ahn S. Y., Eraly S. A., Tsigelny I., Nigam S. K. Interaction of organic cations with organic anion transporters. *J. Biol. Chem.* 2009. Vol. 284. P. 31422–31430. doi: 10.1074/jbc.M109.024489

Anderson C. M., Thwaites D. T. Hijacking solute carriers for proton-coupled drug transport. *Physiology.* 2010. Vol. 25. P. 364–377.

Anzai N., Jutabha P., Enomoto A., Yokoyama H., Nonoguchi H., Hirata T., Shiraya K., He X., Cha S. H., Takeda M., Miyazaki H., Sakata T., Tomita K., Igarashi T., Kanai Y., Endou H. Functional characterization of rat organic anion transporter 5 (Slc22a19) at the apical membrane of renal proximal tubules. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005. Vol. 315. P. 534–544. doi: 10.1124/jpet.105.088583

Asif A. R., Steffgen J., Metten M., Grunewald R. W., Muller G. A., Bahn A., Burckhardt G., Hagos Y. Presence of organic anion transporters 3 (OAT3) and 4 (OAT4) in human adrenocortical cells. *Pflugers Archiv.* 2005. Vol. 450. P. 88–95. doi: 10.1007/s00424-004-1373-3

Aslamkhan A., Han Y. H., Walden R., Sweet D. H., Pritchard J. B. Stoichiometry of organic anion/dicarboxylate exchange in membrane vesicles from rat renal cortex and hOAT1-expressing cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2003. Vol. 285. P. 775–783. doi: 10.1152/ajprenal.00140.2003

Astorga B., Wunz T. M., Morales M., Wright S. H., Pelis R. M. Differences in the substrate binding regions of renal organic anion transporters 1 (OAT1) and 3 (OAT3). *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2011. Vol. 301. P. 378–386. doi: 10.1152/ajprenal.00735.2010

Bahn A., Hagos Y., Reuter S., Balen D., Brzica H., Krick W., Burckhardt B. C., Sabolic I., Burckhardt G. Identification of a new urate and high affinity nicotinate transporter, hOAT10 (SLC22A13). *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. P. 16332–16341. doi: 10.1074/jbc.M800737200

Bates L. A., Sayialel K. N., Njiraini N. W., Poole J. H., Moss C. J., Byrne R. W. African elephants have expectations about the locations of out-of-sight family members. *Biol. Lett.* 2008. Vol. 4. P. 34–36. doi: 10.1098/rsbl.2007.0529

Berthelot C., Brunet F., Chalopin D., Juanchich A., Bernard M., Noël B., Bento P., Da Silva C., Labadie K., Alberti A., Aury J. M., Louis A., Dehais P., Bardou P., Montfort J., Klopp C., Cabau C., Gaspin C., Thorgaard G. H., Boussaha M., Quillet E., Guyomard R., Galiana D., Bobe J., Volff J. N., Genet C., Wincker P., Jaillon O., Roest Crollius H., Guiguen Y. The rainbow

trout genome provides novel insights into evolution after whole genome duplication in vertebrates. *Nat. Commun.* 2014. Vol. 5. P. 36–57. doi: 10.1038/ncomms4657

Brzica H., Breljak D., Ljubojevic M., Balen D., Micek V., Anzai N. et al. Optimal methods of antigen retrieval for organic anion transporters in cryosections of the rat kidney. *Arhiv za Higijenu Rada I Toksikologiju.* 2009. Vol. 60. P. 7–17.

Burckhardt G. Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs). *Pharmacology & Therapeutics.* 2012. Vol. 136. P. 106–130. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.07.010

Burckhardt B. C., Wolff N. A., Burckhardt G. Electrophysiologic characterization of an organic anion transporter cloned from winter flounder kidney (fROAT). *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2000. Vol. 11. P. 9–17.

Cha S. H., Sekine T., Kusuvara H., Yu E., Kim J. Y., Kim D. K., Sugiyama Y., Kanai Y., Endou H. Molecular cloning and characterization of multispecific organic anion transporter 4 expressed in the placenta. *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 4507–4512.

Cha S. H., Sekine T., Fukushima J. I., Kanai Y., Kobayashi Y., Goya T., Endou H. Identification and characterization of human organic anion transporter 3 expressing predominantly in the kidney. *Molecular Pharmacology.* 2001. Vol. 59. P. 1277–1286.

Chang A. B., Lin R., Studley W. K., Tran C. V., Saier M. H. Jr. Phylogeny as a guide to structure and function of membrane transport proteins (Review). *Mol. Membr. Biol.* 2004. Vol. 21 P. 171–181. doi: 10.1080/09687680410001720830

Ekaratanawong S., Anzai N., Jutabha P., Miyazaki H., Noshiro R., Takeda M., Kanai Y., Sophasan S., Endou H. Human organic anion transporter 4 is a renal apical organic anion/dicarboxylate exchanger in the proximal tubules. *J. Pharmacol. Sci.* 2004. Vol. 94. P. 297–304.

Enomoto A., Takeda M., Shimoda M., Narikawa S., Kobayashi Y., Kobayashi Y., Yamamoto T., Sekine T., Cha S. H., Niwa T., Endou H. Interaction of human organic anion transporters 2 and 4 with organic anion transport inhibitors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2002. Vol. 301. P. 797–802.

Eraly S. A., Hamilton B. A., Nigam S. K. Organic anion and cation transporters occur in pairs of similar and similarly expressed genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 300. P. 333–342.

Eraly S. A., Vallon V., Rieg T., Gangoiti J. A., Wikoff W. R., Siuzdak G., Barshop B. A., Nigam S. K. Multiple organic anion transporters contribute to net renal excretion of uric acid. *Physiol. Genomics.* 2008. Vol. 33. P. 180–192. doi: 10.1152/physiolgenomics.00207.2007

- Hagos Y., Stein D., Ugele B., Burckhardt G., Bahn A. Human renal organic anion transporter 4 operates as an asymmetric urate transporter. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. Vol. 18. P. 430–439. doi: 10.1681/ASN.2006040415
- Hosoyamada M., Sekine T., Kanai Y., Endou H. Molecular cloning and functional expression of a multispecific organic anion transporter from human kidney. *Am. J. Physiol.* 1999. Vol. 276. P. 122–128.
- Hosoyamada M., Takiue Y., Morisaki H., Cheng J., Ikawa M., Okabe M., Morisaki T., Ichida K., Hosoya T., Shibasaki T. Establishment and analysis of SLC22A12 (URAT1) knockout mouse. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2010. Vol. 29. P. 314–320. doi: 10.1080/15257771003738634
- Howe K., Clark M. D., Torroja C. F., Torrance J., Berthelot C., Muffato M., Collins J. E., Humphray S., McLaren K. et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature.* 2013. Vol. 496. P. 498–503. doi: 10.1038/nature12111
- Hung A. Y., Sheng M. PDZ domains: structural modules for protein complex assembly. *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 5699–5702. doi: 10.1074/jbc.R100065200
- Jacobsson J. A., Haitina T., Lindblom J., Fredriksson R. Identification of six putative human transporters with structural similarity to the drug transporter-SLC22 family. *Genomics.* 2007. Vol. 90. P. 595–609. doi: 10.1016/j.ygeno.2007.03.017
- Kaler G., Truong D. M., Sweeney D. E., Logan D. W., Nagle M., Wu W., Eraly S. A., Nigam S. K. Olfactory mucosa-expressed organic anion transporter, Oat6, manifests high affinity interactions with odorant organic anions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 351. P. 872–876. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.10.136
- Kaler G., Truong D. M., Khandelwal A., Nagle M., Eraly S. A., Swaan P. W., Nigam S. K. Structural variation governs substrate specificity for organic anion transporter (OAT) homologs. Potential remote sensing by OAT family members. *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 23841–23853. doi: 10.1074/jbc.M703467200
- Kim E., Sheng M. PDZ domain proteins of synapses. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. Vol. 5. P. 771–781. doi: 10.1038/nrn1517
- Klein K., Jungst C., Mwinyi J., Stieger B., Krempler F., Patsch W., Eloranta J. J., Kullak-Ublick G. A. The human organic anion transporter genes OAT5 and OAT7 are transactivated by hepatocyte nuclear factor-1 alpha (HNF-1 alpha). *Mol. Pharm.* 2010. Vol. 78. P. 1079–1087. doi: 10.1124/mol.110.065201
- Kobayashi Y., Ohshiro N., Sakai R., Ohbayashi M., Kohyama N., Yamamoto T. Transport mechanism and substrate specificity of human organic anion transporter 2 (hOat2 [SLC22A7]). *The Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2005. Vol. 57. P. 573–578. doi: 10.1211/0022357055966
- Koepsell H., Endou H. The SLC22 drug transporter family. *Pflugers Arch – Eur. J. Physiol.* 2004. Vol. 447. P. 666–676. doi: 10.1007/s00424-003-1089-9
- Lee K. L., Jung S. M., Kwak J. O., Cha S. H. Introduction of organic anion transporters (SLC22A) and a regulatory mechanism by caveolins. *Electrolyte Blood Press.* 2006. Vol. 4. P. 8–17. doi: 10.5049/EBP.2006.4.1.8
- Martovetsky G., Tee J. B., Nigam S. K. Hepatocyte nuclear factors 4 α and 1 α (Hnf4 α and Hnf1 α) regulate kidney developmental expression of drug-metabolizing enzymes and drug transporters. *Mol. Pharmacol.* 2013. Vol. 84. P. 808–823. doi: 10.1124/mol.113.088229
- Mihaljevic I., Popovic M., Zaja R., Smital T. Phylogenetic, syntenic, and tissue expression analysis of slc22 genes in zebrafish (*Danio rerio*). *BMC Genomics.* 2016. Vol. 17. P. 626–639.
- Miyazaki H., Anzai N., Ekaratanawong S., Sakata T., Shin H. J., Jutabha P., Hirata T., He X., Nonoguchi H., Tomita K., Kanai Y., Endou H. Modulation of renal apical organic anion transporter 4 function by two PDZ domain containing proteins. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2005. Vol. 16. P. 3498–3506. doi: 10.1681/ASN.2005030306
- Monte J. C., Nagle M. A., Eraly S. A., Nigam S. K. Identification of a novel murine organic anion transporter family member, OAT6, expressed in olfactory mucosa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 323. P. 429–436. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.08.112
- Mori K., Ogawa Y., Ebihara K., Aoki T., Tamura N., Sugawara A., Kuwahara T., Ozaki S., Mukoyama M., Tashiro K., Tanaka I., Nakao K. Kidney-specific expression of a novel mouse organic cation transporter-like protein. *FEBS Lett.* 1997. Vol. 417. P. 371–374.
- Motohashi H., Sakurai Y., Saito H., Masuda S., Urakami Y., Goto M., Fukatsu A., Ogawa O., Inui K. Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002. Vol. 13. P. 866–874.
- Nigam S. K., Bush K. T., Bhatnagar V. Drug and toxicant handling by the OAT organic anion transporters in the kidney and other tissues. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 2007. Vol. 3. P. 443–448. doi: 10.1038/ncpneph0558
- Nigam S. K., Bush K. T., Martovetsky G., Ahn S.-Y., Liu H. C., Richard E., Bhatnagar V., Wu W. The organic anion transporter (OAT) family: a systems biology perspective. *Physiol. Rev.* 2015. Vol. 95. P. 83–123. doi: 10.1152/physrev.00025.2013
- Nishiwaki T., Daigo Y., Tamari M., Fujii Y., Nakamura Y. Molecular cloning, mapping, and characterization of two novel human genes, ORCTL3 and ORCTL4, bearing homology to organic-cation transporters. *Cytogenet. Cell. Genet.* 1998. Vol. 83. P. 251–255. doi: 10.1159/000015197
- Pelis R. M., Wright S. H. SLC22, SLC44, and SLC47 Transporters – Organic Anion and Cation Transporters: Molecular and Cellular Properties. *Current Topics in Membranes.* 2014. Vol. 73. P. 233–261. doi: 10.1016/B978-0-12-800223-0.00006-2
- Perry J. L., Dembla-Rajpal N., Hall L. A., Pritchard J. B. A three-dimensional model of human organic anion transporter 1: Aromatic amino acids required for substrate transport. *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. P. 38071–38079. doi: 10.1074/jbc.M608834200
- Reddy V. S., Shlykov M. A., Castillo R., Sun E. I., Saier M. H. Jr. The major facilitator superfamily (MFS) revised. *The FEBS Journal.* 2012. Vol. 279. P. 2022–2035. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08588.x
- Rizwan A. N., Burckhardt G. Organic anion transporters of the SLC22 family: biopharmaceutical, phy-

- siological, and pathological roles. *Pharm. Res.* 2007. Vol. 24. P. 450–70. doi: 10.1007/s11095-006-9181-4
- Rizwan A. N., Krick W., Burckhardt G. The chloride dependence of the human organic anion transporter 1 (hOAT1) is blunted by mutation of a single amino acid. *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 13402–13409. doi: 10.1074/jbc.M609849200
- Saier M. H. Jr., Beatty J. T., Goffeau A., Harley K. T., Heijne W. H. M., Huang S.-C., Jack D. L., Jahn P. S., Lew K., Liu J., Pao S. S., Paulsen I. T., Tseng T.-T., Virk P. S. The major facilitator superfamily. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 1999. Vol. 1. P. 257–279.
- Saier M. H. Jr, Reddy V. S., Tamang D. G., Vastermark A. The transporter classification database. *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. P. 251–258. doi: 10.1093/nar/gkt1097
- Sato M., Mamada H., Anzai N., Shirasaka Y., Nakanishi T., Tamai I. Renal Secretion of Uric Acid by Organic Anion Transporter 2 (OAT2/SLC22A7) in Human. *Biol. Pharm. Bull.* 2010. Vol. 33. P. 498–503.
- Schnabolk G. W., Youngblood G. L., Sweet D. H. Transport of estrone sulfate by the novel organic anion transporter Oat6 (Slc22a20). *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006. Vol. 291. P. 314–321. doi: 10.1152/ajprenal.00497.2005
- Schnabolk G. W., Gupta B., Mulgaonkar A., Kulkarni M., Sweet D. H. Organic anion transporter6 (Slc22a20) specificity and Sertoli cell-specific expression provide new insight on potential endogenous roles. *Pharmac. Ex. Ther.* 2010. Vol. 334. P. 927–935. doi: 10.1124/jpet.110.168765
- Shen H., Liu T., Morse B. L., Zhao Y., Zhang Y., Qiu X., Chen C., Lewin A. C., Tang X. T., Liu G., Christopher L. J., Marathe P., Lai Y. Characterization of organic anion transporter 2 (SLC22A7): a highly efficient transporter for creatinine and species-dependent renal tubular expression. *Drug. Metab. Dispos.* 2015. Vol. 43. P. 984–993. doi: 10.1124/dmd.114.062364
- Sherborne A. L., Thom M. D., Paterson S., Jury F., Ollier W. E., Stockley P., Beynon R. J., Hurst J. L. The genetic basis of inbreeding avoidance in house mice. *Curr. Biol.* 2007. Vol. 17. P. 2061–2066. doi: 10.1016/j.cub.2007.10.041
- Simonson G. D., Vincent A. C., Roberg K. J., Huang Y., Iwanij V. Molecular cloning and characterization of a novel liver-specific transport protein. *J. Cell Sci.* 1994. Vol. 107. P. 3–72.
- Srimaroeng C., Perry J. L., Pritchard J. B. Physiology, structure, and regulation of the cloned organic anion transporters. *Xenobiotica.* 2008. Vol. 38. P. 889–935. doi: 10.1080/00498250801927435
- Sun W., Wu R. R., van Poelje P. D., Erion M. D. Isolation of a family of organic anion transporters from human liver and kidney. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. Vol. 283. P. 417–422. doi: 10.1006/bbrc.2001.4774
- Sweet D. H., Chan L. M., Walden R., Yang X. P., Miller D. S., Pritchard J. B. Organic anion transporter 3 [Slc22a8] is a dicarboxylate exchanger indirectly coupled to the Na⁺ gradient. *Am. J. Physiol. Renal Physiology.* 2003. Vol. 284. P. 763–769. doi: 10.1152/ajprenal.00405.2002
- Tanaka K., Xu W., Zhou F., You G. Role of glycosylation in the organic anion transporter OAT1. *J. Biol. Chem.* 2004a. Vol. 279. P. 14961–14966. doi: 10.1074/jbc.M400197200
- Tanaka K., Zhou F., Kuze K., You G. Cysteine residues in the organic anion transporter mOAT1. *Biochem. J.* 2004b. Vol. 380. P. 283–287. doi: 10.1042/BJ20031724
- Thiebaud N., Menetrier F., Belloir C., Minn A. L., Neiers F., Artur Y., Le Bon A. M., Heydel J. M. Expression and differential localization of xenobiotic transporters in the rat olfactory neuro-epithelium. *Neurosci. Lett.* 2011. Vol. 505. P. 180–185. doi: 10.1016/j.neulet.2011.10.018
- Tsuchida H., Anzai N., Shin H. J., Wempe M. F., Jutabha P., Enomoto A., Cha S. H., Satoh T., Ishida M., Sakurai H., Endou H. Identification of a novel organic anion transporter mediating carnitine transport in mouse liver and kidney. *Cell. Physiol. Biochem.* 2010. Vol. 25. P. 511–522. doi: 10.1159/000303060
- Yokoyama H., Anzai N., Ljubojevic M., Ohtsu N., Sakata T., Miyazaki H., Nonoguchi H., Islam R., Onozato M., Tojo A., Tomita K., Kanai Y., Igarashi T., Sabolic I., Endou H. Functional and immunochemical characterization of a novel organic anion transporter Oat8 (Slc22a9) in rat renal collecting duct. *Cell. Physiol. Biochem.* 2008. Vol. 21. P. 269–278. doi: 10.1159/000129385
- Youngblood G. L., Sweet D. H. Identification and functional assessment of the novel murine organic anion transporter Oat5 (Slc22a19) expressed in kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2004. Vol. 287. P. 236–244. doi: 10.1152/ajprenal.00012.2004
- Vallon V., Eraly S. A., Wikoff W. R., Rieg T., Kaler G., Truong D. M., Ahn S. Y., Mahapatra N. R., Mahata S. K., Gangoiti J. A., Wu W., Barshop B. A., Siuzdak G., Nigam S. K. Organic anion transporter 3 contributes to the regulation of blood pressure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 19. P. 1732–1740. doi: 10.1681/ASN.2008020180
- Vallon V., Eraly S. A., Rao S. R., Gerasimova M., Rose M., Nagle M., Anzai N., Smith T., Sharma K., Nigam S. K., Rieg T. A role for the organic anion transporter OAT3 in renal creatinine secretion in mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2012. Vol. 302. P. 1293–1299. doi: 10.1152/ajprenal.00013.2012
- VanWert A. L., Gionfriddo M. R., Sweet D. H. Organic anion transporters: discovery, pharmacology, regulation and roles in pathophysiology. *Biopharm. Drug. Dispos.* 2010. Vol. 31. P. 1–71. doi: 10.1002/bdd.693
- Willse A., Belcher A. M., Preti G., Wahl J. H., Thresher M., Yang P., Yamazaki K., Beauchamp G. K. Identification of major histocompatibility complex regulated body odorants by statistical analysis of a comparative gas chromatography/mass spectrometry experiment. *Anal. Chem.* 2005. Vol. 77. P. 2348–2361. doi: 10.1021/ac048711t
- Wikoff W. R., Nagle M. A., Kouznetsova V. L., Tsigelny I. F., Nigam S. K. Untargeted metabolomic-identifies enterobiome metabolites and putative uremic toxins as substrates of organic anion transporter 1 (Oat1). *J. Proteome Res.* 2011. Vol. 10. P. 2842–2851. doi: 10.1021/pr200093w
- Wu W., Baker M. E., Eraly S. A., Bush K. T., Nigam S. K. Analysis of a large cluster of SLC22 transporter genes, including novel USTs, reveals species-specific

amplification of subsets of family members. *Physiol. Genomics*. 2009. Vol. 38. P. 116–124. doi: 10.1152/physiolgenomics.90309.2008

Wu W., Dnyanmote A. V., Nigam S. K. Remote communication through solute carriers and ATP binding cassette drug transporter pathways: an update on the remote sensing and signaling hypothesis. *Mol. Pharmacol.* 2011. Vol. 79. P. 795–805. doi: 10.1124/mol.110.070607

Wu W., Jamshidi N., Eraly S. A., Liu H. C., Bush K. T., Palsson B. O., Nigam S. K. Multispecific drug transporter slc22a8 (oat3) regulates multiple metabolic and signaling pathways. *Drug. Metab. Dispos.* 2013. Vol. 41. P. 1825–1834. doi: 10.1124/dmd.113.052647

Ye F., Zhang M. Structures and target recognition modes of PDZ domains: recurring themes and

emerging pictures. *Biochem. J.* 2013. Vol. 455. P. 1–14. doi: 10.1042/BJ20130783

Zhou F., Xu W., Hong M., Pan Z., Sinko P. J., Ma J., You G. The role of N-linked glycosylation in protein folding, membrane targeting, and substrate binding of human organic anion transporter hOAT4. *Mol. Pharmacol.* 2005. Vol. 67. P. 868–876. doi: 10.1124/mol.104.007583

Zhu C., Nigam K. B., Date R. C., Bush K. T., Springer S. A., Saier M. H. Jr., Wu W., Nigam S. K. Evolutionary analysis and classification of OATs, OCTs, OCTNs, and other SLC22 transporters: structure-function implications and analysis of sequence motifs. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10 (11). e0140569. doi: 10.1371/journal.pone.0140569

Received April 07, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: levps@rambler.ru
тел.: +79212263211

Суховская Ирина Викторовна

старший научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sukhovskaya@inbox.ru
тел.: 89052996049

Борвинская Екатерина Витальевна

научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: katsu@inbox.ru
тел.: (8142) 769810

CONTRIBUTORS:

Smirnov, Lev

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

Sukhovskaya, Irina

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

Borvinskaya, Ekaterina

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

УДК 57.053: 577.112.7: 577.112.8

2. ТРАНСПОРТЕРЫ ОРГАНИЧЕСКИХ АНИОНОВ (ОАТР). СВОЙСТВА, СТРУКТУРА, УЧАСТИЕ В ПРОЦЕССАХ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ У ЖИВОТНЫХ (ОБЗОР)

Л. П. Смирнов, И. В. Суховская, Е. В. Борвинская

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

ОАТР (organic anion transporting polypeptides) представляют собой транспортеры органических анионов. Они входят в состав Na-независимой транспортной системы и при физиологических значениях pH осуществляют перенос через плазматические мембраны различных органов и тканей эукариотических организмов большого числа как эндогенных (желчные кислоты, эйкозаноиды, стероидные и тиреоидные гормоны и др.), так и экзогенных (анионные олигопептиды, органические красители, различные токсины, лекарственные препараты и др.) амфифильных органических анионов с молекулярными массами больше 350 Da. Эти транспортеры являются неотъемлемой частью системы биотрансформации ксенобиотиков и играют важную роль в ее функционировании через тесную взаимосвязь с ферментами I и II фаз обезвреживания ксенобиотиков, которая может осуществляться через изменение метаболических путей за счет одновременного изменения активности ферментов и транспортеров. Препараты, мишенями которых являются ферменты фаз I и II, зачастую могут быть субстратами или ингибиторами транспортеров. В настоящее время расшифровано полностью или частично строение около 300 полипептидов из почти 40 видов животных. На основании сходства по аминокислотной последовательности белки разделяются на семейства (до 40 % идентичности) и подсемейства (до 60 % сходства). Филогения ОАТР4В1 указывает на очень близкие эволюционные дистанции по этому белку между млекопитающими и другими видами. Транспортеры подсемейства ОАТР1С считаются эволюционно наиболее древними, поскольку обнаружены у всех исследованных видов. У растений, дрожжей и бактерий гомологи ОАТР не найдены.

Ключевые слова: ОАТР; функция; взаимосвязь ОАТР и ферментов биотрансформации.

L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya, E. V. Borvinskaya. 2. ORGANIC ANION TRANSPORTERS OF THE SLCO FAMILY. PROPERTIES, STRUCTURE, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION SYSTEM IN ANIMALS (A REVIEW)

Organic anion transporter proteins (OATP) are members of the Na-independent transport system that at physiological values of pH transport substantial amounts of both endogenous (bile acids, eicosanoids, steroid and thyroid hormones, etc.) and exogenous (anionic oligopeptides, organic dyes, various toxins, drugs, etc.) amphiphilic organic anions with molecular masses greater than 350 Da through plasma membranes. These transporters are essential for the xenobiotic transformation system and contribute greatly to its

functioning through a tight interrelation with the enzymes of phases I and II of xenobiotic detoxification, which can be performed through alteration of metabolic pathways due to simultaneous modification of the activity of enzymes and transporters. The drugs targeting the enzymes of phases I and II can often act as substrates or inhibitors for the transporters. At present, the structure of around 300 polypeptides from nearly 40 animal species has been decoded either completely or partially. Based on the similarity of the amino acid sequence proteins are grouped into families (up to 40 % similarity) and subfamilies (up to 60 % similarity). The phylogeny of OATP4B1 indicates that this protein has a very close evolutionary distance between mammals and other species. Being found in all investigated species, transporters of the subfamily OATP1C are considered the most evolutionarily ancient. No OATP homologues have been found in plants, yeasts and bacteria.

Key words: OATP; function; interplay of OATP and biotransformation enzymes.

Введение

SLC (solute carrier, «переносчики органических электролитов») – это сотни белков-транспортёров, объединённых в суперсемейства и обеспечивающих перенос через плазматические мембраны разнообразных небольших молекул с разным уровнем гидрофильности и липофильности без использования гидролиза АТФ [Hediger et al., 2004]. Из них самым большим является суперсемейство вторичных переносчиков MFS (Major Facilitator Superfamily), содержащее более 74 семейств [Reddy et al., 2012].

Краткий обзор современного состояния исследований такой группы транспортёров, как анионообменники семейства SLC22, был дан нами ранее [Смирнов и др., 2017]. Кроме них в группе MFS также выделяют родственные по функциональным возможностям транспортёры органических анионов семейства OATP [Reddy et al., 2012]. OATP (organic anion transporting polypeptide) являются сочленами Na-независимой транспортной системы и при физиологических значениях pH осуществляют перенос через плазматические мембраны большого числа как эндогенных, так и экзогенных амфифильных органических анионов с молекулярными массами больше 350 Da [Roth et al., 2012]. Они, в частности, могут переносить билирубин и различные лекарственные средства, такие как статины, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, блокаторы рецепторов ангиотензина, антигистаминные, гипотензивные и противораковые препараты [Hagenbuch, Stieger, 2013]. Эти транспортёры экспрессируются в различных эпителиальных клетках [Hagenbuch, Gui, 2008] и являются главными участниками перераспределения и элиминации разного рода ксенобиотиков от лекарственных препаратов до токсинов [Stieger, Hagenbuch, 2014]. Более подробная информация о субстратах, транспортируемых OATP внутри

клетки, представлена в ряде обзоров [Hagenbuch, Gui, 2008; Kusuvara, Sugiyama, 2009; König, 2011; Hagenbuch, Stieger, 2013; Shitara et al., 2013].

В настоящей работе дан обзор современных исследований по таксономии и номенклатуре, структуре OATP, функции, участия OATP в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков. Представлены данные по всем OATP, обнаруженным у животных к настоящему времени.

Таксономия и номенклатура OATP

Таксономия OATP основана на сходстве аминокислотных последовательностей белков. Если сходство превышает 40 %, то белки группируют в семейство, например, OATP1, которое состоит из подсемейств, сходство сочленов в которых превышает 60 % [Hagenbuch, Meier, 2004]. Внутри подсемейств отдельные OATP нумеруются в соответствии с хронологией их идентификации, например, OATP1A, OATP1B, OATP1C. Если ортологи уже имеются в базах данных, то вновь открываемые транспортёры получают ту же нумерацию. Однако пороговое значение сходства 40 % и 60 % для отнесения белка к той или иной группе не является окончательным, поскольку, например, oatp1a2 из шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* имеет только 48 % сходства по аминокислотной последовательности с OATP1A2 человека, хотя анализ филогении этого полипептида показал, что он является ортологом OATP1A2 и не относится к подсемействам 1B или 1C [Hagenbuch, Meier, 2004].

Номенклатуру OATP нельзя признать до конца устоявшейся из-за различий в применении аббревиатур транспортёров, выделенных из разных видов, разными авторами. Например, в работе [Steiner et al., 2016] заглавными буквами обозначаются OATP человека и млекопитающих, а строчными – OATP рыб. Хагенбах

Таблица 1. Характеристика OATP человека [по: König, 2011]

Название белка	Обозначение гена	Идентификационный номер по базе данных NCBI и SLC (www.ncbi.nlm.nih.gov) (www.bioparadigms.org/slc)	Локализация на хромосомах	Число аминокислот в цепи
OATP1A2	<i>SLCO1A2</i>	NM_021094	12p12	670
OATP1B1	<i>SLCO1B1</i>	NM_006446	12p	691
OATP1B3	<i>SLCO1B3</i>	NM_019844	12p12	702
OATP1C1	<i>SLCO1C1</i>	NM_017435	12p12.2	712
OATP2A1	<i>SLCO2A1</i>	NM_005630	3q21	643
OATP2B1	<i>SLCO2B1</i>	NM_007256	11q13	709
OATP3A1	<i>SLCO3A1</i>	NM_013272	15q26	710
OATP4A1	<i>SLCO4A1</i>	NM_016354	20q13.33	722
OATP4C1	<i>SLCO4C1</i>	NM_180991	5q21.2	724
OATP5A1	<i>SLCO5A1</i>	NM_030958	8q13.3	848?
OATP6A1	<i>SLCO6A1</i>	NM_173488	5q21.1	719

и Стайгер [Hagenbuch, Stieger, 2013] предлагали обозначать заглавными буквами транспортеры человека и грызунов и при этом ссылаются на рекомендации Международного комитета по номенклатуре генов человека (HUGO Gene Nomenclature Committee) [Hagenbuch, Meier, 2004], где сказано о том, что заглавными буквами обозначаются OATP человека, тогда как транспортеры других видов, как Oatp, обозначаются строчными буквами. Год спустя Стайгер и Хагенбах [Stieger, Hagenbuch, 2014] обозначили все выявленные к тому времени белки заглавными буквами, но с приставками из строчных букв, означающих видовую принадлежность, например, OATP человека – hOATP, собаки – dOATP и т. д. Именно эта классификация использована в нашей работе. Кроме того, для облегчения восприятия текста добавляется полное наименование вида, например OATP крысы.

Ранее семейство транспортеров OATP (правильнее было бы назвать надсемейством) обозначалось как SLC21, а в 2004 году после стандартизации, основанной на базе филогенетических взаимоотношений, было переименовано в SLCO [Hagenbuch, Meier, 2004]. Гены соответствующих белков человека обозначаются курсивом как *SLCO*, а других видов – как *Sico*, имеют одинаковые номера семейств, буквенные обозначения для подсемейств и хронологический номер, например, *SLCO1A2* для OATP1A2, *Sico1a1* для Oatp1a1.

OATP человека группируются в 6 семейств (OATP1–OATP6) [Hagenbuch, Meier, 2004] (табл. 1).

На основании изучения различных баз данных наличие OATP показано не только у человека и лабораторных крыс и мышей, но и у плодовой мушки (*Drosophila melanogaster*),

пчелы (*Apis mellifera*), нематоды (*Caenorhabditis elegans*), морского ежа (*Strongylocentrotus purpuratus*), канального сома (*Ictalurus punctatus*), данио (*Danio rerio*), фуру (*Fugu rubripes*), шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*), курицы (*Gallus gallus*), коровы (*Bos taurus*) и свиньи (*Sus scrofa*) [Hagenbuch, Meier, 2004]. При этом у растений, дрожжей и бактерий гомологи OATP не найдены, что позволило предположить, что эти полипептиды характерны именно для представителей царства животных, как первичноротых (членистоногие, нематоды), так и вторичноротых (позвоночные и морские ежи) [Meier-Abt et al., 2005; Hediger et al., 2013]. Самым представительным является семейство OATP1 (27 белков). Наиболее консервативными являются полипептиды семейства OATP3 (идентичность по аминокислотной последовательности варьирует от 94 до 99 %), тогда как максимальная дивергенция отмечается среди представителей семейства OATP6.

Семейство OATP1 состоит из подсемейств OATP1A, OATP1B, OATP1C. У грызунов rOATP1A1 и rOATP1A4 экспрессируются в печени (табл. 2). Наиболее исследованными из всех выявленных подсемейств являются транспортеры подсемейства OATP1B. Транспортеры hOATP1B1 и hOATP1B3 экспрессируются в печени, а hOATP2B1 – во многих тканях, включая печень, кишечник и плаценту [König et al., 2000; St-Pierre et al., 2002], и все три белка более чем на 70 % идентичны по аминокислотному составу. Ближайшим ортологом hOATP1B1 и hOATP1B3 является rOATP1B2 крыс и мышей, который экспрессируется исключительно в печени грызунов и может переносить те же субстраты [Hagenbuch, Meier, 2004; Evers, Chu, 2008]. Стоит отметить, что, хотя эти белки проявляют сходные тканевую экспрессию и субстратную

Таблица 2. Белки-транспортёры органических анионов (OATP) крысы и человека [по: Hagenbuch, Stieger, 2013]

Семейство	Подсемейство	Ткань	Переносимые субстраты
Крыса			
OATP1	OATP1A1	Печень	Холаты, органические анионы
	OATP1A3	Печень, почки, мозг	Холаты, органические анионы
	OATP1A4	Печень, гематоэнцефальный барьер, сосудистое сплетение	Дигоксин, холаты, органические анионы
	OATP1A5	Локализация неизвестна	Холаты, органические анионы
	OATP1B2	Печень	Холаты, органические анионы
	OATP1C1	Мозг, клетки Лейдига	Бромсульфаталеин
OATP2	OATP2A1	Во всех тканях	Эйкозаноиды
	OATP2B1	Синусоидальная мембрана гепатоцитов, базолатеральные мембраны синцитиотрофобластов, щеточная мембрана тонкого кишечника, молочная железа, скелетная мускулатура, эндотелиальные клетки сердца и др.	Бромсульфаталеин
OATP4	OATP4A1	Во всех тканях	Таурохолат, простагландины, трийодтиронин
	OATP4C1	Специфичен для почек	Холаты, трийодтиронин, тироксин
OATP5	OATP5A1	Плазматическая мембрана эпителиальных клеток протоков молочной железы	Нет данных
OATP6	OATP6B1	Семенники, яичники	Таурохолат
	OATP6C1	Семенники	Таурохолат
Человек			
OATP1	OATP1A2	Мозг, почки, печень, легкие, семенники, плацента	Холаты, органические анионы
	OATP1B1	Печень	Холаты, билирубин
	OATP1B3	Печень, раковые опухоли	Холаты, билирубин, глутатион, простагландины, лейкотриены, трийодтиронин, тироксин
	OATP1C1	Глиальные клетки гипоталамуса, сосудистые сплетения гематоэнцефального барьера, клетки Лейдига в семенниках, реснитчатом эпителии	Холаты, трийодтиронин, тироксин, эстрон-3-сульфат
OATP2	OATP2A1	Во всех тканях	Простагландины, тромбоксан
	OATP2B1	Идентифицирован на уровне тРНК во многих органах	Бромсульфаталеин
OATP3	OATP3A1	Во всех тканях	Эстрон-3-сульфат, простагландины
OATP4	OATP4A1	Во всех тканях	Таурохолат, трийодтиронин
	OATP4C1	Локализация неизвестна	Трийодтиронин
OATP5	OATP5A1	Плазматическая мембрана эпителиальных клеток протоков молочной железы	Нет данных
OATP6	OATP6A1	Экспрессия гена найдена в семенниках, мозге, плаценте	Нет данных

специфичность, они могут и не быть ближайшими ортологами соответствующих белков человека [Fenner et al., 2012]. У собаки найден транспортер, обозначенный как dOATP1B4, являющийся ортологом hOATP1B1 и hOATP1B3 со сходством по аминокислотной последовательности 69 и 72 % соответственно [Gui, Hagenbuch, 2010]. dOATP1B4 имеет субстратную специфичность, сходную с таковой у hOATP, включая холецистокинин-8 – специфичный субстрат hOATP1B3 [Gui, Hagenbuch, 2008, 2010]. В подсемействе OATP1B дупликация генов привела к появлению белков OATP1B1 и OATP1B3

у человека и обезьян, а у грызунов соответственно OATP1B2 и OATP1B4. В настоящее время объем информации по ортологам этих транспортеров, выявленных у других видов, остается незначительным [Hagenbuch, Meier, 2003]. По другим подсемействам OATP аналогичная информация отсутствует.

Структура OATP

OATP состоит из 643–722 аминокислотных остатков. Молекулярные массы белков составляют 65–120 кДа и могут варьировать

в зависимости от степени гликозилирования [Hagenbuch, Meier, 2004]. Как отмечено выше, OATP представляют собой полипептиды, имеющие 12 трансмембранных доменов (D1–12). N- и C-концевые участки молекулы расположены на цитоплазматической стороне мембраны. Молекула имеет 6 экстрацеллюлярных петель, из которых самая большая соединяет 9 и 10 спирали [Wang et al., 2008]. У OATP1A1 крысы и OATP1B1 человека на экстрацеллюлярных петлях 2 и 5 обнаружены сайты гликозилирования [Yao et al., 2012].

Компьютерное моделирование строения транспортера OATP1B3 показало, что этот белок имеет центральную пору, вокруг которой симметрично расположены шесть N-концевых и шесть C-концевых доменов. Спирали 1, 2, 4 и 5 N-конца и 7, 8, 10 и 11 C-конца формируют пору, а спирали 3, 6, 9 и 12 погружены в липидный бислой [Meier-Abt et al., 2005]. В предложенной модели наибольший диаметр поры отмечен со стороны цитоплазмы. При конформационных изменениях молекулы транспортера пора может отрываться в сторону внеклеточного пространства. Электростатический потенциал внутри поры имеет суммарный положительный заряд, благодаря которому происходит связывание и транспорт отрицательно заряженных соединений, представляющих основную массу субстратов OATP. Положительный заряд обеспечен несколькими консервативными остатками аргинина, лизина, аспарагина, глутамина и гистидина, экспонированными внутрь поры. Обнаружено, что у полипептидов семейства OATP1 в положении 181 находится остаток аргинина (Arg¹⁸¹), который отсутствует у OATP других семейств. В молекулах транспортеров семейства OATP2 аналогичное пространственное положение занимает остаток гистидина (His⁵⁷⁹). Предполагается, что эти аминокислотные остатки играют важную роль в формировании субстрат-связывающего сайта [Meier-Abt et al., 2005]. Сайт-направленный мутагенез OATP1B1 [Weaver, Hagenbuch, 2010] и OATP1B3 [Mandery et al., 2011] показал, что замены Arg⁵⁷, Лиз³⁶¹ и Arg⁵⁸⁰ также способны модифицировать сродство к субстратам белков семейства OATP1B эстрадиол-17β-глюкорониду и бромсульфоталеину (BSP), а Лиз⁴¹, Лиз³⁶¹ и Arg⁵⁸⁰ важны для осуществления транспортных функций OATP1B3. Лиз³⁹⁹ участвует в процессе встраивания белка в мембрану [Glaeser et al., 2010; Mandery et al., 2011]. Стоит отметить, что Лиз³⁶¹ и Arg⁵⁸⁰ важны для осуществления транспортных функций как для OATP1B1, так и для OATP1B3, поскольку оба транспортера имеют

перекрывающуюся субстратную специфичность [Stieger, Hagenbuch, 2014].

Показаны три консервативные водородные связи, характерные для семейств OATP1 и OATP2, способствующие междоменному связыванию и формированию поры [Meier-Abt et al., 2005]. Водородная связь, которая может принимать участие в стабилизации спирали D2, возникает между Asn⁷⁷ и Phe⁷³ у OATP1B3, а у OATP2B1 – между Asn⁹⁸ и Asn⁹⁴. Водородная связь между Arg⁹³ и Val¹⁸⁹ у OATP1B3 (Arg¹¹⁴ и Gln²⁰⁷ у OATP2B1), возможно, фиксирует положение D4, а таковая между Ser²²⁸ и Ala²²⁵ у OATP1B3 (Ser²²⁶ и Gly²⁴³ у OATP2B1) участвует в фиксации D5.

Обнаружено несколько консервативных остатков пролина и глицина, по которым происходит перелом в трансмембранных спиралях. Например, Pro¹¹⁴ у OATP1B3 (Pro¹³⁵ у OATP2B1) обеспечивают перелом в домене D3 – спирали, которая не экспонирована в пору. Такое строение является общим не только для OATP, но и для полипептидов всего суперсемейства MFS [Chang et al., 2004; Reddy et al., 2012]. Консервативный остаток Gly²¹⁹ у OATP1B3 (Gly²³⁷ у OATP2B1) выявлен у всех известных OATP и приводит к перелому в D5, обеспечивающему выход большей части домена в пору.

На границе с наружной поверхностью мембраны между экстрацеллюлярной петлей 3 и доменом D6 имеются три высококонсервативных остатка триптофана, положение которых в цепи молекулы OATP может быть использовано для идентификации полипептидов этого семейства в различных базах данных [Hagenbuch, Gui, 2008]. Тем не менее до сих пор остается непонятной роль этих аминокислотных остатков в функционировании белков и их зональной локализации на мембране.

Также в составе большой петли 5 есть 10 консервативных остатков цистеина [Hagenbuch, Meier, 2003], которые образуют между собой дисульфидные связи и, возможно, необходимы для экспрессии белков в плазматическую мембрану [Hängi et al., 2006].

Семь видов OATP, найденных у крысы, мыши и человека, имеют на C-концевой части молекулы сайт, в котором есть последовательность из 4 аминокислот (-лизил-треонил-лизил-лейцил-, KTKL), с помощью которой OATP соединяются с PDZ-доменом ряда мембранных белков. PDZ-содержащие белки могут иметь несколько доменов, способствующих формированию функционально важных комплексов [Ye, Zhang, 2013]. PDZ-домен состоит из 80–90 объединенных общей структурой аминокислот и представляет собой «молекулярный якорь»,

с помощью которого OATP фиксируется на внутренней стороне плазматической мембраны [Hung, Sheng, 2002; Kim, Sheng, 2004; Ye, Zhang, 2013]. Известно более 150 белков, содержащих PDZ-домен, с которым могут связаться белки, имеющие PDZ-консенсусные сайты. С помощью синтетического пептида, соответствующего С-концу с 16 аминокислотными остатками OATP1A1, из печени крысы методом аффинной хроматографии был выделен белок с Mr 70 кДа (PDZK1), который взаимодействовал с данным транспортером. При использовании аналогичного синтетического пептида, в котором отсутствовала последовательность KTKL, взаимодействия не выявлено [Wang et al., 2005]. С помощью иммунофлуоресценции показано, что OATP1A1 встроен в базолатеральную плазматическую мембрану гепатоцитов. При блокировании синтеза PDZK1 в печени мыши синтез OATP1A1 не снижался, но в этом случае белок обнаруживался главным образом во внутриклеточных структурах. Скорость поглощения гепатоцитами из плазмы ^{35}S -BSP – субстрата OATP1A1 у мышей с нокаутом по PDZK1 снижалась на 25 % по сравнению с мышами дикого типа [Wang et al., 2005]. Эти результаты ясно указывают на тесную взаимосвязь между OATP и PDZK1 *in vivo*.

Реализация транспортных функций молекулами OATP

Механизмы, с помощью которых осуществляется транспорт различных молекул с помощью OATP, не до конца понятны [Hagenbuch, Gui, 2008]. По мнению Ши с соавторами [Shi et al., 1995], OATP1A1 является антипортером, то есть осуществляет одновременный трансмембранный перенос анионов в противоположных направлениях, а внутриклеточные ионы могут выступать в качестве источников энергии для транспорта внутрь клетки. В 1997 г. было высказано предположение, что транспорт субстратов внутрь клеток с помощью OATP1A1 может быть энергетически связан с выведением бикарбонатного иона (HCO_3^-) [Satlin et al., 1997]. Тем не менее из-за того, что внутри клеток pH ниже, чем снаружи, участие HCO_3^- в энергетическом обеспечении транспорта представлялось маловероятным [Li et al., 1998]. Показано, например, что поступление внутрь гепатоцитов таурохолата (медиатором процесса является OATP1A1) ускоряется только в том случае, когда градиент pH имеет значения, обратные физиологическим [Satlin et al., 1997]. Тем не менее недавно было показано участие бикарбонатного иона в качестве

противоиона при осуществлении транспортных функций OATP1B3, OATP1C1, OATP2B1 человека, OATP1A1 и OATP1A5 крысы [Leuthold et al., 2009].

Существует мнение, что внутриклеточным субстратом, который может быть донором энергии при реализации OATP1A1 и другими OATP функций переноса внутрь клетки, является восстановленный глутатион (GSH) [Li et al., 1998]. Очень крутой градиент (~ 10 мМ внутри – ~ 10 μM снаружи клетки) и отрицательный заряд при физиологических значениях pH, который совместно с мембранным потенциалом достигает значений $-30\dots-60$ мВ, могут обеспечивать энергией OATP1 при осуществлении его транспортных функций [Ballatori et al., 2005]. Обнаружено, что поглощение таурохолата ооцитами *X. laevis*, инъецированными кРНК (сРНК) OATP1A1, в случае, когда внутриклеточная концентрация GSH не превышала $\sim 0,3$ мМ, было на 46 % ниже, чем в контрольном варианте ($\sim 2,5$ мМ). Если уровень внутриклеточного GSH повышали до ~ 20 мМ, то происходил резкий рост транслокации таурохолата, превысивший на 155 % контрольные показатели [Li et al., 1998]. Аналогичные результаты получены при изучении транспортных функций другого антипортера – OATP2 [Li et al., 2000]. Интересно отметить, что конъюгат GSH – S-(2,4-динитрофенил)-глутатион стимулировал перенос таурохолата транспортером OATP1A4, но не OATP1A1 [Li et al., 2000]. Искусственное снижение внутриклеточной концентрации GSH в ооцитах *X. laevis* с 2,5 до 0,5 мМ привело к тому, что накопление в клетках ^3H -таурохолата и ^3H -дигоксина не превышало 60 и 72 % (соответственно) от контрольных значений. После инъекции GSH в дозе 10–40 мМ поглощение этих субстратов превысило уровень контроля. Увеличение содержания GSH во внеклеточном пространстве до эквивалентного внутриклеточному не влияло на поглощение таурохолата, которое зависело только от концентрации трипептида внутри клеток. Этот факт может свидетельствовать о том, что именно внутриклеточный уровень GSH, а не его трансмембранный градиент, доминирует в реализации транспортной функции OATP2 [Li et al., 2000].

OATP у немодельных видов млекопитающих

Как видно из вышеизложенного, основная масса исследований OATP выполнена по транспортерам человека и лабораторных мелких млекопитающих. Число работ по изучению OATP у видов, не относящихся

к млекопитающим, остается незначительным. Майер-Абт с соавторами [Meier-Abt et al., 2005] клонировали OATP из курицы (*Gallus gallus*), лягушки (*Xenopus tropicalis*), рыбы (*Danio rerio*), плодовой мушки (*Drosophila melanogaster*) и нематоды (*Caenorabditis elegans*). Сравнительный анализ показал, что OATP позвоночных обнаруживаются в составе одних и тех же семейств, в то время как OATP насекомого и червя являются сочленами нового семейства, обозначенного как OATP14. Тем не менее один представитель OATP *D. melanogaster*, а именно dmOATP4B1, как видно из названия, принадлежит к уже известному семейству, ранее описанному у млекопитающих. Эти данные свидетельствуют в пользу очень близких эволюционных дистанций по этому белку между млекопитающими и другими видами, которые ранжированы следующим образом: млекопитающие → курица → рыба → лягушка → плодовая мушка → нематода [Meier-Abt et al., 2005].

Более подробные сведения по OATP рыб представлены в ряде работ [Cai et al., 2002; Meier-Abt et al., 2007; Popovic et al., 2010, 2013; Steiner et al., 2014, 2016]. Так, из печени ежового ската (*Leucoraja erinacea*) выделен специфичный для этого органа транспортер sOATP1D1, теоретический Mr которого составил 76 кДа [Cai et al., 2002]. Mr, определенный с помощью Вестерн-блоттинга, был равен 100 кДа, что, по мнению авторов, свидетельствует о гликозилировании молекулы транспортера в процессе его встраивания в мембрану. Анализ аминокислотного состава показал, что этот белок на 41–43 % сходен с транспортерами OATP1B1 человека и OATP1B2 крысы и более чем на 50 % с OATP1C1 человека, который в настоящее время считается самым древним представителем семейства OATP у млекопитающих [Hagenbuch, Meier, 2004]. Существует мнение [Cai et al., 2002; Meier-Abt et al., 2007], что sOATP1D1 является предковой формой, от которой в процессе эволюции и в результате дубликации генов произошли OATP высших позвоночных. Оно подтверждается тем, что трансмембранные домены 1–6 у этих белков по аминокислотной последовательности были сходны на 50–70 %, а экстрацеллюлярные петли 1, 5, 7 – на 57–78 %. Кроме того, транспортер ската проявлял сходную субстратную специфичность с аналогичными белками млекопитающих. В частности, обнаружено [Meier-Abt et al., 2007], что sOATP1D1 осуществляет транспорт высокотоксичных циклических пептидов бледной поганки (*Amanita falloides*) – фаллоидина и α -аманитина, установленный ранее для OATP1A1 и OATP1A4 крысы, OATP1A2

и OATP2B1 человека [Meier-Abt et al., 2004], а также микроцистина-LR и родственных соединений (congeners) (сине-зеленые водоросли), таких как OATP1B1 и OATP1B3 человека [Fischer et al., 2010]. Интересно отметить, что у hOATP1C1, обнаруженного в мозге и клетках Лейдига в семенниках [Pizzagalli et al., 2002] и имеющего, как указано выше, максимальное сходство по аминокислотной последовательности с sOATP1D1, не выявлено транспортной активности относительно фаллоидина. Этот факт может указывать на то, что трансмембранный перенос фаллоидина является специфической функцией OATP печени ската и млекопитающих [Meier-Abt et al., 2007]. Из печени радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) выделен транспортер rtOATP1D1, который на 53–60 % был сходен с аналогичным полипептидом других рыб и только на 45–48 % с сочленами подсемейства OATP1C1, предположительно являющегося родоначальником филогенетического древа транспортеров суперсемейства SLC21/SLCO [Steiner et al., 2014]. Как и sOATP1D1 ската, этот белок осуществляет трансмембранный перенос микроцистина-LR.

В тканях представителя карповых рыб да-нио рерио (*Danio rerio*) обнаружено 14 OATP, из которых восемь были ортологами транспортеров других позвоночных, а остальные шесть характерны для рыб [Popovic et al., 2010]. В частности, drOATP2A1, drOATP2B1, drOATP3A1 и drOATP1D1 проявили свойства ортологов белков млекопитающих, а обнаруженные транспортеры семейств OATP1E1 и OATP1F2 были характерны только для этого вида рыб и не имели ортологов, свойственных млекопитающим. Далее, используя результаты исследований, проведенных в последние годы, Поповик с соавторами [Popovic et al., 2013] провели ревизию филогенетического древа транспортеров семейства OATP и пришли к выводу, что подсемейство OATP1D является специфичным для костистых рыб и формирует отдельный кластер, расположенный между подсемействами OATP1B и OATP1C. В состав этого кластера кроме drOATP1D1 и drOATP1D2 включены также ортологи всех исследованных к этому времени рыб: иглобрюхов (*Takifugu rubripes* и *Tetraodon nigroviridis*), трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus*) и трески (*Gadus morhua*). Тем не менее, по уточненным этими авторами данным, OATP1D1 ската на самом деле является ортологом транспортеров подсемейства OATP1C.

Филогенетический анализ эволюционного древа транспортеров семейства OATP1 показал их наличие у всех групп хордовых, от

оболочников (урохордат) до млекопитающих [Porovic et al., 2013]. Генетическое разнообразие семейства появилось после возникновения челюстных рыб с последующим вторичным циклом полной дубликации генома после расщепления рыб на бесчелюстных и челюстных, но до образования хрящевых и костистых рыб [Froschauer et al., 2006]. Подсемейства OATP1A и OATP1B, вероятно, возникли у предковых форм класса Sarcopterygii, поскольку обнаружены не только у современных видов тетрапод, включая человека, но и у кистеперого целаканта (*Latimeria chalumnae*), однако не найдены у лучеперых рыб. Подсемейство OATP1C – единственное, которое обнаружено у всех представителей позвоночных от хрящевых рыб до человека. Считается, что транспортеры этого подсемейства наиболее сходны по строению с анцестральной молекулой семейства OATP1 [Pizzagalli, 2002]. У рыб выявлены три подсемейства транспортеров: OATP1C, OATP1D и OATP1F. Наличие OATP1D характерно для всех исследованных костистых рыб. Проведенные исследования позволили предположить, что транспортеру OATP1D1 у рыб свойственны те же функции, что и сочленам подсемейств OATP1A и OATP1B у млекопитающих [Porovic et al., 2013]. Что же касается подсемейства OATP1F, то оно, по-видимому, видоспецифично, поскольку найдено пока только у данио рерио [Porovic et al., 2013].

Участие OATP в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков

Традиционно процесс биотрансформации ксенобиотиков рассматривается как двухфазный. В фазе I происходит окисление (а в некоторых случаях восстановление) чужеродных соединений, которые минимизируют их прямое взаимодействие с внутриклеточными мишенями. В фазе II частично трансформированные молекулы конъюгируют с некоторыми внутриклеточными соединениями, такими как глутатион, и превращаются в безопасные гидрофильные метаболиты.

OATP принимают активное участие в функционировании этой системы [Fenner et al., 2012]. Поскольку они экспрессируются в большинстве тканей, то OATP отводится очень важная роль в транспорте большого количества эндо- и экзогенных соединений практически во все типы клеток и ассоциированных с ними тканей и органов [Stieger, Hagenbuch, 2014]. В первой декаде XXI века были достигнуты существенные успехи в предсказании характера

взаимодействия лекарственных препаратов с ферментами I и II фаз биотрансформации ксенобиотиков, тем не менее обнаружен ряд взаимодействий (DDI – drug-drug interactions), которые невозможно объяснить активностью этих ферментов. Показано, что ключевую роль в этих процессах играет взаимосвязь между цитохромами P450 (CYP) и транспортерами [Zhang et al., 2009], которая может осуществляться через изменение метаболических путей за счет одновременного изменения активности ферментов и транспортеров. Препараты, мишенями которых являются ферменты фаз I и II, зачастую могут быть субстратами или ингибиторами транспортеров. Например, CYP3A и OATP совместно участвуют в метаболизме репаглинида (применяется при диабете II типа). При использовании ингибиторов – итраконазола (CYP3A) и гемфиброзила (OATP) отмечено увеличение в плазме крови AUC (area under curve, применяется в клинико-фармакологической практике для оценки времязависимого клиренса того или иного препарата) репаглинида в 1,4 и 8,1 раза соответственно [Niemi et al., 2003]. При одновременном применении обоих ингибиторов рост AUC препарата был 19-кратным, что может свидетельствовать в пользу того, что в данном случае взаимодействие CYP-OATP приводит к синергическому эффекту, а не аддитивному. CYP-OATP-взаимодействие может осуществляться через контроль концентрации и/или времени удерживания субстрата в зоне передачи молекул с транспортера на CYP [Fenner et al., 2012]. Это взаимодействие может определяться через совместную регуляцию экспрессии белка. Считается, что экспрессия обоих компонентов регулируется семейством факторов транскрипции, известных как ядерные рецепторы, такие как PXR (pregnane X receptor), CAR (constitutive androstane receptor), FXR (Farnesoid X receptor) и LXR (liver X receptor). Доказательством служит исследование DDI атрасентана, являющегося субстратом OATP1B1 и активно метаболизируемого CYP [Katz et al., 2006]. Обнаружено, что применение рифампина (специфического ингибитора OATP) изменяет фармакокинетику атрасентана, с одной стороны, выступая в роли ингибитора транспорта последнего через систему OATP, а с другой, стимулирует метаболизм атрасентана ферментами фазы I [Xiong et al., 2007].

Заключение

Белки семейства SLCO (ранее SLC21) (по классификации HUGO Gene Nomenclature Committee) представляют собой транспортеры

органических анионов. ОАТР являются сочленами Na-независимой транспортной системы и при физиологических значениях pH осуществляют перенос через плазматические мембраны различных органов и тканей эукариотов большого числа амфифильных органических анионов с молекулярными массами больше 350 Да. В настоящее время полностью или частично расшифрована аминокислотная последовательность ОАТР из почти 40 видов животных. На основании сходства по аминокислотной последовательности белки разделяются на семейства (до 40 % идентичности) и подсемейства (до 60 % сходства). Транспортёры семейства ОАТР-Р1С считаются эволюционно наиболее древними, поскольку обнаружены у всех исследованных видов. У растений, дрожжей и бактерий гомологи ОАТР не найдены.

ОАТР являются неотъемлемой частью системы биотрансформации ксенобиотиков и играют важную роль в ее функционировании через тесную взаимосвязь с ферментами I и II фаз обезвреживания КБ. Важность изучения ОАТР в настоящее время общепризнана, поскольку имеет выраженный медицинский аспект, связанный с разработкой методов и подходов, с помощью которых можно оценивать эффективность и последствия применения вновь создаваемых лекарственных препаратов.

Работа осуществлялась при поддержке средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0033) и Программы Президиума РАН № 21 «Биоразнообразии природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга», проект № 0221-2015-0003.

Литература

Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В. 1. Транспортёры органических анионов (ОАТ). Молекулярное разнообразие, структура, функция, участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков у животных // Труды КарНЦ РАН. 2017. № 12. С. 28–42. doi: 10.17076/eb622

Ballatori N., Hammond C. L., Cunningham J. B., Krance S. M., Marchan R. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of theMRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins // Toxicol. and Applied Pharmacol. 2005. Vol. 204. P. 238–255. doi: 10.1016/j.taap.2004.09.008

Cai S. Y., Wang W., Soroka C. J., Ballatori N., Boyer J. L. An evolutionary ancient Oatp: insights into conserved functional domains of these proteins // Am. J. Physiol.: Gastrointest Liver Physiol. 2002. Vol. 282. P. G702–G710. doi: 10.1152/ajpgi.00458.2001

Chang A. B., Lin R., Studley W. K., Tran C. V., Saier M. H., Jr. Phylogeny as a guide to structure and function of membrane transport proteins (Review) // Mol. Membr. Biol. 2004. Vol. 21. P. 171–181. doi: 10.1080/09687680410001720830

Evers R., Chu X. Y. Role of the murine organic anion-transporting polypeptide 1b2 (Oatp1b2) in drug disposition and hepatotoxicity // Mol. Pharmacol. 2008. Vol. 74. P. 309–311.

Fenner K. S., Jones H. M., Ullah M., Kempshall S., Dickins M., Lai Y., Morgan P., Barton H. A. The evolution of the OATPhepatic uptake transport protein family in DMPK sciences: from obscure liver transporters to key determinants of hepatobiliary clearance // Xenobiotica. 2012. Vol. 42, no. 1. P. 28–45. doi: 10.3109/00498254.2011.626464

Fischer A., Hoeger S. J., Stemmer K., Feurstein D. J., Knobloch D., Nussler A., Dietrich D. R. The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of different microcystin congeners in vitro: A comparison of primary human hepatocytes and OATP-transfected HEK293 cells // Toxicol. and Applied Pharmacol. 2010. Vol. 245. P. 9–20. doi: 10.1016/j.taap.2010.02.006

Froschauer A., Braasch I., Volff J. Fish genomes, comparativegenomics and vertebrate evolution // Curr. Genomics. 2006. Vol. 7. P. 43–57.

Glaeser H., Mandery K., Sticht H., Fromm M. F., König J. Relevance of conserved lysine and arginine residues in transmembrane helices for the transport activity of organic anion transporting polypeptide 1B3 // Br. J. Pharmacol. 2010. Vol. 159, no. 3. P. 698–708. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00568.x

Gui C., Hagenbuch B. Molecular determinants for substrate selectivity of OATP-1B3 // FASEB J. 2008. Vol. 151. P. 393–399.

Gui C., Hagenbuch B. Cloning/characterization of the canine organic anion transporting polypeptide 1b4 (Oatp1b4) and classification of the canine OATP/SLCO members // Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 2010. Vol. 151. P. 393–399. doi: 10.1016/j.cbpc.2010.01.005

Hagenbuch B., Meier P. J. The superfamily of organic anion transporting polypeptides // Biochimica et Biophysica Acta. 2003. Vol. 1609. P. 1–18.

Hagenbuch B., Meier P. J. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties // Pflugers Arch. 2004. Vol. 447. P. 653–665.

Hagenbuch B., Gui C. Xenobiotic transporters of the human organic anion transporting polypeptides (OATP) family // Xenobiotica. 2008. Vol. 38. P. 778–801. doi: 10.1080/00498250801986951

Hagenbuch B., Stieger B. The SLCO (former SLC21) superfamily of transporters // Molecular Aspects of Medicine. 2013. Vol. 34. P. 396–412. doi: 10.1016/j.mam.2012.10.009

Hänggi E., Grundschober A. F., Leuthold S., Meier P. J., St-Pierre M. V. Functional analysis of the extracellular cysteine residues in the human organic anion transporting polypeptide, OATP2B1 // Molecular Pharmacology. 2006. Vol. 70. P. 806–817. doi: 10.1124/mol.105.019547

- Hediger M. A., Romero M. F., Peng J.-B., Rolfs A., Takanaga H., Bruford E. A. The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins // *Pflugers Arch – Eur. J. Physiol.* 2004. Vol. 447. P. 465–468. doi: 10.1007/s00424-003-1192-y
- Hediger M. A., Cléménçon B., Burrier R. E., Bruford E. A. The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): Introduction // *Molecular Aspects of Medicine.* 2013. Vol. 34. P. 95–107. doi: 10.1016/j.mam.2012.12.009
- Hung A. Y., Sheng M. PDZ domains: Structural modules for protein complex assembly // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 5699–5702.
- Katz D. A., Carr R., Grimm D. R., Xiong H., Holley-Shanks R., Mueller T., Leake B., Wang Q., Han L., Wang P. G., Edeki T., Sahelijo L., Doan T., Allen A., Spear B. B., Kim R. B. Organic anion transporting polypeptide 1B1 activity classified by SLC01B1 genotype influences atrasentan pharmacokinetics // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006. Vol. 79. P. 186–196. doi: 10.1016/j.clpt.2005.11.003
- Kim E., Sheng M. PDZ domain proteins of synapses // *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. Vol. 5. P. 771–781. doi: 10.1038/nrn1517
- König J., Cui Y., Nies A. T., Keppler D. Localization and genomic organization of a new hepatocellular organic anion transporting polypeptide // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 23161–23168.
- König J. Uptake transporters of the human OATP family. Molecular characteristics, substrates, their role in drug-drug interactions, and functional consequences of polymorphisms // *HandbExpPharmacol.* 2011. Vol. 201. P. 1–28. doi: 10.1007/978-3-642-14541-4_1
- Kusuhara H., Sugiyama Y. In vitro-in vivo extrapolation of transporter-mediated clearance in the liver and kidney // *Drug. Metab. Pharmacokinet.* 2009. Vol. 24, no. 1. P. 37–52.
- Leuthold S., Hagenbuch B., Mohebbi N., Wagner C. A., Meier P. J., Stieger B. Mechanisms of pH-gradient driven transport mediated by organic anion polypeptide transporters // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009. Vol. 296, no. 3. P. 570–582. doi: 10.1152/ajpcell.00436.2008
- Li L., Lee T. K., Meier P. J., Ballatori N. Identification of glutathione as a driving force and leukotriene C₄ as a substrate for oatp1, the hepatic sinusoidal organic solute transporter // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273, no. 26. P. 16184–16191.
- Li L., Meier P. J., Ballatori N. Oatp2 mediates bidirectional organic solute transport: a role for intracellular glutathione // *Molecular Pharmacology.* 2000. Vol. 58. P. 335–340.
- Mandery K., Sticht H., Bujok K., Schmidt I., Fahrmayr C., Balk B., Fromm M. F., Glaeser H. Functional and structural relevance of conserved positively charged lysine residues in organic anion transporting polypeptide 1B3 // *Mol. Pharmacol.* 2011. Vol. 80, no. 3. P. 400–406. doi: 10.1124/mol.111.071282
- Meier-Abt F., Faulstich H., Hagenbuch B. Identification of phalloidin uptake systems of rat and human liver // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. Vol. 1664. P. 64–69. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.04.004
- Meier-Abt F., Mokrab Y., Mizuguchi K. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLCO superfamily: identification of new members in nonmammalian species, comparative modeling and potential transport mode // *J. Membr. Biol.* 2005. Vol. 208. P. 213–227. doi: 10.1007/s00232-005-7004-x
- Meier-Abt F., Hammann-Hänni A., Stieger B., Ballatori N., Boyer J. L. The organic anion transport polypeptide 1d1 (Oatp1d1) mediates hepatocellular uptake of phalloidin and microcystin into skate liver // *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2007. Vol. 218. P. 274–279. doi: 10.1016/j.taap.2006.11.015
- Niemi M., Backman J. T., Neuvonen M., Neuvonen P. J. Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide: Potentially hazardous interaction between gemfibrozil and repaglinide // *Diabetologia.* 2003. Vol. 46. P. 347–351. doi: 10.1007/s00125-003-1034-7
- Pizzagalli F., Hagenbuch B., Stieger B., Klenk U., Folkers G., Meier P. J. Identification of a novel human organic anion transporting polypeptide as a high affinity thyroxine transporter // *Mol. Endocrinol.* 2002. Vol. 16. P. 2283–2296. doi: 10.1210/me.2001-0309
- Popovic M., Zaja R., Smital T. Organic anion transporting polypeptides (OATP) in zebrafish (*Danio rerio*): Phylogenetic analysis and tissue distribution // *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A.* 2010. Vol. 155. P. 327–335. doi: 10.1016/j.cbpa.2009.11.011
- Popovic M., Zaja R., Fent K., Smital T. Molecular Characterization of Zebrafish Oatp1d1 (*Slco1d1*), a Novel Organic Anion-transporting Polypeptide // *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 288. P. 33894–33911. doi: 10.1074/jbc.M113.518506
- Reddy V. S., Shlykov M. A., Castillo R., Sun E. I., Saier M. H. Jr. The Major Facilitator Superfamily (MFS) Revisited // *FEBS J.* 2012. Vol. 279, no. 11. P. 2022–2035. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08588.x
- Roth M., Obaidat A., Hagenbuch B. OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the *SLCO* and *SLC22A* gene superfamilies // *British Journal of Pharmacology.* 2012. Vol. 165. P. 1260–1287. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01724.x
- Satlin L. M., Amin V., Wolkoff A. W. Organic anion transporting polypeptide mediates organic anion/HCO₃ exchange // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 26340–26345.
- Shi X., Bai S., Ford A. C., Burk R. D., Jacquemin E., Hagenbuch B., Meier P. J., Wolkoff A. W. Stable inducible expression of a functional rat liver organic anion transport protein in HeLa cells // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, no. 43. P. 25591–25595.
- Shitara Y., Maeda K., Ikejiri K., Yoshida K., Horie T., Sugiyama Y. Clinical significance of organic anion transporting polypeptides (OATPs) in drug disposition: their roles in hepatic clearance and intestinal absorption // *Biopharm. Drug. Dispos.* 2013. Vol. 34 (1). P. 45–78. doi: 10.1002/bdd.1823
- St-Pierre M. V., Hagenbuch B., Ugele B., Meier P. J., Stallmach T. Characterization of an organic anion-transporting polypeptide (OATP-B) in human placenta // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002. Vol. 87. P. 1856–1863.

Steiner K., Hagenbuch B., Dietrich D. R. Molecular cloning and functional characterization of a rainbow trout liver Oatp // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2014. Vol. 280 (3). P. 534–542. doi: 10.1016/j.taap.2014.08.031

Steiner K., Zimmermann L., Hagenbuch B., Dietrich D. Zebrafish Oatp-mediated transport of microcystin congeners // *Arch. Toxicol.* 2016. Vol. 90. P. 1129–1139. doi: 10.1007/s00204-015-1544-3

Stieger B., Hagenbuch B. Organic Anion Transporting Polypeptides // *Curr Top Membr.* 2014. Vol. 73. P. 205–232. doi: 10.1016/B978-0-12-800223-0.00005-0

Szakacs G., Varadi A., Ozvegy-Laszka C., Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox) // *Drug Discovery Today.* 2008. Vol. 13. P. 379–393. doi: 10.1016/j.drudis.2007.12.010

Tweedie D., Polli J. W., Berglund E. G., Huang S. M., Zhang L., Poirier A., Chu X., Feng B. Transporter studies in drug development: experience to date and follow-up on decision trees from the International Transporter Consortium // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2013. Vol. 94, no. 1. P. 113–125. doi: 10.1038/clpt.2013.77

Vega-Hissi E. G., Estrada M. R., Lavecchia M. J., PisDiez R. Computational chemical analysis of unconjugated bilirubin anions and insights into pKa values clarification // *J. Chem. Phys.* 2013. Vol. 138 (3): 035101. doi: 10.1063/1.4773586

Wang P., Wang J. J., Xiao Y., Murray J. W., Novikoff P. M., Angeletti R. H., Orr G. A., Lan D., Silver D. L., Wolkoff A. W. Interaction with PDZK1 is required for expression of organic anion transporting protein 1A1 on the hepatocyte surface // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280, no. 34. P. 30143–30149. doi: 10.1074/jbc.M503969200

Wang P., Hata S., Xiao Y., Murray J. W., Wolkoff A. W. Topological assessment of oatp1a1: a 12-transmembrane domain integral membrane protein with three N-linked carbohydrate chains // *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2008. Vol. 294, no. 4. P. G1052–1059. doi: 10.1152/ajpgi.00584.2007

Weaver Y. M., Hagenbuch B. Several conserved positively charged amino acids in OATP1B1 are involved in binding or translocation of different substrates // *J. Membr. Biol.* 2010. Vol. 236, no. 3. P. 279–290. doi: 10.1007/s00232-010-9300-3

Xiong H., Carr R. A., Locke C. S., Katz D. A., Achari R., Doan T. T., Wang P., Jankowski J. R., Sleep D. J. Dual effects of rifampin on the pharmacokinetics of atrasentan // *J. Clin. Pharmacol.* 2007. Vol. 47. P. 423–429. doi: 10.1177/0091270007299928

Yao J., Hong W., Huang J., Zhan K., Huang H., Hong M. N-Glycosylation dictates proper processing of organic anion transporting polypeptide 1B1 // *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7, no. 12. P. e52563. doi: 10.1371/journal.pone.0052563

Ye F., Zhang M. Structure and target recognition modes of PDZ domains: Recurring themes and emerging pictures // *Biochem. J.* 2013. Vol. 455. P. 1–14. doi: 10.1042/BJ20130783

Zhang L., Zhang Y., Huang S. M. Scientific and regulatory perspectives on metabolizing enzyme-transporter interplay and its role in drug interactions: Challenges in predicting drug interactions // *Mol. Pharm.* 2009. Vol. 6. P. 1766–1774. doi: 10.1021/mp900132e

Поступила в редакцию 20.04.2017

References

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V. 1. Transportery organicheskikh anionov (OAT). Molekulyarnoe raznoobrazie, struktura, funktsiya, uchastie v funktsionirovanii sistemy biotransformatsii ksenobiotikov u zhivotnykh [1. Organic anion transporters. Molecular diversity, structure, contribution to the functioning of the xenobiotic biotransformation system in animals (a review)]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2017. No. 12. P. 28–42. doi: 10.17076/eb622

Ballatori N., Hammond C. L., Cunningham J. B., Krance S. M., Marchan R. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2005. Vol. 204. P. 238–255. doi: 10.1016/j.taap.2004.09.008

Cai S. Y., Wang W., Soroka C. J., Ballatori N., Boyer J. L. An evolutionary ancient Oatp: insights into conserved functional domains of these proteins. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2002. Vol. 282. P. G702 – G710. doi: 10.1152/ajpgi.00458.2001

Chang A. B., Lin R., Studley W. K., Tran C. V., Saier M. H., Jr. Phylogeny as a guide to structure and function of membrane transport proteins (Review). *Mol. Membr. Biol.* 2004. Vol. 21. P. 171–181. doi: 10.1080/09687680410001720830

Evers R., Chu X. Y. Role of the murine organic anion-transporting polypeptide 1b2 (Oatp1b2) in drug disposition and hepatotoxicity. *Mol. Pharmacol.* 2008. Vol. 74. P. 309–311.

Fenner K. S., Jones H. M., Ullah M., Kempshall S., Dickins M., Lai Y., Morgan P., Barton H. A. The evolution of the OATPhepatic uptake transport protein family in DMPK sciences: from obscure liver transporters to key determinants of hepatobiliary clearance. *Xenobiotica.* 2012. Vol. 42, no. 1. P. 28–45. doi: 10.3109/00498254.2011.626464

Fischer A., Hoeger S. J., Stemmer K., Feurstein D. J., Knobloch D., Nussler A., Dietrich D. R. The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of different microcystin congeners in vitro: A comparison of primary human hepatocytes and OATP-transfected HEK293 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2010. Vol. 245. P. 9–20. doi: 10.1016/j.taap.2010.02.006

Froschauer A., Braasch I., Volff J. Fish genomes, comparative genomics and vertebrate evolution. *Curr. Genomics.* 2006. Vol. 7. P. 43–57.

Glaeser H., Mandery K., Sticht H., Fromm M. F., König J. Relevance of conserved lysine and arginine residues in transmembrane helices for the transport

activity of organic anion transporting polypeptide 1B3. *Br. J. Pharmacol.* 2010. Vol. 159, no. 3. P. 698–708. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00568.x

Gui C., Hagenbuch B. Molecular determinants for substrate selectivity of OATP-1B3. *FASEB J.* 2008. Vol. 151. P. 393–399.

Gui C., Hagenbuch B. Cloning/characterization of the canine organic anion transporting polypeptide 1b4 (Oatp1b4) and classification of the canine OATP/SLCO members. *Comp. Biochem. Physiol. Cell Toxicol. Pharmacol.* 2010. Vol. 151. P. 393–399. doi: 10.1016/j.cbpc.2010.01.005

Hagenbuch B., Meier P. J. The superfamily of organic anion transporting polypeptides. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2003. Vol. 1609. P. 1–18.

Hagenbuch B., Meier P. J. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflugers Arch.* 2004. Vol. 447. P. 653–665.

Hagenbuch B., Gui C. Xenobiotic transporters of the human organic anion transporting polypeptides (OATP) family. *Xenobiotica.* 2008. Vol. 38. P. 778–801. doi: 10.1080/00498250801986951

Hagenbuch B., Stieger B. The SLCO (former SLC21) superfamily of transporters. *Molecular Aspects of Medicine.* 2013. Vol. 34. P. 396–412. doi: 10.1016/j.mam.2012.10.009

Hänggi E., Grundschober A. F., Leuthold S., Meier P. J., St-Pierre M. V. Functional analysis of the extracellular cysteine residues in the human organic anion transporting polypeptide, OATP2B1. *Molecular Pharmacology.* 2006. Vol. 70. P. 806–817. doi: 10.1124/mol.105.019547

Hediger M. A., Romero M. F., Peng J.-B., Rolfs A., Takanaga H., Bruford E. A. The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins. *Pflugers Arch – Eur. J. Physiol.* 2004. Vol. 447. P. 465–468. doi: 10.1007/s00424-003-1192-y

Hediger M. A., Cléménçon B., Burrier R. E., Bruford E. A. The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): Introduction. *Molecular Aspects of Medicine.* 2013. Vol. 34. P. 95–107. doi: 10.1016/j.mam.2012.12.009

Hung A. Y., Sheng M. PDZ domains: Structural modules for protein complex assembly. *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 5699–5702.

Katz D. A., Carr R., Grimm D. R., Xiong H., Holley-Shanks R., Mueller T., Leake B., Wang Q., Han L., Wang P. G., Edeki T., Sahelijo L., Doan T., Allen A., Spear B. B., Kim R. B. Organic anion transporting polypeptide 1B1 activity classified by SLCO1B1 genotype influences atrasentan pharmacokinetics. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006. Vol. 79. P. 186–196. doi: 10.1016/j.clpt.2005.11.003

Kim E., Sheng M. PDZ domain proteins of synapses. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. Vol. 5. P. 771–781. doi: 10.1038/nrn1517

König J., Cui Y., Nies A. T., Keppler D. Localization and genomic organization of a new hepatocellular organic anion transporting polypeptide. *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 23161–23168.

König J. Uptake transporters of the human OATP family. Molecular characteristics, substrates, their role in drug-drug interactions, and functional consequences of polymorphisms. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2011. Vol. 201. P. 1–28. doi: 10.1007/978-3-642-14541-4_1

Kusuhara H., Sugiyama Y. In vitro-in vivo extrapolation of transporter-mediated clearance in the liver and kidney. *Drug. Metab. Pharmacokinet.* 2009. Vol. 24 (1). P. 37–52.

Leuthold S., Hagenbuch B., Mohebbi N., Wagner C. A., Meier P. J., Stieger B. Mechanisms of pH-gradient driven transport mediated by organic anion polypeptide transporters. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009. Vol. 296, no. 3. P. 570–582. doi: 10.1152/ajpcell.00436.2008

Li L., Lee T. K., Meier P. J., Ballatori N. Identification of glutathione as a driving force and leukotriene C₄ as a substrate for oatp1, the hepatic sinusoidal organic solute transporter. *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273, no. 26. P. 16184–16191.

Li L., Meier P. J., Ballatori N. Oatp2 mediates bidirectional organic solute transport: a role for intracellular glutathione. *Molecular Pharmacology.* 2000. Vol. 58. P. 335–340.

Mandery K., Sticht H., Bujok K., Schmidt I., Fahrmayr C., Balk B., Fromm M. F., Glaeser H. Functional and structural relevance of conserved positively charged lysine residues in organic anion transporting polypeptide 1B3. *Mol. Pharmacol.* 2011. Vol. 80, no. 3. P. 400–406. doi: 10.1124/mol.111.071282

Meier-Abt F., Faulstich H., Hagenbuch B. Identification of phalloidin uptake systems of rat and human liver. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. Vol. 1664. P. 64–69. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.04.004

Meier-Abt F., Mokrab Y., Mizuguchi K. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLCO superfamily: identification of new members in nonmammalian species, comparative modeling and a potential transport mode. *J. Membr. Biol.* 2005. Vol. 208. P. 213–227. doi: 10.1007/s00232-005-7004-x

Meier-Abt F., Hammann-Hänni A., Stieger B., Ballatori N., Boyer J. L. The organic anion transport polypeptide 1d1 (Oatp1d1) mediates hepatocellular uptake of phalloidin and microcystin into skate liver. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2007. Vol. 218. P. 274–279. doi: 10.1016/j.taap.2006.11.015

Niemi M., Backman J. T., Neuvonen M., Neuvonen P. J. Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide: Potentially hazardous interaction between gemfibrozil and repaglinide. *Diabetologia.* 2003. Vol. 46. P. 347–351. doi: 10.1007/s00125-003-1034-7

Pizzagalli F., Hagenbuch B., Stieger B., Klenk U., Folkers G., Meier P. J. Identification of a novel human organic anion transporting polypeptide as a high affinity thyroxine transporter. *Mol. Endocrinol.* 2002. Vol. 16. P. 2283–2296. doi: 10.1210/me.2001-0309

Popovic M., Zaja R., Smital T. Organic anion transporting polypeptides (OATP) in zebrafish (*Danio rerio*): Phylogenetic analysis and tissue distribution. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A.* 2010. Vol. 155. P. 327–335. doi: 10.1016/j.cbpa.2009.11.011

Popovic M., Zaja R., Fent K., Smital T. Molecular Characterization of Zebrafish Oatp1d1 (*Slco1d1*), a Novel Organic Anion-transporting Polypeptide. *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 288. P. 33894–33911. doi: 10.1074/jbc.M113.518506

Reddy V. S., Shlykov M. A., Castillo R., Sun E. I., Saier M. H. Jr. The Major Facilitator Superfamily (MFS) Revisited. *FEBS J.* 2012. Vol. 279, no. 11. P. 2022–2035. doi:10.1111/j.1742-4658.2012.08588.x

Roth M., Obaidat A., Hagenbuch B. OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the *SLCO* and *SLC22A* gene superfamilies. *Br. J. Pharmacol.* 2012. Vol. 165. P. 1260–1287. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01724.x

Satlin L. M., Amin V., Wolkoff A. W. Organic anion transporting polypeptide mediates organic anion/HCO₃ exchange. *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 26340–26345.

Shi X., Bai S., Ford A. C., Burk R. D., Jacquemin E., Hagenbuch B., Meier P. J., Wolkoff A. W. Stable inducible expression of a functional rat liver organic anion transport protein in HeLa cells. *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, no. 43. P. 25591–25595.

Shitara Y., Maeda K., Ikejiri K., Yoshida K., Horie T., Sugiyama Y. Clinical significance of organic anion transporting polypeptides (OATPs) in drug disposition: their roles in hepatic clearance and intestinal absorption. *Biopharm. Drug Dispos.* 2013. Vol. 34 (1). P. 45–78. doi: 10.1002/bdd.1823

St.-Pierre M. V., Hagenbuch B., Ugele B., Meier P. J., Stallmach T. Characterization of an organic anion-transporting polypeptide (OATP-B) in human placenta. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002. Vol. 87. P. 1856–1863.

Steiner K., Hagenbuch B., Dietrich D. R. Molecular cloning and functional characterization of a rainbow trout liver Oatp. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2014. Vol. 280, no. 3. P. 534–542. doi: 10.1016/j.taap.2014.08.031

Steiner K., Zimmermann L., Hagenbuch B., Dietrich D. Zebrafish Oatp-mediated transport of microcystin congeners. *Arch. Toxicol.* 2016. Vol. 90. P. 1129–1139. doi: 10.1007/s00204-015-1544-3

Stieger B., Hagenbuch B. Organic Anion Transporting Polypeptides. *Curr. To. p Membr.* 2014. Vol. 73. P. 205–232. doi: 10.1016/B978-0-12-800223-0.00005-0

Szakacs G., Varadi A., Ozvegy-Laszka C., Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug. Discovery Today.* 2008. Vol. 13. P. 379–393. doi: 10.1016/j.drudis.2007.12.010

Tweedie D., Polli J. W., Berglund E. G., Huang S. M., Zhang L., Poirier A., Chu X., Feng B. Transporter studies in drug development: experience to date and follow-up on decision trees from the International Transporter Consortium. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2013. Vol. 94, no. 1. P. 113–125. doi: 10.1038/clpt.2013.77

Vega-Hissi E. G., Estrada M. R., Lavecchia M. J., PisDiez R. Computational chemical analysis of unconjugated bilirubin anions and insights into pKa values clarification. *J. Chem. Phys.* 2013. Vol. 138 (3): 035101. doi: 10.1063/1.4773586

Wang P., Wang J. J., Xiao Y., Murray J. W., Novikoff P. M., Angeletti R. H., Orr G. A., Lan D., Silver D. L., Wolkoff A. W. Interaction with PDZK1 is required for expression of organic anion transporting protein 1A1 on the hepatocyte surface. *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280, no. 34. P. 30143–30149. doi: 10.1074/jbc.M503969200

Wang P., Hata S., Xiao Y., Murray J. W., Wolkoff A. W. Topological assessment of oatp1a1: a 12-transmembrane domain integral membrane protein with three N-linked carbohydrate chains. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2008. Vol. 294 (4). P. G1052–1059. doi: 10.1152/ajpgi.00584.2007

Weaver Y. M., Hagenbuch B. Several conserved positively charged amino acids in OATP1B1 are involved in binding or translocation of different substrates. *J. Membr. Biol.* 2010. Vol. 236, no. 3. P. 279–290. doi: 10.1007/s00232-010-9300-3

Xiong H., Carr R. A., Locke C. S., Katz D. A., Achari R., Doan T. T., Wang P., Jankowski J. R., Sleep D. J. Dual effects of rifampin on the pharmacokinetics of atazanavir. *J. Clin. Pharmacol.* 2007. Vol. 47. P. 423–429. doi: 10.1177/0091270007299928

Yao J., Hong W., Huang J., Zhan K., Huang H., Hong M. N-Glycosylation dictates proper processing of organic anion transporting polypeptide 1B1. *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7, no. 12. P. e52563. doi: 10.1371/journal.pone.0052563

Ye F., Zhang M. Structures and target recognition modes of PDZ domains: Recurring themes and emerging pictures. *Biochem. J.* 2013. Vol. 455. P. 1–14. doi: 10.1042/BJ20130783

Zhang L., Zhang Y., Huang S. M. Scientific and regulatory perspectives on metabolizing enzyme-transporter interplay and its role in drug interactions: Challenges in predicting drug interactions. *Mol. Pharm.* 2009. Vol. 6. P. 1766–1774. doi: 10.1021/mp900132e

Received April 20, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: levps@rambler.ru
тел.: +79212263211

CONTRIBUTORS:

Smirnov, Lev

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

Суховская Ирина Викторовна

старший научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sukhovskaya@inbox.ru
тел.: 89052996049

Борвинская Екатерина Витальевна

научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: katsu@inbox.ru
тел.: (8142) 769810

Sukhovskaya, Irina

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

Borvinskaya, Ekaterina

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

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 574.24+597–111.11.05

ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ КАТИОНЫ В АДАПТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССАХ У ОКУНЯ *PERCA FLUVIATILIS* L. (PERCIDAE)

Р. А. Запруднова

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, Борок Ярославской обл.

Концентрацию ионов натрия и калия в эритроцитах окуня *Perca fluviatilis* L. сопоставляли с таковой у десяти других видов пресноводных рыб. Концентрацию катионов определяли методом пламенной фотометрии. Обосновано участие эритроцитарных катионов в буферных и дыхательных процессах, повышающих специфическую устойчивость окуня к неблагоприятным факторам. Среди исследуемых рыб самые высокие значения концентрации натрия в эритроцитах обнаружены у окуня и щуки, самых устойчивых к закислению воды рыб. Высокая концентрация натрия в красных кровяных клетках свидетельствует о высокой способности к защелачиванию внутриэритроцитарной среды и относится к одному из механизмов повышения устойчивости окуня к закислению воды. У окуня концентрация калия в эритроцитах находится у нижней границы диапазона, характерного для устойчивых к гипоксии рыб. Повышенный уровень калия в эритроцитах рассматривается в качестве одного из механизмов увеличения устойчивости окуня к гипоксии. Анализ литературного материала позволил выявить у морских рыб такое же, как и у пресноводных, участие эритроцитарного натрия в буферных процессах, а эритроцитарного калия – в дыхательных. При определении величины гематокрита обнаружены более высокие значения этого показателя у окуня в сравнении с представителями карповых и щукой. В работе проанализированы другие известные на настоящее время физиолого-биохимические механизмы повышения общей и специфической устойчивости окуня к неблагоприятным факторам.

Ключевые слова: натрий; калий; эритроциты; устойчивость к закислению, к гипоксии.

R. A. Zaprudnova. ERYTHROCYTE CATIONS IN THE ADAPTATION PROCESS IN PERCH *PERCA FLUVIATILIS* L. (PERCIDAE)

The concentration of sodium and potassium ions in erythrocytes in perch *Perca fluviatilis* L. was compared to that in ten other freshwater fish species. The cation concentration was determined by flame photometry. The participation of erythrocyte cations in the buffer and respiratory processes that promote the specific resistance of perch to unfavorable factors is substantiated. Among the investigated fish species, the highest sodium con-

centrations in red blood cells were found in perch and pike, who are the most resistant to water acidification. High sodium concentration in red blood cells indicates a high alkalization capacity of the erythrocytes' inner environment and is one of the mechanisms for enhanced resistance of perch to water acidification. In perch the potassium concentration in erythrocytes is at the lower limit of the range typical for fish resistant to hypoxia. A high potassium level in red blood cells is regarded as one of the mechanisms for promoting the tolerance of perch to hypoxia. Analysis of data from the literature revealed the same kind of participation of erythrocyte sodium in buffer processes and erythrocyte potassium in respiratory processes in marine fish as in freshwater fish. When determining the level of hematocrit, higher values of this parameter were found in perch as compared to other freshwater fish. Other known physiological and biochemical mechanisms for promoting total and specific resistance of perch to detrimental factors are also analyzed in the paper.

Key words: sodium; potassium; erythrocytes; resistance to acidification, hypoxia.

Введение

Окунь обладает высокой устойчивостью к закислению воды [Комов, 2007] и повышенной – к недостатку кислорода в воде [Лукьяненко, 1987]. В настоящее время известны некоторые физиолого-биохимические механизмы, повышающие специфическую устойчивость окуня к указанным неблагоприятным факторам: жаберные механизмы адаптации к низким рН воды [Виноградов, 2000; Evans et al., 2005] и эффективная гемоглобиновая буферная система, а также высокое сродство гемоглобина к кислороду, как и у других устойчивых к гипоксии рыб [Камшилов и др., 2014; Запруднова и др., 2015]. Однако роль ионного окружения гемоглобина в этих процессах изучена недостаточно.

В настоящей работе концентрацию ионов натрия и калия в эритроцитах у окуня сопоставляли с таковой у других видов пресноводных рыб с разной устойчивостью к закислению воды и недостатку в ней кислорода. Целью данной работы было выявление участия указанных выше ионов в буферных и дыхательных процессах и, таким образом, в обеспечении устойчивости окуня к низким рН воды и гипоксии.

Материалы и методы

Исследовали окуня обыкновенного *Perca fluviatilis* L. (сем. окуневые Percidae) с середины июня до начала сентября, главным образом из Рыбинского водохранилища, реже – из Куйбышевского и Волгоградского. Результаты исследований ионных показателей рыб из разных мест отлова из-за отсутствия различий объединены. Изучали половозрелых визуально здоровых особей обоего пола, длиной тела 130–240 мм, весом 90–310 г. Кровь от рыб брали сразу после отлова кратковременным (не более 15 мин) неводом.

Результаты, полученные на окуне, сопоставляли с таковыми на других видах рыб близкого возраста, в одинаковых сезонных и температурных условиях, иногда из одних мест отлова. Концентрацию ионов натрия и калия в эритроцитах определяли кроме окуня еще у 10 видов рыб. Основную часть материала собирали в 2006–2007 гг. Пресноводные костистые рыбы: карась серебряный *Carassius auratus gibeio* (Bloch), линь *Tinca tinca* L., сазан *Cyprinus carpio* L., плотва *Rutilus rutilus* L., лещ *Abramis brama* L., язь *Leuciscus idus*, чехонь *Pelecus cultratus* L., синец *Abramis ballerus* L. – сем. карповые Cyprinidae; щука *Esox lucius* L. – сем. щуковые Esocidae. Пресноводные хрящекостные рыбы: стерлядь *Acipenser ruthenus* L. – сем. осетровые Acipenseridae.

Кровь после каудотомии собирали в пробирки, смоченные гепарином, и центрифугировали при 1800 г 30 мин. Всю плазму вместе с верхним слоем лейкоцитов и эритроцитов удаляли. Эритроциты разводили в 500 раз дистиллированной водой и выдерживали в холодильнике при 4 °С не менее 2 суток до полного гемолиза.

Концентрацию ионов натрия и калия анализировали на пламенном фотометре Flapho-4 фирмы Carl Zeiss (Jena, Германия) в воздушно-пропановом пламени.

У окуня, леща, плотвы и щуки определяли также величину гематокрита на микроцентрифуге МЦГ-8. Опыты проводили в октябре на рыбах весом 50–90 г, адаптированных к лабораторным условиям не менее двух недель (соотношение массы тела и воды в аквариумах 1:200 и более, 100% насыщение воды кислородом).

Статистическую обработку данных проводили по общепринятым методикам [Лакин, 1980]. В работе представлены средние значения концентрации ионов и гематокрита и ошибка средней. Проверку на нормальность распределения в выборках проводили с использованием критерия Шапиро – Уилка. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

Концентрация катионов в эритроцитах некоторых пресноводных рыб, ммоль/л

	Натрий	Калий	n
Окунь	54,3 ± 1,8	89,1 ± 2,1	16
Щука	65,6 ± 1,9	65,7 ± 2,2	15
Лещ	39,4 ± 1,0	86,0 ± 0,8	27
Сазан	39,8 ± 0,9	91,0 ± 0,9	6
Плотва	38,7 ± 1,1	85,1 ± 0,7	13
Синец	37,9 ± 1,3	84,2 ± 1,2	10
Карась	29,4 ± 1,4	92,7 ± 0,8	16
Линь	28,5 ± 1,6	94,8 ± 1,1	17
Чехонь	41,4 ± 2,0	85,6 ± 2,1	4
Язь	39,8 ± 1,9	83,9 ± 1,9	3
Стерлядь	18,2 ± 1,4	111 ± 2	12

Результаты и обсуждение

Концентрация натрия в эритроцитах.

Окунь отличается высокой устойчивостью к закислению воды: может обитать при pH 3,5 [Комов, 2007]. В литературе достаточно хорошо освещены жаберные механизмы адаптации окуня к низким pH воды, состоящие в низкой чувствительности Na^+/H^+ обмена через жабры к закислению воды [Виноградов, 2000; Evans et al., 2005]. Окунь обладает также эффективной гемоглобиновой буферной системой в адаптации к низким значениям pH среды, предохраняющей внутреннюю среду от закисления [Камшилов и др., 2014; Запруднова и др., 2015].

Известно [Солдатов, 2003], что основным способом регуляции pH среды внутри красных кровяных клеток является Na^+/H^+ обмен через мембрану эритроцитов. Об интенсивности Na^+/H^+ обмена через мембрану красных кровяных клеток в настоящей работе косвенно судили по концентрации натрия в эритроцитах. Наиболее сильной способностью к повышению pH среды внутри эритроцитов обладали окунь и щука (табл.), т. е. виды, наиболее устойчивые к закислению воды. У стерляди, представителя неустойчивых к закислению воды осетровых [Строганов, 1962, 1968], – минимальная концентрация натрия в эритроцитах. У остальных исследуемых нами пресноводных рыб, относящихся к среднеустойчивым к низким pH воды (леща, сазана, плотвы, синца, карася, линя, язя, чехони), – промежуточные значения концентрации натрия в красных кровяных клетках (различия статистически значимы $p \leq 0,01$), что указывает на среднюю интенсивность обмена Na^+/H^+ в эритроцитах в сравнении с вышеописанными видами.

Анализ литературного материала позволяет заключить, что у морских рыб имеет место такая же связь уровня натрия в эритроцитах с кислотоустойчивостью, что и у пресноводных.

Известно, например, что акулы неустойчивы к закислению воды [Строганов, 1962]. Концентрация натрия в эритроцитах морской лисицы (*Raja clavata*), морского кота (*Dasyatis pastinaca*) и катрана (*Squalus acanthias*) находится в диапазоне 11,4–15,5 ммоль/л. У морских костистых рыб, более устойчивых к закислению, чем акулы, концентрация натрия в красных кровяных клетках в 2–3 раза выше [Силкин, Солюс, 1987].

Необходимо также указать на такие свойства окуня, как каннибализм и факультативное хищничество, которые в значительной степени позволяют ему быть единственным представителем ихтиофауны в кислых озерах.

Концентрация калия в эритроцитах.

Окунь относительно устойчив к недостатку кислорода в воде: нормальная жизнедеятельность его возможна при содержании кислорода в воде до 3 мг/л. Кроме того, у этого вида сравнительно большой разрыв между критическим и пороговым содержанием кислорода, что делает его менее уязвимым к изменениям кислородного режима. Кислородные потребности окуня существенно зависят от температуры воды: при низких температурах пороговое содержание кислорода у окуня примерно такое же, как и у карася, а при высоких – как у плотвы и щуки [Лукьяненко, 1987].

Известно [Jensen, 1992], что существует обратная зависимость между концентрацией калия в эритроцитах и содержанием кислорода в крови и концентрацией оксигемоглобина, а также прямая зависимость между концентрацией калия и дезоксигемоглобина в эритроцитах. Самый низкий уровень калия в эритроцитах – у щуки (табл.), в связи с гипероксией крови из-за большой поверхности жабр для обмена газами [Матей, 1996]. Самый высокий уровень калия в эритроцитах – у стерляди, которая, как и другие осетровые, может находиться без воды в течение нескольких часов [Строганов,

1962, 1968; Запруднова, Камшилов, 2010]. Остальные исследуемые виды рыб по концентрации калия в эритроцитах (диапазон колебания 83,9–94,8 ммоль/л) находятся в промежуточном положении между щукой и стерлядью, достоверно от них отличаясь ($p \leq 0,01$). У рыб, устойчивых к гипоксии, – стерляди, карася, линя, сазана (табл.), а также сома *Silurus glanis* (90 ммоль/л) и угря *Anguilla anguilla* (105 ммоль/л) [Мартемьянов, 1992] – уровень калия в эритроцитах превышал таковой у рыб со средней и низкой устойчивостью к недостатку кислорода в воде (чехони, язя, синца, плотвы, леща) и колебался в пределах 90–111 ммоль/л. У окуня концентрация калия в эритроцитах находится возле нижней границы диапазона, характерного для устойчивых к гипоксии рыб, при этом различия с синцом и плотвой статистически значимы ($p \leq 0,05$). Из устойчивых к гипоксии рыб концентрация калия в эритроцитах достоверно отличается от окуневой только у линя и стерляди, а также, при сравнении с литературными данными [Мартемьянов, 1992], у угря. Повышенная концентрация калия в эритроцитах связывается с оптимальной работой гемоглобина в гипоксических условиях, характерных для рыб, устойчивых к недостатку кислорода в воде.

Анализ литературного материала позволяет заключить, что у морских рыб такая же связь концентрации калия в эритроцитах с дыхательными свойствами, что и у пресноводных. Так, у акул, устойчивых к гипоксии, высокий уровень калия в эритроцитах: 94–117 ммоль/л [Силкин, Солюс, 1987]. Среди костистых рыб, различающихся уровнем потребления кислорода, тоже существуют различия в концентрации калия в эритроцитах, например, у малоподвижной донной рыбы скорпены *Scorpaena porcus* – 103 ммоль/л, а у активной пелагической ставриды *Trachurus mediterraneus* – 80–94 ммоль/л [Силкин, Силкина, 2005].

При измерении величины гематокрита у некоторых пресноводных рыб обнаружено, что у окуня – более высокий гематокрит ($44 \pm 1,3 \%$), чем у плотвы ($34 \pm 1,7 \%$), леща ($36 \pm 1,4 \%$) и щуки ($35 \pm 1,9 \%$). Различия статистически значимы, $p \leq 0,01$. Это позволяет предполагать более высокое содержание гемоглобина в крови у этого вида рыб в сравнении с представителями карповых и щукой и, следовательно, лучшее обеспечение организма окуня кислородом.

У окуня, так же как и у устойчивых к гипоксии угря, карася, сома, линя, высокое сродство гемоглобина к кислороду, вплоть до неполной дезоксигенации в щелочном буферном растворе [Камшилов и др., 2014; Запруднова и др.,

2015]. Эта особенность гемоглобиновой системы является важным молекулярным механизмом адаптации к гипоксии, обеспечивающим уменьшение потребления кислорода организмом. Диапазон окси-, дезоксигенации гемоглобина при изменении кислотности и концентрации буферного раствора у окуня самый большой среди известных нам рыб. Так, самое высокое сродство гемоглобина к кислороду отличается от самого низкого у окуня в 122 раза, у других костистых рыб – в 16–24 раза, а у осетровых – в 2–3 раза.

Окунь обладает также и другими физиолого-биохимическими особенностями, обеспечивающими ему высокую выживаемость в неблагоприятных условиях. В частности, известно [Романенко и др., 2011], что у окуня повышенная способность к утилизации и ресинтезу макроэргических веществ, превосходящая ее у других пресноводных рыб и сопоставимая с таковой у агрессивных инвазионных видов. На высокий энергетический потенциал окуня указывает также высокий уровень натриемии, превосходящий этот показатель у других пресноводных рыб [Запруднова, Мартемьянов, 1988]. Высокий уровень энергетики окуня можно рассматривать в качестве неспецифического механизма повышения общей жизнеспособности и устойчивости к разного рода неблагоприятным факторам. С большим энергетическим потенциалом у окуня может быть связана повышенная скорость различных метаболических процессов. В частности, у окуня быстрее, чем у представителей карповых рыб и щуки, выводятся продукты распада введенных бактерий [Балабанова, 1979], что, в свою очередь, может указывать на большую устойчивость окуня к болезням. Кроме того, у окуня выявлена более высокая, чем у других видов рыб, устойчивость пищеварительных ферментов к гербицидам [Голованова, Аминов, 2013], что является одним из механизмов большей устойчивости к антропогенным загрязнителям.

Выводы

Среди исследуемых рыб самые высокие значения концентрации натрия в эритроцитах обнаружены у окуня и щуки, самых устойчивых к закислению воды рыб. Высокая концентрация натрия в красных кровяных клетках свидетельствует о высокой способности к повышению величины pH внутри эритроцитов и относится к одному из механизмов увеличения устойчивости рыб к закислению воды.

У окуня концентрация калия в эритроцитах находится у нижней границы диапазона,

характерного для устойчивых к гипоксии рыб. Повышенный уровень калия в эритроцитах рассматривается в качестве одного из механизмов увеличения устойчивости рыб к гипоксии.

Величина гематокрита у окуня выше, чем у представителей карповых и щуки, что позволяет предполагать более высокое содержание гемоглобина в крови у этого вида рыб и, следовательно, лучшее обеспечение организма кислородом.

Литература

Балабанова Л. В. Судьба парентерально введенных бактерий в организме рыб // Труды ИБВВ АН СССР. Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979. Вып. 38 (41). С. 88–104.

Виноградов Г. А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб. М.: Наука, 2000. 216 с.

Голованова И. Л., Аминов А. И. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз молоди рыб и их кормовых объектов при различных значениях температуры и pH // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2013. № 1. С. 129–134.

Запруднова Р. А., Камшилов И. М. Буферные и дыхательные свойства и ионное окружение гемоглобина стерляди *Acipenser ruthenus* // Журнал эвол. биохим. и физиол. 2010. Т. 46, № 3. С. 242–244.

Запруднова Р. А., Камшилов И. М., Чалов Ю. П. Функциональные свойства гемоглобина в адаптации рыб к низким значениям pH среды // Биол. внутр. вод. 2015. № 2. С. 91–98.

Запруднова Р. А., Мартемьянов В. И. Сезонные изменения концентрации катионов в плазме крови пресноводных рыб // Вопросы ихтиологии. 1988. Т. 28, № 4. С. 671–676.

Камшилов И. М., Запруднова Р. А., Чалов Ю. П. Функциональные свойства гемоглобина окуня (*Perca fluviatilis* L.) // Биология внутренних вод. 2014. № 4. С. 83–85.

Комов В. Т. Причины и последствия антропогенного закисления озер. Нижний Новгород: Вектор-Тис, 2007. 112 с.

Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.

Лукияненко В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. М.: Агропромиздат, 1987. 240 с.

Матей В. Е. Жабры пресноводных костистых рыб. СПб.: Наука, 1996. 204 с.

Мартемьянов В. И. Содержание катионов в плазме, эритроцитах и мышечной ткани рыб Волжского плеса Рыбинского водохранилища // Журнал эвол. биохим. и физиол. 1992. Т. 28, № 5. С. 576–581.

Романенко В. Д., Потрохов А. С., Зинковский О. Г. Влияние условий обитания некоторых инвазионных и аборигенных видов рыб на активность ферментов их энергетического обмена // Современное состояние биоресурсов внутренних водоемов. I Всерос. конф. (Борок, 12–16 сент. 2011 г.). М.: АКВАРОС, 2011. Т. 2. С. 666–673.

Силкин Ю. А., Силкина Е. Н. Влияние гипоксии на физиолого-биохимические показатели крови некоторых морских рыб // Журнал эвол. биохим. и физиол. 2005. Т. 41, № 5. С. 421–425.

Силкин Ю. А., Солюс А. А. Неорганические катионы в эритроцитах пластиножаберных и костистых рыб Черного моря // Журнал эвол. биохим. и физиол. 1987. Т. 23, № 2. С. 263–266.

Солдатов А. А. Влияние температуры, pH и органических фосфатов на гемоглобины рыб // Журнал эвол. биохим. и физиол. 2003. Т. 39, № 2. С. 121–127.

Строганов Н. С. Экологическая физиология рыб. М.: МГУ, 1962. 444 с.

Строганов Н. С. Акклиматизация и выращивание осетровых рыб в прудах. М.: МГУ, 1968. 377 с.

Evans D. H., Piermarini P. M., Choe K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acidbase regulation, and excretion of nitrogenous waste // *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 97–177.

Jensen F. B. Influence of hemoglobin conformation, nitrite and eicosanoids on K transport across the carp red blood cell membrane // *J. Exp. Biol.* 1992. Vol. 171. P. 349–371.

Поступила в редакцию 10.02.2017

References

Balabanova L. V. Sud'ba parenteral'no vvedennykh bakterii v organizme ryb. Fiziologiya i parazitologiya presnovodnykh zhivotnykh [Future of bacteria introduced parenterally in fish. Physiology and parasitology of freshwater animals]. *Trudy IBVV AN SSSR [Proceed. of the Inst. for Biol. of Inland Waters, USSR Acad. of Sci.]*. Leningrad: Nauka, 1979. Iss. 38 (41). P. 88–104.

Golovanova I. L., Aminov A. I. Vliyanie gerbitsida Raundap na aktivnost' glikozidaz molodi ryb i ikh kormovykh ob'ektov pri razlichnykh znacheniyakh temperatury i pH [The influence of the herbicide Roundup on the activity of glycosidases of juvenile fish and their prey

at different temperatures and pH]. *Vestnik AGTU. Seriya: Rybnoe khozyaystvo [Vestnik of ASTU. Series: Fishing Industry]*. 2013. No. 1. P. 129–134.

Kamshilov I. M., Zaprudnova R. A., Chalov Yu. P. Funktsional'nye svoistva gemoglobina okunya (*Perca fluviatilis* L.) [Functional properties of hemoglobin in the perch (*Perca fluviatilis* L.)]. *Biologiya vnutr. vod [Inland Water Biology]*. 2014. Vol. 7, no. 4. P. 394–396. doi: 10.1134/S1995082914040051

Komov V. T. Prichiny i posledstviya antropogennogo zakisleniya ozer [Causes and consequences of anthropogenic acidification of lakes]. *Nizhniy Novgorod: Vektor-Tis*, 2007. 112 p.

Lakin G. F. Biometriya [Biometrics]. Moscow: Vysshaya shkola, 1980. 293 p.

Luk'yanenko V. I. Ekologicheskie aspekty ikhtiotoksikologii [Ecological aspects of ichthyotoxicology]. Moscow: Agropromizdat, 1987. 240 p.

Matey V. E. Zhabry presnovodnykh kostistyxh ryb [Gills of freshwater teleost fish]. St. Petersburg: Nauka, 1996. 204 p.

Martem'yanov V. I. Soderzhanie kationov v plazme, eritrotsitakh i myshechnoy tkani ryb Volzhskogo plesa Rybinskogo vodokhranilishcha [Content of cations in plasma, red blood cells and muscle tissue of fish in the Volga reach of the Rybinsk Reservoir]. *Zhurnal evol. biokhim. i fiziol.* [Journal of Evol. Biochemistry and Physiology]. 1992. Vol. 28, no. 5. P. 576–581.

Romanenko V. D., Potrokhov A. S., Zin'kovskiy O. G. Vliyanie usloviy obitaniya nekotorykh invazionnykh i aborigennykh vidov ryb na aktivnost' fermentov ikh energeticheskogo obmena [Impact of habitat conditions of some invasive and native species of fish on the activity of their energy metabolism enzymes]. Sovremennoe sostoyanie bioresursov vnutrennikh vodoemov. I Vseros. konf. (Borok, 12–16 sent. 2011 g.) [The Current State of Inland Water Biological Resources (Borok, September 12–16, 2011)]. Moscow: AKVAROS, 2011. Vol. 2. P. 666–673.

Silkin Y. A., Silkina E. N. Vliyanie gipoksii na fiziologo-biokhimicheskie pokazateli krovi nekotorykh morskikh ryb [Effect of hypoxia on physiological and biochemical indices of some marine fish blood]. *Zhurnal evol. biokhim. i fiziol.* [Journal of Evol. Biochemistry and Physiology]. 2005. Vol. 41, no. 5. P. 421–425.

Silkin Y. A., Solyus A. A. Neorganicheskie kationy v eritrotsitakh plastinozhabernykh i kostistyxh ryb Chernogo morya [Inorganic cations in erythrocytes of elasmobranch and teleost fish of the Black Sea]. *Zhurnal evol. biokhim. i fiziol.* [Journal of Evol. Biochemistry and Physiology]. 1987. Vol. 23, no. 2. P. 263–266.

Soldatov A. A. Vliyanie temperatury, pH i organicheskikh fosfatov na gemoglobiny ryb [Impact of temperature, pH and organic phosphates on fish hemoglobin].

Zhurnal evol. biokhim. i fiziol. [Journal of Evol. Biochemistry and Physiology]. 2003. Vol. 39, no. 2. P. 121–127.

Stroganov N. S. Ekologicheskaya fiziologiya ryb [Ecological physiology of fish]. Moscow: MGU, 1962. 444 p.

Stroganov N. S. Akklimatizatsiya i vyrashchivanie osetrovnykh ryb v prudakh [Sturgeons acclimatization and breeding in ponds]. Moscow: MGU, 1968. 377 p.

Vinogradov G. A. Protsessy ionnoy regulyatsii u presnovodnykh ryb [Processes of ion regulation in freshwater fish]. Moscow: Nauka, 2000. 216 p.

Zaprudnova R. A., Kamshilov I. M. Bufernye i dykhatel'nye svoistva i ionnoe okruzhenie gemoglobina sterlyadi *Acipenser ruthenus* [Buffer and respiratory properties and ion surrounding of hemoglobin of the sterlet *Acipenser ruthenus*]. *Zhurnal evol. biokhim. i fiziol.* [Journal of Evol. Biochemistry and Physiology]. 2010. Vol. 46, no. 3. P. 242–244.

Zaprudnova R. A., Kamshilov I. M., Chalov Yu. P. Funktsional'nye svoistva gemoglobina v adaptatsii ryb k nizkim znacheniyam pH sredy [Functional properties of hemoglobin during fish adaptation to low environmental pH]. *Biolog. vnutren. vod* [Inland Water Biology]. 2015. Vol. 8, no. 2. P. 188–194. doi: 10.1134/S1995082915020157

Zaprudnova R. A., Martem'yanov V. I. Sezonnye izmeneniya kontsentratsii kationov v plazme krovi presnovodnykh ryb [Seasonal changes in cation concentration in blood plasma of freshwater fish]. *Voprosy ikhtiologii* [Journal of Ichthyology]. 1988. Vol. 28, no. 4. P. 671–676.

Evans D. H., Piermarini P. M., Choe K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acidbase regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 97–177.

Jensen F. B. Influence of hemoglobin conformation, nitrite and eicosanoids on K transport across the carp red blood cell membrane. *J. Exp. Biol.* 1992. Vol. 171. P. 349–371.

Received February 10, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Запруднава Римма Анатольевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия 152742
эл. почта: rimma@ibw.yaroslavl.ru
тел.: (48547) 24339

CONTRIBUTOR:

Zaprudnova, Rimma

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS
(IBW RAS)
Borok, Nekouzsky District, Yaroslavl Region, Russia 152742
e-mail: rimma@ibw.yaroslavl.ru
tel.: (48547) 24339

УДК 577.15:57.017.64

К ВОПРОСУ О РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ: ЯЙЦЕКЛЕТКИ ГОРБУШИ (*ONCORHYNCHUS GORBUSCHA*)

Л. А. Лысенко, Н. П. Канцерова, М. Ю. Крупнова,
Д. А. Ефремов, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Исследование, проведенное на неоплодотворенной икре горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*, сем. Salmonidae), было посвящено поиску причин отмеченного ранее феномена дифференциации эмбрионов и ранних личинок лососевых рыб по уровню метаболизма, двигательной активности и особенностям взаимодействия со средой обитания. Для выяснения возможных материнских эффектов было проведено сравнение размерных показателей и уровней активности протеолитических ферментов – лизосомальных катепсинов В и D и кальцийзависимых протеиназ (кальпаинов) – в яйцеклетках разной локализации: из передней, средней и задней третей яичников нерестящихся самок *O. gorbuscha*. Ранее проведенная характеристика протеолитического аппарата рыб показала исключительную важность указанных ферментов в регуляции роста и метаболических процессов в неоплодотворенной и оплодотворенной икре рыб. В нашем эксперименте не была выявлена достоверная индивидуальная вариабельность икринок из разных частей яичника как по массе, так и по уровню активности внутриклеточных протеиназ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что причину физиологических и морфологических различий молоди лососевых, проявляющихся на эмбриональном и раннем постэмбриональном этапах ее развития, следует искать, по-видимому, в генетической гетерогенности оплодотворенного материала или его взаимодействиях со средой, но не в различии темпов роста и созревания яйцеклеток в яичниках рыб.

Ключевые слова: кальпаины; катепсины; яйцеклетки; яичник; материнские эффекты; *O. gorbuscha*.

L. A. Lysenko, N. P. Kantserova, M. Yu. Krupnova, D. A. Efremov, N. N. Nemova. ON THE PROBLEM OF REPRODUCTIVE PRODUCTS HETEROGENEITY IN SALMONID FISH: PINK SALMON (*ONCORHYNCHUS GORBUSCHA*) EGGS CASE-STUDY

The study on unfertilized eggs of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*, Salmonidae) was designed to determine the mechanism underlying the previously reported phenomenon of heterogeneity of salmonid embryos and early larvae in terms of the metabolic rate, locomotor activity and their particular relations with the ambient environment. In order to reveal possible maternal effects, a comparison of size parameters and the activities of proteolytic enzymes, such as lysosomal cathepsins B and D and calcium-dependent calpains, in eggs from different locations (from the front, middle and rear thirds of the ovaries of spawning *O. gorbuscha* females) was conducted. Earlier characterization of

the fish proteolytic machinery showed an utter importance of the named enzymes in the regulation of growth and metabolic processes in unfertilized and fertilized eggs. In our experiment no reliable individual variability of eggs from different egg mass parts either in size or in intracellular protease activity levels was detected. The obtained results suggest that the cause for differentiation of young salmonids in physiology and morphology obvious at embryogenesis and early post-embryogenesis should be apparently searched through the genetic variability of fertilized material or its interactions with the environment but not in the difference of growth and maturation rates in fish ovaries.

Key words: calpains; cathepsins; oocytes; ovary; maternal effects; *O. gorbuscha*.

Введение

Внутривидовая фенотипическая разнокачественность молоди лососевых рыб родов *Salmo*, *Oncorhynchus*, *Salvelinus*, особенно ярко проявляющаяся в речной период их жизни в ходе активного расселения личинок по разным биотопам, до сих пор не получила должного объяснения. Согласно наблюдениям [Grant, Noakes, 1988; Веселов, Калюжин, 2001; Павлов и др., 2008, 2012; Nemova et al., 2017], к моменту выбора местообитания среди личинок одной генерации выделяются две фенотипические группировки: первая остается для нагула в основном русле реки, вблизи нерестовых гнезд, вторая мигрирует в мелководные притоки реки. Развиваясь в микробиотопах с разной кормовой базой, скоростями течения, температурой воды и силой внутривидовой конкуренции, субпопуляции лососевых приобретают еще более выраженные различия [Grant, Noakes, 1988; Metcalfe et al., 1988; Erkinaro, Niemelä, 1995; McCarthy, 2001; Павлов и др., 2008; Nemova et al., 2017]. Дифференциация ранних личинок затрагивает их поведенческие, меристические, физиологические и биохимические признаки и обычно имеет бимодальный характер [Nicieza et al., 1994; Utrilla, Lobon-Cervia, 1999]. О механизмах формирования индивидуальной разнокачественности личинок лососевых известно немного [Primmer et al., 2006; Павлов и др., 2010; Пономарева, 2014], а сроки первичной ее манифестации четко не установлены. По Г. В. Никольскому [1974], исходным моментом возникновения индивидуальных различий особей может служить разнокачественность половых продуктов, прежде всего икры, по содержанию белковых и липидных резервов. Можно предположить, что уже на стадии оогенеза яйцеклетки из разных частей яичников самок различаются темпами роста и сроками созревания в силу разной плотности гормональных сигналов и неравномерного их снабжения трофическими веществами [Suter, 2002; Burton et al., 2013]. В итоге самка может выметать икринки, различающиеся размером

и уровнем запасных веществ, обеспечивающих трофику эмбриона и личинки на эмбриональном и раннем постэмбриональном этапах развития, и обладающие, вследствие этого, разными стартовыми возможностями для развития. Внутриклеточная белковая деградация, необходимая для резорбции резервных веществ, обновления клеточных структур и контроля качества синтезируемых белков, является, по существу, процессом, антагонистичным синтезу белка и его накоплению, поэтому интенсивность протеолиза может определять скорость роста и накопления белковой массы как в целом организме, так и в отдельных его тканях и клетках. В растущем организме (ткани, клетке) степень гидролиза белковых компонентов обычно связана прямой зависимостью с интенсивностью процессов биосинтеза, но не превышает последнюю [Fraser, Rogers, 2007]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что активность основных ассоциированных с ростовыми процессами внутриклеточных протеиназ – катепсинов В и D, Ca²⁺-зависимых протеиназ (кальпаинов) – достаточно четко коррелирует с темпами роста рыб [Overturf, Gaylord, 2009; Torrissen et al., 2014; Лысенко и др., 2015], их мышечной ткани [Johnston et al., 2011; Немова и др., 2016; Lysenko et al., в печати], а также, вероятно, и таких крупных и богатых белками клеток, как яйцеклетки. С учетом вышесказанного целью настоящей работы был поиск различий – морфологических и по уровню протеолитической активности внутриклеточных протеиназ (кальпаинов, катепсинов В и D) – между яйцеклетками из разных порций икры (передней, средней и задней трети яичников) горбуши, *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum, 1792 (сем. Salmonidae).

Материалы и методы

В работе использовались химические реагенты, ингибиторы и субстраты протеиназ, произведенные Sigma-Aldrich (США); приборы ЦКП ИО ИБ КарНЦ РАН: гомогенизатор Tissue Lyser LT (Qiagen, Германия), микроцентрифуга 5417R

(Eppendorf, Германия), твердотельный термостат CH-100 (BioSan, Латвия), спектрофотометр СФ-2000 (ЗАО «ОКБ-Спектр», Россия).

Объекты исследований. В исследовании использовались гонады (вес $261,87 \pm 9,11$ г, стадия зрелости 4–5, 5), полученные от четырех нерестящихся самок горбуши *O. gorbuscha* (сем. Salmonidae; масса $1240,07 \pm 68,18$ г, длина $48,86 \pm 3,29$ см), выловленных в р. Индера (бассейн Белого моря, Кольский п-ов) в августе 2015 г. Икринки из разных порций (передней, средней, задней третьей яичников) отделялись от соединительнотканной оболочки, взвешивались (табл.), замораживались в жидком азоте и анализировались индивидуально.

Экстракция и анализ протеолитической активности кальпаинов (ЕС 3.4.22.53).

Растворимые и мембраносвязанные белки икринок экстрагировались путем гомогенизации в 20 мМ Трис-НСI-буфере (рН 7,5) с добавлением 150 мМ NaCl, 5 мМ ЭДТА-Na, 20 мМ дитиотреитола (ДТТ), 0,1% неионного детергента тритон X-100, смеси ингибиторов протеиназ (1 мМ PMSF, 1 мкг/мл лейпептина, 1 мкг/мл пепстатина) в соотношении 1:10 (вес/объем) и центрифугирования (20000 г, 20 мин). В надосадочной жидкости тестировалась активность кальпаинов – кальцийзависимая казеинолитическая активность, чувствительная к ингибиторам цистеиновых протеиназ [Enns, Velcastro, 2006]. Реакционная смесь, общим объемом 500 мкл, включала 0,5 мг белкового субстрата (денатурированного щелочью казеина), 20 мМ ДТТ, 200 мкл ферментной фракции и 2,5 мМ CaCl₂ (Ca²⁺-зависимая активность) или хелатора ионизированного кальция ЭДТА-Na (Ca²⁺-независимая активность) в 50 мМ Трис-НСI-буфере (рН 7,5). После 30-мин инкубации (28 °С) в аликвотах объемом 100 мкл определялось содержание остаточного белка по методу Брэдфорд [Bradford, 1976]. За единицу активности (ед. акт.) кальпаинов принималось количество фермента, вызывающее увеличение оптического поглощения при 595 нм на 0,1 ОЕ за 1 ч реакции в указанных условиях. Удельная активность кальпаинов рассчитывалась на 1 мг белка соответствующей фракции.

Экстракция лизосомальных ферментов и определение активности катепсинов В (ЕС 3.4.22.1) и D (ЕС 3.4.23.5).

Тотальные экстракты цитозольных и лизосомальных белков икринок получались путем их гомогенизации в 0,25 М растворе сахарозы (рН 7,4), включавшем 5 мМ ЭДТА и 0,1 % тритона X-100, взятых в соотношении 1:10 (вес/объем), и центрифугирования при 10000 г (+4 °С, 30 мин.). В полученном супернатанте определялась

активность катепсинов и содержание белка. Пептидазная активность катепсина В оценивалась по гидролизу 65 мМ этилового эфира D-бензоил L-Arg гидрохлорида (BAEE) в 200 мМ ацетатном буфере (рН 5,0) при 37 °С, как ранее описано [Лысенко и др., 2015]. Протеолитическая активность катепсина D определялась по степени гидролиза 1%-го раствора бычьего гемоглобина в 100 мМ ацетатном буфере (рН 3,6) за 30 мин инкубации при 37 °С согласно усовершенствованному методу М. Ансона [Anson, 1938; Лысенко и др., 2015]; по истечении заданного времени реакция терминировалась добавлением эквивалентного объема 10%-й трихлоруксусной кислоты. Активность катепсинов В и D (ед. акт.) измерялась в единицах оптической плотности продуктов реакции при 525 и 280 нм соответственно в пересчете на 1 мг белка соответствующей фракции.

Статистическая обработка результатов.

Полученные данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакетов программ MS Excel и StatGraphics. Распределение данных отличалось от нормального, поэтому достоверность различий между группами оценивалась с помощью непараметрического критерия U (Вилкоксона – Манна – Уитни).

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного анализа массы и биохимических параметров икринок горбуши приведены в таблице. Достоверных отличий по массе икринок из разных порций икры (передней, средней и задней третьей яичников) обнаружено не было. По всей видимости, сходный темп роста яйцеклеток различной локализации достигается за счет равного их снабжения пластическим материалом и сходных возможностей для запасаения трофических веществ.

Также не было найдено достоверных индивидуальных различий между икринками горбуши по уровню активности внутриклеточных протеиназ. В целом активность катепсинов и кальпаинов в растущих яйцеклетках сравнительно невысока, в отличие от других органов, служащих источником пластических веществ для роста гонад [Немова и др., 1980, 2010; Mommsen, 2004]. В яйцеклетках рыб лизосомальный компартмент представлен мультивезикулярными тельцами (МВТ), в которых катепсин В и катепсин D солокализуются с основными запасными белками – вителлогенинами. В период вителлогенеза – роста яйцеклеток и накопления в них резервных белковых и липидных веществ – внутри МВТ поддерживается

Размерно-массовые показатели и активность внутриклеточных протеиназ в яйцеклетках из разных частей яичников горбуши *O. gorbuscha*

Показатель	Часть яичника		
	передняя (n=4)	средняя (n=4)	задняя (n=4)
масса икринки, г	0,121 ± 0,006	0,127 ± 0,009	0,126 ± 0,007
активность катепсина В, ед. акт.	6,9 ± 0,51	6,6 ± 0,80	6,9 ± 0,65
активность катепсина D, ед. акт.	0,9 ± 0,13	0,6 ± 0,15	0,9 ± 0,15
активность кальпаинов, ед. акт.	87,44 ± 34,34	64,60 ± 35,60	45,81 ± 17,75
содержание белка, мг/г ткани	2,1 ± 0,31	1,7 ± 0,18	2,0 ± 0,20

Примечание. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение. Достоверность различий между группами оценивалась при помощи критерия U Манна –Уитни.

нейтральный рН и протеиназы находятся в неактивной форме. Активация катепсинов В и D, наблюдающаяся на этапе созревания ооцитов и необходимая для гидролиза вителлогенинов и белков желтка [Kwon et al., 2001; Hiramatsu et al., 2002; Raldúa et al., 2006], происходит за счет закисления содержимого МВТ [Raldúa et al., 2006]. Кальпаины, локализованные в цитозоле, проявляют гидролизующую способность по отношению к структурным и регуляторным белкам, содействуя поддержанию протеостаза в клетке. Финальный этап оогенеза – созревание яйцеклеток, переход к мейотическим делениям – сопровождается резким подъемом уровня Ca^{2+} и иницируемой им активацией кальпаинов [Santella et al., 2000]. При отсутствии данных об активности катепсинов и кальпаинов на более ранних сроках сложно указать точный этап развития исследованного материала. Вместе с тем, учитывая отсутствие вариабельности между яйцеклетками различной локализации по уровню активности протеиназ, можно заключить, что они находятся на одной и той же стадии зрелости, то есть им свойствен синхронный тип созревания.

Сходная активность кальпаинов, катепсина В и катепсина D в исследованных яйцеклетках, несмотря на принадлежность этих протеиназ к разным каталитическим типам (первых двух – к цистеиновому, последнего – к аспартатному), свидетельствует об общих механизмах регуляции кальпаинового и лизосомально-аутофагического протеолитических путей в растущих яйцеклетках. Непосредственными регуляторами скорости роста яйцеклеток (накопления в них белков) и их созревания являются вещества, одновременно воздействующие на интенсивность протеолиза – гормон роста и катехоламины на этапе вителлогенеза [Björnsson et al., 2002; Fuentes et al., 2013] и половые стероиды на этапе созревания [Cleveland, Weber, 2011]. Характерно, что именно уровень катехоламинов и кортикостероидов признан первичным различительным признаком будущих «мигрантов»

и «резидентов» (у первых он выше) среди эмбрионов одной генерации [Нечаев и др., 2000]. По всей видимости, на изученном этапе яйцеклетки горбуши еще не дифференцируются по уровню гормональных регуляторов.

Предпосылкой различий – морфологических, поведенческих – может быть не только генетическая гетерогенность материала (половых продуктов и сформировавшихся после оплодотворения зародышей), но и эпигенетические влияния, включая так называемые «материнские эффекты» [Burton et al., 2013; Torrissen et al., 2014]. Последние заключаются в воздействии факторов среды, которые опосредованно, через влияние на самку, изменяют фенотип ее потомства и могут объяснять преимущество потомства одной самки (более крупной, доминантной) перед другими, например, более крупные и богатые белком яйцеклетки, более благоприятное местоположение образуемого ею нерестового бугра и другие [Hendry, Day, 2003]. Также предполагают, что в процессе выметывания икры определенные преимущества приобретают икринки, первыми отложенные самкой в нерестовые бугры (то есть локализованные в передней части яичника), поскольку они попадают в наиболее благоприятные для развития экологические условия (наблюдения сделаны на атлантическом лососе [Burton et al., 2013]). Тем не менее не вызывает сомнения тот факт, что дифференциация молоди атлантического лосося, отчетливо проявляющаяся у личинок с момента перехода к смешанному питанию до установления территориального образа жизни, обусловлена врожденными механизмами, а внешние условия способствуют более полному проявлению фенотипических различий [Веселов, Калужин, 2001].

Отмеченное для всей выборки нерестящихся самок горбуши сходство размерно-биохимических характеристик зрелых яйцеклеток указывает на сходные сроки их созревания и потенциально равные возможности для их

дальнейшего оплодотворения и развития эмбрионов. Отсутствие индивидуальных различий яйцеклеток в ястыках горбуши свидетельствует о том, что манифестация фенотипической дифференциации происходит на более поздних этапах развития, начиная с этапа выметывания икры и последующих.

Заключение

Результаты нашего исследования, согласно которым зрелые яйцеклетки самок горбуши одинаковы по меристическим и биохимическим признакам (массе и активности ассоциированных с ростовыми процессами внутриклеточных протеиназ) вне зависимости от их локализации в яичнике, свидетельствуют о сходной скорости роста и синхронном типе созревания яйцеклеток в исследованной когорте нерестящихся самок. По всей видимости, индивидуальные различия и дифференциация ранней молодежи проявляются на более поздних этапах развития, начиная с этапа выметывания икры и последующих, что, однако, не исключает возможные материнские эффекты. Вполне вероятно, что самки разного размера и иерархического ранга различаются качеством половых продуктов и возможностями для выбора места для откладывания икры, а их потомство в силу этого имеет разные стартовые возможности; для выяснения этих вопросов необходимы дальнейшие исследования.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории экологии рыб и водных беспозвоночных ИБ КарНЦ РАН д. б. н. А. Е. Веселову и М. А. Ручьеву за помощь в сборе и описании ихтиологического материала.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 14-24-00102 «Лососевые рыбы Северо-Запада России: эколого-биохимические механизмы раннего развития». Вылов и исследования горбуши проведены в соответствии с разрешением Федерального агентства по рыболовству Баренцево-Беломорского территориального управления № 51 2015 03 01 19.

Литература

Веселов А. Е., Калюжин С. М. Экология, поведение и распределение молодежи атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 2001. 160 с.

Лысенко Л. А., Канцерова Н. П., Крупнова М. Ю., Веселов А. Е., Немова Н. Н. Внутриклеточная белковая деградация в процессе роста атлантического

лосося *Salmo salar* L. // Биоорг. хим. 2015. Т. 41, № 6. С. 717–724. doi: 10.7868/S013234231506009

Немова Н. Н., Лысенко Л. А., Канцерова Н. П. Деградация белков скелетных мышц в процессах роста и развития лососевых рыб // Онтогенез. 2016. Т. 47, № 4. С. 197–208. doi: 10.7868/S0475145016040066

Немова Н. Н., Лысенко Л. А., Канцерова Н. П. Протеиназы семейства кальпаинов. Структура и функции // Онтогенез. 2010. Т. 41, № 5. С. 381–389.

Немова Н. Н., Сидоров В. С., Рипатти П. О. Лизосомальное переваривание белков органов лосося *Salmo salar* L. при голодании в условиях содержания в садках в преднерестовый период // Вопр. ихтиол. 1980. Т. 120. С. 180–182.

Нечаев И. В., Павлов Д. С., Глухова Е. В. Эффект взаимодействия эмбрионов плотвы в кладке и постэмбриональные последствия этих взаимодействий // ДАН. 2000. Т. 374, № 6. С. 839–842.

Никольский Г. В. Экология рыб. М.: Высш. шк., 1974. 366 с.

Павлов Д. С., Пономарева В. Ю., Веселов А. Е., Костин В. В. Реореакция как один из механизмов формирования фенотипических группировок сеголеток атлантического лосося (*Salmo salar*) // Вопр. ихтиол. 2010. Т. 50, № 4. С. 548–553.

Павлов Д. С., Костин В. В., Пономарева В. Ю. Различия размерных и весовых показателей и особенностей питания заводской молодежи черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax* pall.) из двух пространственных группировок // ДАН. 2012. Т. 445, № 4. С. 479–481.

Павлов Д. С., Нефедова З. А., Веселов А. Е., Немова Н. Н., Руоколайнен Т. Р., Васильева О. Б., Рипатти П. О. Липидный статус сеголеток атлантического лосося *Salmo salar* из разных микробиотопов р. Варзуга // Вопр. ихтиол. 2008. Т. 48, № 5. С. 679–685.

Пономарева В. Ю. Поведенческие механизмы внутрипопуляционной дифференциации молодежи некоторых лососевых рыб: дис. ... канд. биол. наук. М., 2014. 136 с.

Anson M. L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J. Gen. Physiol. 1938. Vol. 22. P. 79–89.

Björnsson B. T., Johansson V., Benedet S., Einarsdottir I. E., Hildahl J., Agustsson T., Jonsson E. Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action // Fish Physiol. Biochem. 2002. Vol. 27. P. 227–242. doi: 10.1023/B:FISH.0000032728.91152.10

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.

Burton T., Hoogenboom M. O., Beevers N. D., Armstrong J. D., Metcalfe N. B. Among-sibling differences in the phenotypes of juvenile fish depend on their location within the egg mass and maternal dominance rank // Proc. R. Soc. B. 2013. Vol. 280. P. 2012–2441. doi: 10.1098/rspb.2012.2441

Cleveland B. M., Weber G. M. Effects of sex steroids on indices of protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) white muscle // Gen. Comp. Endocrinol. 2011. Vol. 174. P. 132–142. doi: 10.1152/ajpregu.00516.2009

Enns D. L., Belcastro A. N. Early activation and re-distribution of calpain activity in skeletal muscle during hindlimb unweighting and reweighting // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006. Vol. 84. P. 601–609.

Erkinaro J., Niemelä E. Growth differences between the Atlantic salmon parr, *Salmo salar*, of nursery brooks and natal rivers in the river Teno watercourse in northern Finland // *Environ. Biol. Fish.* 1995. Vol. 42, no. 3. P. 277–287.

Fraser K. P. P., Rogers A. D. Protein metabolism in marine animals: the underlying mechanism of growth // *Adv. Mar. Biol.* 2007. Vol. 52. P. 267–362. doi: 10.1016/S0065-2881(06)52003-6

Fuentes E. N., Valdés J. A., Molina A., Björnsson B. T. Regulation of skeletal muscle growth in fish by the growth hormone – insulin-like growth factor system // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2013. Vol. 192. P. 136–148. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.009

Grant J. W. A., Noakes D. L. G. Aggressiveness and foraging mode of young-of-the-year brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Pisces, Salmonidae) // *Behav. Ecol. Sociobiol.* 1988. Vol. 22. P. 435–445.

Hendry A. P., Day T. Revisiting the positive correlation between female size and egg size // *Evol. Ecol. Res.* 2003. Vol. 5. P. 421–429.

Hiramatsu N., Ichikawa N., Fukada H., Fujita T., Sulivan C. V., Hara A. Identification and characterization of proteases involved in specific proteolysis of vitellogenin and yolk proteins in salmonids // *J. Exp. Zool.* 2002. Vol. 292. P. 11–25.

Johnston I., Bower N., Macqueen D. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish // *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1617–1628. doi: 10.1242/jeb.038620

Kwon J. Y., Prat F., Randall C., Tyler C. R. Molecular characterization of putative yolk processing enzymes and their expression during oogenesis and embryogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Biol. Reprod.* 2001. Vol. 65. P. 1701–1709.

Lysenko L. A., Kantserova N. P., Kaivarainen H. I., Krupnova M. Ju., Nemova N. N. Skeletal muscles protease activities in the early growth and development of wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* (в печати).

McCarthy I. D. Competitive ability is related to metabolic asymmetry in juvenile rainbow trout // *J. Fish Biol.* 2001. Vol. 59. P. 1002–1014. doi:10.1111/j.1095-8649.2001.tb00167.x

Metcalfe N. B., Huntingford F. A., Thorpe J. E. Feeding intensity, growth rates and the establishment of life-history patterns of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. // *J. Anim. Ecol.* 1988. Vol. 57, no. 2. P. 463–474. doi: 10.2307/4918

Mommsen T. P. Salmon spawning migration and muscle protein metabolism: the August Krogh principle at work // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2004. Vol. 139. P. 383–400. doi: 10.1016/j.cbpc.2004.09.018

Nemova N. N., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Yu., Veselov A. E., Murzina S. A., Pavlov D. S. Intracellular proteolysis in Atlantic salmon *Salmo salar* fingerlings (0+) from different biotopes in an Arctic river (Varzuga River, White Sea Basin) // *Polar Record.* 2017. P. 1–7. doi: 10.1017/S003224741600084X

Nicieza A. G., Reyesgavilan F. G., Brana F. Differentiation in juvenile growth and bimodality patterns between northern and southern populations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Can. J. Zool.* 1994. Vol. 72. P. 1603–1610. doi: 10.1139/z94-213

Overturf K., Gaylord T. Determination of relative protein degradation activity at different life stages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2009. Vol. 152. P. 150–160. doi: 10.1016/j.cbpb.2008.10.012

Primmer C. R., Veselov A. J., Zubchenko A., Poutukin A., Bakhmet I., Koskinen M. T. Isolation by distance within a river system: genetic population structuring of Atlantic salmon, *Salmo salar*, in tributaries of the Varzuga River in northwest Russia // *J. Mol. Ecol.* 2006. No. 15. P. 653–666. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02844.x

Raldúa D., Fabra M., Bozzo M. G., Weber E., Cerdà J. Cathepsin B-mediated yolk protein degradation during killifish oocyte maturation is blocked by an H⁺-ATPase inhibitor: effects on the hydration mechanism // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006. Vol. 290. P. R456–R466. doi: 10.1152/ajpregu.00528.2005

Santella L., Kyojuka K., Hoving S., Munchbach M., Quadroni M., Dainese P., Zamparelli C., James P., Carafoli E. Breakdown of cytoskeletal proteins during meiosis of starfish oocytes and proteolysis induced by calpain // *Exp. Cell Res.* 2000. Vol. 259. P. 117–126. doi: 10.1006/excr.2000.4969

Suter H. C. The effects of maternal steroids on individual variation in juvenile salmonids: PhD thesis. University of Glasgow, Glasgow, UK, 2002.

Torrissen K. R. Atlantic salmon *Salmo salar* L.: genetic variations in protein metabolism and growth / Eds. P. T. K. Woo, D. J. Noakes. Salmon: biology, ecological impacts and economic importance. New York, NY: Nova Science Publishers, 2014. P. 85–119.

Utrilla C. G., Lobon-Cervia J. Life-history patterns in a southern population of Atlantic salmon // *J. Fish Biol.* 1999. Vol. 55. P. 68–83.

Поступила в редакцию 01.03.2017

References

Lysenko L. A., Kantserova N. P., Krupnova M. Yu., Veselov A. E., Nemova N. N. Vnutrikletchnaya belkovaya degradatsiya v protsesse rosta atlanticheskogo lososya *Salmo salar* L. [Intracellular protein degradation during growth of the Atlantic salmon *Salmo salar* L.]. *Bioorg. khim.* [Russ. Journal of Bioorganic

Chem.] 2015. Vol. 41, no. 6. P. 717–724. doi: 10.7868/S013234231506009

Nemova N. N., Lysenko L. A., Kantserova N. P. Degradatsiya belkov skeletnykh myshts v protsessakh rosta i razvitiya lososevykh ryb [Degradation of skeletal muscle protein during growth and development

of salmonid fish]. *Ontogenez [Russ. Journal of Developmental Biol.]*. 2016. Vol. 47, no. 4. P. 197–208. doi: 10.7868/S0475145016040066

Nemova N. N., Lysenko L. A., Kantserova N. P. Proteinye semeistva kal'painov. Struktura i funktsii [Proteases of the calpain family: structure and functions]. *Ontogenez [Russ. Journal of Developmental Biol.]*. 2010. Vol. 41, no. 5. P. 381–389.

Nemova N. N., Sidorov V. S., Ripatti P. O. Lizosomal'noe perevarivanie belkov organov lososya *Salmo salar* L. pri golodanii v usloviyakh sodержaniya v sadkakh v prednerestovyi period [Lysosomal digestion of proteins of the salmon *Salmo salar* L. organs during starvation in cages in the prespawning period]. *Vopr. ikhtiologii. [Journal of Ichthyology]*. 1980. Vol. 120. P. 180–182.

Nechaev I. V., Pavlov D. S., Glukhova E. V. Efekt vzaimodeistviya embrionov plotvy v kladke i postembrional'nye posledstviya etikh vzaimodeistvii [Interaction between roach embryos in a clutch and the postembryonal consequences of this interaction]. *DAN [Dokl. Biol. Sciences]*. 2000. Vol. 374, no. 6. P. 839–842.

Nikol'skii G. V. Ekologiya ryb [Ecology of fish]. Moscow: Vyssh. shk., 1974. 366 p.

Pavlov D. S., Ponomareva V. Yu., Veselov A. E., Kostin V. V. Reoreaktsiya kak odin iz mekhanizmov formirovaniya fenotipicheskikh gruppirovok segoletok atlanticheskogo lososya (*Salmo salar*) [Rheoreaction as a mechanism of phenotypic groups formation of underyearlings of the Atlantic salmon *Salmo salar*]. *Vopr. ikhtiologii. [Journal of Ichthyology]*. 2010. Vol. 50, no. 4. P. 548–553.

Pavlov D. S., Kostin V. V., Ponomareva V. Yu. Razlichiya razmernykh i vesovykh pokazatelei i osobennosti pitaniya zavodskoi molodi chernomorskoi kumzhi (*Salmo trutta labrax* pall.) iz dvukh prostranstvennykh gruppirovok [Differences in length, weight, and feeding characteristics of hatchery-reared juvenile fish of the Black sea trout (*Salmo trutta labrax* pall.) from two spatial groups]. *DAN [Dokl. Biological Sciences]*. 2012. Vol. 445, no. 4. P. 479–481.

Pavlov D. S., Nefedova Z. A., Veselov A. E., Nemova N. N., Ruokolainen T. R., Vasil'eva O. B., Ripatti P. O. Lipidnyi status segoletok atlanticheskogo lososya *Salmo salar* iz raznykh mikrobiotopov r. Varzuga [Lipid status of fingerlings of the Atlantic salmon *Salmo salar* from different microbiotopes of the Varzuga River]. *Vopr. ikhtiologii. [Journal of Ichthyology]*. 2008. Vol. 48, no. 5. P. 679–685.

Ponomareva V. Yu. Povedencheskie mekhanizmy vnutripopulyatsionnoi differentsiatsii molodi nekotorykh lososevykh ryb [Behavioral mechanisms of intrapopulation differentiation of juvenile fish of some salmonids]: DSc (Cand. of Biol.) thesis. Moscow, 2014. 136 p.

Veselov A. E., Kalyuzhin S. M. Ekologiya, povedenie i raspredelenie molodi atlanticheskogo lososya [Ecology, behavior, and distribution of juvenile fish of the Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Kareliya, 2001. 160 p.

Anson M. L. The estimation of pepsin, trypsin, pappain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 1938. Vol. 22. P. 79–89.

Björnsson B. T., Johansson V., Benedet S., Einarsdottir I. E., Hildahl J., Agustsson T., Jonsson E.

Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action. *Fish Physiol. Biochem.* 2002. Vol. 27. P. 227–242. doi: 10.1023/B:FISH.0000032728.91152.10

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.

Burton T., Hoogenboom M. O., Beevers N. D., Armstrong J. D., Metcalfe N. B. Among-sibling differences in the phenotypes of juvenile fish depend on their location within the egg mass and maternal dominance rank. *Proc. R. Soc. B.* 2013. Vol. 280. P. 2012–2441. doi: 10.1098/rspb.2012.2441

Cleveland B. M., Weber G. M. Effects of sex steroids on indices of protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) white muscle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2011. Vol. 174. P. 132–142. doi: 10.1152/ajpregu.00516.2009

Enns D. L., Belcastro A. N. Early activation and redistribution of calpain activity in skeletal muscle during hindlimb unweighting and reweighting. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006. Vol. 84. P. 601–609.

Erkinaro J., Niemelä E. Growth differences between the Atlantic salmon parr, *Salmo salar*, of nursery brooks and natal rivers in the river Teno watercourse in northern Finland. *Environ. Biol. Fish.* 1995. Vol. 42, no. 3. P. 277–287.

Fraser K. P. P., Rogers A. D. Protein metabolism in marine animals: the underlying mechanism of growth. *Adv. Mar. Biol.* 2007. Vol. 52. P. 267–362. doi: 10.1016/S0065-2881(06)52003-6

Fuentes E. N., Valdés J. A., Molina A., Björnsson B. T. Regulation of skeletal muscle growth in fish by the growth hormone – insulin-like growth factor system. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2013. Vol. 192. P. 136–148. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.009

Grant J. W. A., Noakes D. L. G. Aggressiveness and foraging mode of young-of-the-year brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Pisces, Salmonidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 1988. Vol. 22. P. 435–445.

Hendry A. P., Day T. Revisiting the positive correlation between female size and egg size. *Evol. Ecol. Res.* 2003. Vol. 5. P. 421–429.

Hiramatsu N., Ichikawa N., Fukada H., Fujita T., Sullivan C. V., Hara A. Identification and characterization of proteases involved in specific proteolysis of vitellogenin and yolk proteins in salmonids. *J. Exp. Zool.* 2002. Vol. 292. P. 11–25.

Johnston I., Bower N., Macqueen D. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1617–1628. doi: 10.1242/jeb.038620

Kwon J. Y., Prat F., Randall C., Tyler C. R. Molecular characterization of putative yolk processing enzymes and their expression during oogenesis and embryogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* 2001. Vol. 65. P. 1701–1709.

Lysenko L. A., Kantserova N. P., Kaivarainen H. I., Krupnova M. Ju., Nemova N. N. Skeletal muscles protease activities in the early growth and development of wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* (appear).

McCarthy I. D. Competitive ability is related to metabolic asymmetry in juvenile rainbow trout. *J. Fish Biol.* 2001. Vol. 59. P. 1002–1014. doi: 10.1111/j.1095-8649.2001.tb00167.x

Metcalfe N. B., Huntingford F. A., Thorpe J. E. Feeding intensity, growth rates and the establishment of life-history patterns of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. *J. Anim. Ecol.* 1988. Vol. 57, no. 2. P. 463–474. doi: 10.2307/4918

Mommsen T. P. Salmon spawning migration and muscle protein metabolism: the August Krogh principle at work. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2004. Vol. 139. P. 383–400. doi: 10.1016/j.cbpc.2004.09.018

Nemova N. N., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Yu., Veselov A. E., Murzina S. A., Pavlov D. S. Intracellular proteolysis in Atlantic salmon *Salmo salar* fingerlings (0+) from different biotopes in an Arctic river (Varzuga River, White Sea Basin). *Polar Record.* 2017. P. 1–7. doi: 10.1017/S003224741600084X

Nicieza A. G., Reyesgavilan F. G., Brana F. Differentiation in juvenile growth and bimodality patterns between northern and southern populations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Can. J. Zool.* 1994. Vol. 72. P. 1603–1610. doi: 10.1139/z94-213

Overturf K., Gaylord T. Determination of relative protease degradation activity at different life stages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2009. Vol. 152. P. 150–160. doi: 10.1016/j.cbpb.2008.10.012

Primmer C. R., Veselov A. J., Zubchenko A., Poututkin A., Bakhmet I., Koskinen M. T. Isolation by distance

within a river system: genetic population structuring of Atlantic salmon, *Salmo salar*, in tributaries of the Varzuga River in northwest Russia. *J. Mol. Ecol.* 2006. No. 15. P. 653–666. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02844.x

Raldúa D., Fabra M., Bozzo M. G., Weber E., Cerdà J. Cathepsin B-mediated yolk protein degradation during killifish oocyte maturation is blocked by an H⁺-ATPase inhibitor: effects on the hydration mechanism. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006. Vol. 290. P. R456–R466. doi: 10.1152/ajpregu.00528.2005

Santella L., Kyozuka K., Hoving S., Munchbach M., Quadroni M., Dainese P., Zamparelli C., James P., Carafoli E. Breakdown of cytoskeletal proteins during meiosis of starfish oocytes and proteolysis induced by calpain. *Exp. Cell Res.* 2000. Vol. 259. P. 117–126. doi: 10.1006/excr.2000.4969

Suter H. C. The effects of maternal steroids on individual variation in juvenile salmonids: PhD thesis. University of Glasgow, Glasgow, UK, 2002.

Torrissen K. R. Atlantic salmon *Salmo salar* L.: genetic variations in protein metabolism and growth. Eds. P. T. K. Woo, D. J. Noakes. *Salmon: biology, ecological impacts and economic importance*. New York, NY: Nova Science Publishers, 2014. P. 85–119.

Utrilla C. G., Lobon-Cervia J. Life-history patterns in a southern population of Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* 1999. Vol. 55. P. 68–83.

Received March 01, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лысенко Людмила Александровна

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

эл. почта: l-lysenko@yandex.ru
тел.: (8142) 571879

Канцеровва Надежда Павловна

научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

эл. почта: nkantserova@yandex.ru
тел.: (8142) 571879

Крупнова Марина Юрьевна

старший научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

эл. почта: mukrupnova@rambler.ru
тел.: (8142) 571879

CONTRIBUTORS:

Lysenko, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: l-lysenko@yandex.ru
tel.: (8142) 571879

Kantserova, Nadezhda

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nkantserova@yandex.ru
tel.: (8142) 571879

Krupnova, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: mukrupnova@rambler.ru
tel.: (8142) 571879

Ефремов Денис Александрович

научный сотрудник лаб. экологии рыб и водных
беспозвоночных, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: denisefremov@list.ru
тел.: (8142) 561679

Немова Нина Николаевна

главный научный сотрудник лаб. экологической биохимии,
чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Efremov, Denis

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: denisefremov@list.ru
tel.: (8142) 561679

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nemova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 571879

УДК 597.552.51:591.351:591.17

ОСОБЕННОСТИ ЛОКОМОТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕОРЕАКЦИИ МОЛОДИ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ (*SALMO SALAR* L.) И КУМЖИ (*SALMO TRUTTA* L.)

М. А. Ручьев¹, Д. А. Ефремов¹, М. И. Скоробогатов², А. Е. Веселов¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва

Экспериментально исследовали локомоторные показатели реореакции молоди атлантического лосося и кумжи трех возрастных групп (0+, 1+, 2+), обитающих соответственно в главном русле и притоке реки Варзуга (Кольский полуостров, бассейн Белого моря). Использовали специально сконструированную гидродинамическую установку, позволяющую регулировать скорость течения от 0,05 до 0,9 м/с. Установлено, что пороговые скорости достоверно не различаются между возрастом 0+ (сеголетки) лосося и кумжи, а также между 1+ (годовиками) обоих видов. Однако у годовиков двух видов пороговая скорость ниже, чем у сеголеток. В группе возрастом 2+ резко снижается чувствительность к потоку, особенно у кумжи. У кумжи для возрастов 1+ и 2+ показатель активной реореакции, когда для удержания в потоке включается локомоция, достоверно выше, чем у лосося. Также показатель критической реореакции различался для всех возрастных групп, с преимуществом у пестряток кумжи, которые в течение нескольких секунд выдерживали скорости потока 80–90 см/с. Различия в показателях реореакции, по-видимому, связаны с гидрологическим, температурным и кормовым режимом биотопов главного русла и притока, влияющим на размерно-массовые характеристики мальков обоих видов. В главном русле в основном обитает молодь лосося, а в притоке – молодь кумжи, которая растет быстрее вследствие лучших кормовых условий.

Ключевые слова: бассейн Белого моря; река Варзуга; молодь атлантического лосося; молодь кумжи; локомоторные компоненты реореакции – пороговая, активная, критическая.

M. A. Ruch'ev, D. A. Efremov, M. I. Skorobogatov, A. E. Veselov. COMPARATIVE RESEARCH ON LOCOMOTOR COMPONENTS OF RHEOTACTIC RESPONSE IN JUVENILE ATLANTIC SALMON (*SALMO SALAR* L.) AND BROWN TROUT (*SALMO TRUTTA* L.)

We experimentally studied the locomotor components of rheotactic response in three age cohorts (0+, 1+, 2+) of Atlantic salmon and brown trout parr from, respectively, the Varzuga River main channel and tributary (Kola Peninsula, White Sea drainage basin). A specially designed hydrodynamic device permitting to regulate the current velocity from 0.05 to 0.9 m/s was used. There was no reliable difference between velocity thresholds for 0+ salmon and brown trout or for 1+ parr of the two species. For 1+ parr, however, the velocity threshold was lower than for 0+ parr in both species. Sensitivity to the current dropped sharply in 2+ parr, especially in brown trout. In brown trout aged 1+ and 2+, the index of active rheotactic response, meaning that locomotion is activated to keep the po-

sition in the current, is reliably higher than in salmon. The critical rheotactic response index also differed among age cohorts, and brown trout parr excelled, withstanding current velocities of 80–90 m/s for several seconds. Differences in rheotactic response indexes apparently ensue from the hydrological, thermal and trophic conditions of habitats in the main channel and the tributary, which influenced the size and weight of parr in both species. The main channel is mostly inhabited by salmon parr, whereas the tributary is home to brown trout parr, which grow faster owing to the better foraging conditions.

К е y w o r d s: White Sea drainage basin; Varzuga River; Atlantic salmon parr; brown trout parr; locomotor components of rheotactic response – threshold, active, critical.

Введение

Молодь лосося и кумжи обитает в потоке воды (подвижной среде) рек и ручьев. Первые в основном предпочитают главное русло нерестовых рек и крупных притоков, а вторые обитают в малых притоках. В главном русле молодь лосося избирает микробиотопы, в которых скорости течения у поверхности изменяются в пределах от 0,5 до 1,3 м/с. Такие же скорости отмечаются и в малых притоках, где обитает молодь кумжи. Однако в период летней межени, иногда на протяжении более 1,5 месяца, в них происходит существенное уменьшение расхода воды (почти в 10 раз). Это приводит к снижению скорости течения на микробиотопах обитания кумжи до 0,05–0,10 м/с. Молодь кумжи при снижении расхода воды скрывается в основном в ямах под корягами и камнями, а молодь лосося перемещается из прибрежья к центру русла на участки с большими скоростями течения. При этом в ручье достаточно много кормовых организмов зообентоса, которые кумжа выедает с грунта и водорослей. Молодь лосося в таких условиях не способна выжить, т. к. питается путем заглатывания организмов, переносимых в толще потока. У молоди кумжи в летнюю межень нет возможности переместиться на участки с большими скоростями течения, т. к. их нет на всем протяжении притока. Если при полноводном режиме биотопы становятся одинаковыми у обоих видов, то при снижении воды они разные. Молодь обоих видов обитает на сходных по морфологии рельефа и фракционному составу грунта биотопах. Главное различие – это сильная вариативность глубин и скоростей течения в малых притоках в летний период роста и развития.

Основной врожденной поведенческой реакцией рыб, обитающих в потоке, является реореакция; она компенсирует их снос против течения и способствует удержанию в районе обитания [Павлов, 1979]. Можно предположить, что особенности реореакции позволили приспособиться этим видам к биотопам одинакового типа, но имеющим существенные

сезонные различия по характеристикам и стабильности гидрологических условий. В связи с этим представляет интерес сравнение показателей реореакции молоди лосося и кумжи разных возрастных групп. По-видимому, реореакция в значительной степени определяет сезонные закономерности пространственного распределения молоди лосося и кумжи.

К настоящему времени исследований показателей локомоторной компоненты реореакции разновозрастных групп молоди кумжи не проводилось. Ранее нами изучались только показатели реореакции молоди лосося [Veselov et al., 1998; Веселов, Калюжин, 2001; Веселов и др., 2001]. Цель работы – экспериментально изучить и сравнить реореакцию молоди лосося и кумжи разных возрастных групп, обитающих на биотопах одинакового типа, но с разными стабильностью и диапазоном вариации гидрологических условий.

Материалы и методы

Исследовали три возрастные группы молоди лосося и кумжи – 0+, 1+ и 2+. Каждая состояла из 28–30 экз. рыб, отловленных с помощью электролова (FA-2, Норвегия). Отлов молоди лосося производили в главном русле р. Варзуга на Собачьем пороге, а кумжи – во впадающем в этот порог одноименном ручье Собачий (66°24'22" с. ш., 36°37'38" в. д.). Мальков до начала эксперимента выдерживали в течение суток в русловых садках.

Экспериментальное исследование локомоторных показателей реореакции молоди лосося и кумжи проводили в специально сконструированной гидродинамической установке (рис. 1). Установка состоит из рабочей камеры в виде стеклянной трубки диаметром 20 мм, длиной 1 м, успокоителя потока, расположенного в головной части камеры, рыбоудерживающих сеток, центробежного насоса со сбросным клапаном, регулировочных кранов и гибких шлангов. Вода, забираемая из термостатируемой емкости 500 л, насосом подавалась в экспериментальную камеру, куда помещалась исследуемая

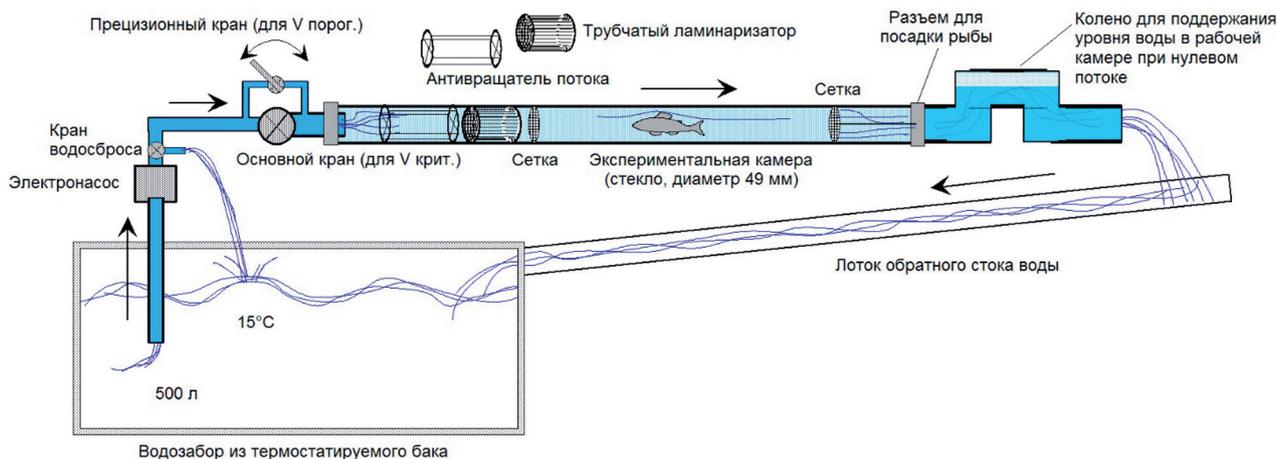


Рис. 1. Схема гидродинамической установки. Направление течения указано стрелками

рыба. После определения одного из показателей малькам давали время на отдых, определяя состояние по нормализации ритмики движения жаберных крышек (4–5 мин.). Скорость течения в пределах от 0,0 до 0,80 м/с регулировали с помощью основного и прецизионного кранов. При необходимости, для более точного выставления малых скоростей течения, часть расхода воды, забираемого насосом из реки, выпускалась через сбросной клапан. Перед экспериментом в термостатируемой емкости проводилась суточная акклимация рыб к температуре $15 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (температура воды в реке варьировала от 14,5 до 17,3 $^\circ\text{C}$). Затем проводили определение показателей реореакции, постепенно увеличивая скорость течения в гидродинамической установке.

Измеряли три показателя реореакции для каждого малька с трехразовой повторностью, выводя средние значения. Малька пересаживали из термостатируемой емкости в камеру установки и выдерживали 3 мин. Медленно увеличивая скорость течения от нуля и до начала проявляемой двигательной реакции (продолжительность увеличения скорости течения составляла 20–30 с), определяли первый показатель – минимальную, или пороговую, скорость $V_{\text{пор}}$ течения. При этой скорости течения малек начинал проявлять двигательную реакцию в виде нистагма глаз, изгиба плавников или хвостовой части тела. Второй показатель $V_{\text{акт}}$ характеризовал достижение (за 15–20 с) такой скорости течения, при которой малек лосося или кумжи, находясь в тактильном контакте с дном, переставал удерживаться только за счет прижимного давления потока на плавники и «включал» активную локомоцию. Третий показатель $V_{\text{крит}}$ – критическая скорость, при которой рыба прекращала сопротивляться и сносилась течением на удерживающую сетку (определялась за 10

с). Между измерением показателей малькам давался отдых (3 мин.). Общая продолжительность определения трех показателей составляла 10 мин. После эксперимента мальков взвешивали и измеряли их длину (табл.).

Скорость течения регистрировали для каждого из показателей сразу после проявления ожидаемой от рыбы поведенческой реакции. Для определения скорости течения измеряли время (t) наполнения определенного объема воды, вытекавшей из водоотводного патрубка в мерный сосуд (W). Объем воды в мерном сосуде в опытах изменялся от 50 до 1000 см^3 . Точность измерения продолжительности наполнения мерного сосуда составляла $\pm 0,1$ с. По этим величинам находили расход воды в трубе $Q = W/t$, а затем вычисляли среднюю скорость течения – $V = Q/S$ (где S – площадь поперечного сечения трубы) и число Рейнольдса $Re = Vd/\nu$ (где d – диаметр трубы, ν – кинематический коэффициент вязкости, при температуре проведения опытов $t = 15 \text{ }^\circ\text{C}$ $\nu = 0,0116 \text{ см}^2/\text{с}$). Число Рейнольдса находили для того, чтобы установить режим движения воды, а далее построить эпюру распределения скоростей течения по поперечному сечению трубы. Известно, что если число Рейнольдса меньше критического значения $Re_{\text{кр}}$ ($Re_{\text{кр}} = 2320$), то имеет место ламинарный режим движения жидкости, если больше критического – турбулентный режим [Справочник..., 1984]. В сечении трубы при ламинарном режиме скорости течения распределяются по параболическому закону, при турбулентном – по логарифмическому.

Величины средних скоростей течения, которые получили при определении $V_{\text{пор}}$ и $V_{\text{акт}}$, находились в пределах от 0,2 до 10,5 $\text{см}/\text{с}$, что соответствует изменению чисел Рейнольдса от 35 до 1800, т. е. имел место ламинарный режим

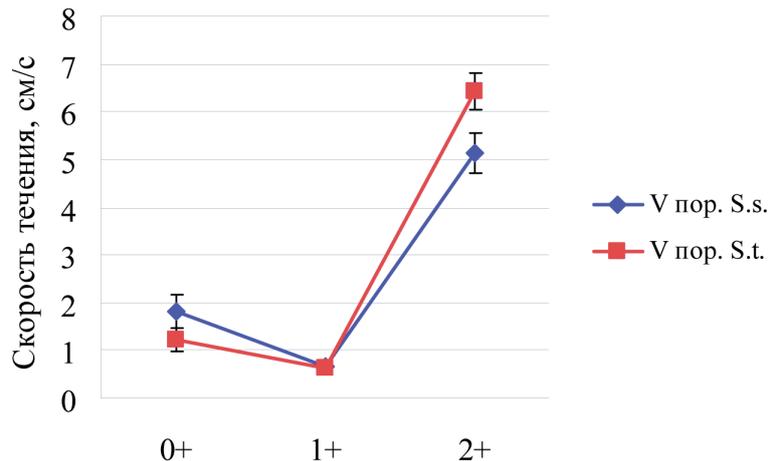


Рис. 2. Пороговая реореакция молоди лосося (S. s.) и кумжи (S. t.) возрастом 0+, 1+ и 2+

движения воды. По эюграм, учитывая место нахождения рыб около стенки трубы, находили величины скорости $V_{пор.}$ и $V_{акт.}$ При экспериментальном нахождении $V_{крит.}$ имел место турбулентный режим, рыбы находились в центре сечения экспериментальной камеры.

В некоторых опытах значения длины тела (1) лосося и кумжи отличались на 10–12 %. Для того чтобы более точно сопоставить рассматриваемые показатели, все данные приводились к одной длине тела. При этом допускалось, что в пределах изменения длины тела рыб в опытах имеют место линейные зависимости $V_{пор.} = f(l)$, $V_{акт.} = f(l)$, $V_{крит.} = f(l)$. Этому было найдено подтверждение в работе Д. С. Павлова [1979].

Результаты и обсуждение

Установлено, что у сеголеток лосося и кумжи минимальная скорость течения, или показатель $V_{пор.}$, стимулирующая реакцию в виде нистагма глаз, изгиба плавников, достоверно не различается (рис. 2). Также у сеголеток нет различий по размерно-массовым показателям.

У молоди лосося и кумжи возрастом 1+ показатель $V_{пор.}$ немного ниже, чем у сеголеток. Это обеспечивает повышенную чувствительность к минимальным изменениям скорости течения, что при относительно небольших размерах тела и недостаточно развитых физических возможностях позволяет малькам свободно лавировать в весьма интенсивном потоке, сохраняя свое местообитание. Это особенно важно для кумжи, когда в ручьях после дождя происходят кратковременные паводки с высокой амплитудой.

У имеющих большую массу и размеры старших пестряток 2+ показатель $V_{пор.}$ значительно возрастает, мальки становятся крупнее, и чувствительность к потоку уже не является

решающим фактором при перемещении в многослойном по скоростям течения потоке воды. Однако между двумя видами появляется достоверное различие – пороговый показатель реореакции у более крупной кумжи выше, чем у лосося. По-видимому, закономерно, что чем крупнее рыба, тем выше пороговая скорость течения для реореакции [Павлов, 1979].

В целом показатель $V_{пор.}$ менее существенен для избирания будущего микробиотопа обитания. Для обоих видов способность физически противостоять неоднородному турбулентному потоку при совершении пищевых или оборонительных бросков и перемещениях в толще воды больше зависит от показателей $V_{акт.}$ и $V_{крит.}$

Показатель $V_{акт.}$ характеризует достижение такой скорости течения, при которой рыба, находясь в тактильном контакте с дном, перестает удерживаться только за счет прижимного давления потока на развернутые грудные и брюшные плавники. Происходит смещение малька относительно неподвижных ориентиров. Это и стимулирует включение локомоции, обеспечивающей возврат на местообитания и устойчивое поддержание исходной позиции. Естественно, что способность удерживаться на месте за счет гидродинамических качеств тела и без включения локомоции увеличивается в возрастном ряду 0+, 1+ и 2+ у обоих видов. Для кумжи этот показатель достоверно выше, чем для лосося (рис. 3). Молодь кумжи будет тратить меньше энергии при удержании на грунте в условиях повышенных придонных скоростей потока. Это определяет увеличение выбора доступных по градиенту скоростей течения на местообитаниях [Веселов, Калюжин, 2001], а значит, и широту вариации кормовых условий, влияющих на темп роста [Шустов, 1983].

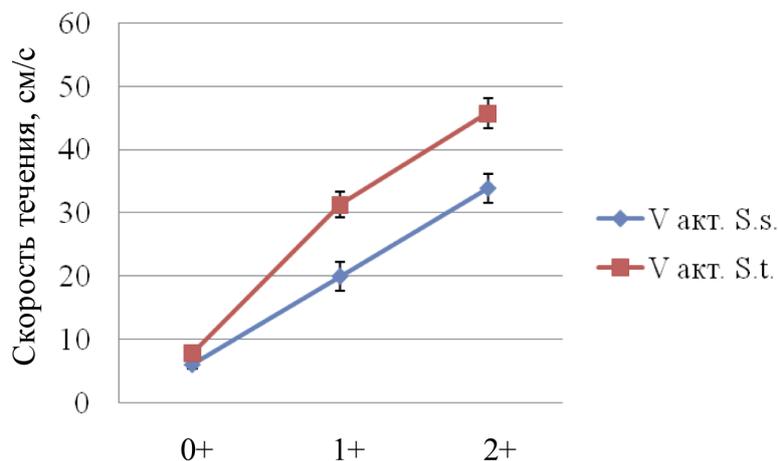


Рис. 3. Активная скорость реореакции молоди лосося (S. s.) и кумжи (S. t.) возрастом 0+, 1+ и 2+

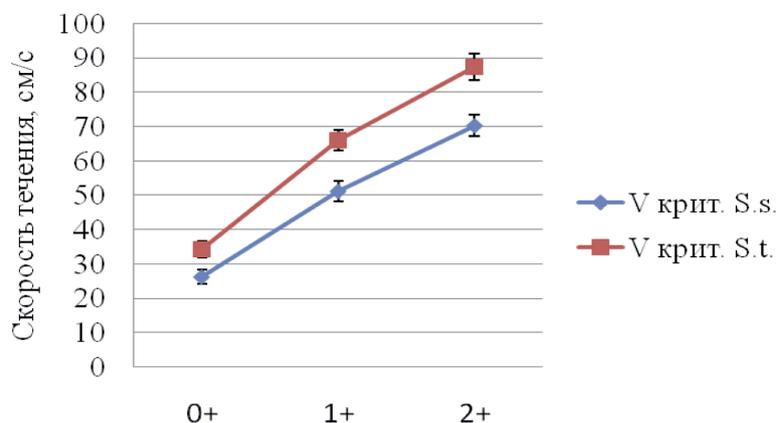


Рис. 4. Критическая скорость реореакции молоди лосося (S. s.) и кумжи (S. t.) возрастом 0+, 1+ и 2+

Показатель критической скорости течения $V_{\text{крит.}}$ соответствует краткосрочно выдерживаемой максимальной для индивидуума скорости потока. В реке такие ситуации возможны при совершении мальками лосося и кумжи пищевых или оборонительных бросков. Это часто проявляется на таких участках порогов, где поверхностная скорость течения около 1,5–2,0 м/с. Экспериментально показано достоверное различие по данному показателю во всех возрастных группах в пользу кумжи (рис. 4). Сравнительное изучение физических способностей молоди атлантического лосося и кумжи в речных условиях также выявило преимущество у кумжи [Щуров, Шустов, 1989].

В большинстве нерестовых рек Северо-Запада России воспроизводится как атлантический лосось, так и кумжа. Речной период жизненного цикла обоих видов практически одинаков. Однако биотопы обитания молоди двух видов чаще всего не совпадают. Если молодь лосося в основном населяет пороги и перекаты главного русла, то молодь кумжи предпочитает

похожие участки, но только в небольших притоках этого русла. Изначально такое распределение предопределяется нерестом производителей: лосося в главном русле, а кумжи в притоках. Естественно, что гидрологический режим и условия питания в биотопах лосося и кумжи различаются. В притоках происходят более интенсивные и короткие паводки, вода днем быстрее прогревается, а ночью охлаждается. Температурная осцилляция ускоряет развитие [Константинов и др., 2007]. В малых притоках лучше питание за счет интенсивного вылета воздушной фракции кормовых беспозвоночных [Барышев и др., 2005]. Это должно отражаться на различии в размерно-массовых характеристиках (табл.) и локомоторных показателях реореакции молоди двух видов.

Известно, что развитие молоди лосося и кумжи в реках длительное и составляет 2–4 года. При этом развертывание территориальных, кочевых и миграционных комплексов поведенческих реакций, основанных на различном сочетании пищевой, оборонительной,

Характеристика разновозрастных групп молоди лосося и кумжи

Вид, возраст	Длина, см	Масса, г	Кол-во, экз.
Лосось, 0+	2,66 ± 0,08	0,081 ± 0,011	30
Кумжа, 0+	2,75 ± 0,11	0,095 ± 0,016	30
Лосось, 1+	7,13 ± 0,21	5,11 ± 0,23	30
Кумжа, 1+	9,24 ± 0,42	6,66 ± 0,27	30
Лосось, 2+	11,34 ± 0,33	10,95 ± 0,20	28
Кумжа, 2+	13,98 ± 0,29	12,33 ± 0,24	30

исследовательской и социальной активности происходит на фоне постоянного воздействия речного потока [Веселов, 2006]. В онтогенезе молоди рыб происходит развитие сенсорных органов и плавательной способности, что сопровождается у них снижением пороговых и увеличением выдерживаемых критических скоростей течения [Павлов, 1979, 1986]. Существенные изменения этих показателей реореакции происходят на первых этапах развития, т. к. интенсивно меняется морфология тела, развиваются локомоторные органы, органы чувств и усложняется поведение [Васнецов, 1953а, б; Алеев, 1963].

Выявленные по показателям локомоторной компоненты реореакции устойчивые различия двух сравниваемых видов молоди лосося и кумжи можно связать с различием гидрологического режима сходных по рельефу, фракционному составу грунтов биотопов. Кумжа обитает в большем диапазоне скоростей течения и турбулентности в изменяющихся градиентных условиях скоростей течения, чем лосось. В малых притоках высок (50 % и более) показатель проективного покрытия береговой растительностью зеркала воды, что создает условия для массового развития воздушной фракции насекомых. Показано, что в притоках р. Варзуга (бассейн Белого моря) молодь питается интенсивнее и лучше обеспечена кормовой базой [Шустов и др., 2012]. Здесь в больших количествах имаго, куколки и личинки попадают в воду и служат кормом для рыбы. Таким образом молодь кумжи имеет лучшую обеспеченность кормовым ресурсом (беспозвоночными организмами), чем молодь лосося в главном русле, и это способствует более быстрому ее росту [Шустов, Смирнов, 1978; Шустов, 1983]. Также следует учитывать, что в небольших притоках, каким является Собачий ручей, где обитает кумжа, ежегодно бывает несколько паводков, близких к катастрофическим. В такие периоды происходит резкий, в 2–3 раза, подъем уровня воды и увеличение скоростей течения до 1,5–1,7 м/с, что приводит к интенсивной подвижке грунта. В подобных условиях молодь кумжи должна удержаться на местах своего обитания и противостоять

бурному и мутному потоку, используя гидродинамические качества своего тела и сильную реореакцию.

Заключение

Таким образом, экспериментально установлены значения пороговых, активных и критических локомоторных показателей реореакции для разных возрастных групп пестряток лосося и кумжи. Сеголетки лосося и кумжи имеют практически одинаковую пороговую реакцию (1,0–1,8 см/с). У годовиков обоих видов пороговая реакция снижается до 0,5–0,8 см/с, что определяет при малых размерах способность чутко реагировать на изменение скорости течения, избирая микростации с благоприятным режимом потока. У старших пестряток пороговая скорость резко возрастает, более крупным и физически окрепшим малькам уже нет необходимости реагировать на низкие пороговые скорости течения. Показатель активной скорости реореакции – это возможность не включать двигательную локомоцию на занятой донной охотничьей позиции. Показатель закономерно возрастает от сеголеток к трехлеткам у обоих видов. Однако кумжа 2+ выдерживает большие значения скоростей течения (42–48 см/с), чем лосось (29–33 см/с). Выдерживаемая критическая скорость течения достоверно выше для всех возрастов кумжи. У кумжи 2+ она достигает 84–92 см/с, а у лосося только 67–73 см/с. Различия в проявлении реореакции, по-видимому, связаны с высокой вариацией скоростей течения на микробиотопах кумжи, обитающей в небольших притоках и имеющих, в отличие от крупных и средних лососевых рек, динамичную линию гидрографа с высокими и кратковременными пиками. Молоди кумжи в таких условиях приходится мгновенно реагировать на быстро нарастающий поток и скрываться в укрытиях. Это и определяет более высокие показатели реореакции у молоди кумжи, чем у лосося.

Последующие эксперименты будут связаны с исследованием изменения реореакции в температурном диапазоне жизнедеятельности обоих видов (0,1–25 °С), т. к. это

отражается на эффективности проявления реореакции в различные сезоны года. Кроме того, предполагается определить связь биохимического статуса разных возрастных групп молоди лосося и кумжи с динамикой локомоторных показателей реореакции.

Экологическая характеристика биотопов и полевые работы выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда по проекту № 14-14-00102 «Лососевые рыбы Северо-Запада России: эколого-биохимические механизмы раннего развития».

Литература

Алеев Ю. Г. Функциональные основы внешнего строения рыб. М.: АН СССР, 1963. 247 с.

Барышев И. А., Веселов А. Е., Зубченко А. В., Калюжин С. М. Кормовая база атлантического лосося в бассейне реки Варзуга // Биология, воспроизводство и состояние запасов анадромных и пресноводных рыб Кольского полуострова. Мурманск: ПИНРО, 2005. С. 21–30

Васнецов В. В. О закономерностях роста рыб // Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1953. С. 218–226.

Васнецов В. В. Этапы развития костистых рыб // Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1953. С. 207–217.

Веселов А. Е., Калюжин С. М. Экология, поведение и распределение молоди атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 2001. 160 с.

Веселов А. Е. Экологические и поведенческие основы воспроизводства атлантического лосося (*Salmo salar* L.) в реках Восточной Фенноскандии: Дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2006. 481 с.

Веселов А. Е., Сысоева М. И., Бахмет И. Н. Изменение локомоторной компоненты реореакции в онтогенезе молоди атлантического лосося // Экологические проблемы онтогенеза рыб: физиолого-биохимические аспекты. М.: МГУ, 2001. С. 125–134.

References

Aleev Yu. G. Funktsional'nye osnovy vneshnego stroeniya ryb [Functional bases of external structures of fish]. Moscow: AN SSSR, 1963. 247 p.

Baryshev I. A., Veselov A. E., Zubchenko A. V., Kalyuzhin S. M. Kormovaya baza atlanticheskogo lososya v basseine reki Varzuga [Food supply of the Atlantic salmon in the basin of the Varzuga]. *Biologiya, proizvodstvo i sostoyanie zapasov anadromnykh i presnovodnykh ryb Kol'skogo poluostrova* [The Biology, Reproduction, and Reserve of Anadromous and Freshwater Fish of the Kola Peninsula]. Murmansk: PINRO, 2005. P. 21–30.

Konstantinov A. S., Pushkar' V. Ya., Zdanovich V. V., Kostoeva T. N. Velichina i sopryazhennost' izmeneniya parametrov rosta i energetiki ryb, vyzyvayemogo ostsillyatsiei temperatury [The size and conjugation of change in fish growth and energetic parameters caused by tem-

perature oscillation]. *Vestnik Moskovskogo universiteta* [MSU Vestnik. Ser. Biol.]. 2007. Vol. 16, no. 4. P. 22–27.

Pavlov D. S. Biologicheskie osnovy upravleniya povedeniem ryb v potoke vody [Biological bases for management of fishes behavior in water flows]. Moscow: Nauka, 1979. 319 p.

Pavlov D. S. Migratsiya ryb vo vnutrennikh vodoeмах i ikh svyaz' s techeniyami // *Zhurn. obshchei biologii* [Biol. Bull. Reviews]. 1986. Vol. 47, no. 2. P. 173–182.

Protasov V. R. Zrenie i blizhnaya orientatsiya ryb. M.: Nauka, 1968. 205 p.

Protasov V. R. Povedenie ryb (mekhanizmy orientatsii i ikh ispol'zovanie v rybolovstve). M.: Pishcheprom, 1978. 296 p.

Справочник по гидравлике / Под ред. В. А. Большакова. Киев: Вища шк., 1984. 343 с.

Шустов Ю. А. Экология молоди атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 1983. 152 с.

Шустов Ю. А., Смирнов Ю. А. Питание, рост и расселение молоди лосося в реках // Лососевые нерестовые реки Онежского озера. 1978. Л.: Наука, С. 53–65.

Шустов Ю. А., Барышев И. А., Белякова Е. Н. Особенности питания молоди атлантического лосося *Salmo salar* L. в субарктической реке Варзуга и ее малых притоках (Кольский полуостров) // Биология внутренних вод. 2012. № 3. С. 66–70.

Щуров И. Л., Шустов Ю. А. Сравнительное изучение физических способностей молоди атлантического лосося и кумжи в речных условиях // *Вопр. ихтиологии*. 1998. Т. 29, № 2. С. 340–342.

Veselov A. E., Kazakov R. V., Sysoeva M. I., Bakhetmet I. N. Ontogenesis of reotactic and optomotor responses of juvenile Atlantic salmon // *Aquaculture*. 1998. Vol. 168. P. 17–26.

Поступила в редакцию 03.07.2017

(orientation mechanisms and their use in fishery)]. Moscow: Pishcheprom, 1978. 296 p.

Shchurov I. L., Shustov Yu. A. Srovnitel'noye izucheniye fizicheskikh sposobnostei molodi atlanticheskogo lososya i kumzhi v rechnykh usloviyakh [Comparative study of physical potential of juveniles of the Atlantic salmon and the brown trout in rivers]. *Vopr. ikhtiologii* [J. Ichthyology]. 1989. Vol. 29, no. 2. P. 340–342.

Shustov Yu. A. Ekologiya molodi atlanticheskogo lososya [Ecology of juvenile Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Kareliya, 1983. 152 p.

Shustov Yu. A., Smirnov Yu. A. Pitanie, rost i rassele-nie molodi lososya v rekakh [Food, growth, and distribu-tion of salmon juveniles in rivers]. *Lososevye nerestovye reki Onezhskogo ozera* [Salmon Spawning Streams of Lake Onega]. Leningrad: Nauka, 1978. P. 53–65.

Shustov Yu. A., Baryshev I. A., Belyakova E. N. Oso-bennosti pitaniya molodi atlanticheskogo lososya *Salmo salar* L. v subarkticheskoi reke Varzuga i v ee malykh pritokakh (Kol'skii poluostrov) [Features of nutrition of juve-nile Atlantic salmon *Salmo salar* L. in the subarctic river of Varzuga and its small tributaries]. *Biol. vnutrennikh vod* [Inland Water Biol.]. 2012. No. 3. P. 66–70.

Spravochnik po gidravlike [Reference book on hy-draulics]. Kiev: Vishcha shk, 1984. 343 p.

Vasnetsov V. V. O zakonornostyakh rosta ryb [On patterns of fish growth]. *Ocherki po obshchim voprosam ikhtiologii* [Essays on General Issues of Ichthyology]. Moscow; Leningrad: AN SSSR, 1953. P. 218–226.

Vasnetsov V. V. Etapy razvitiya kostistyykh ryb [De-velopmental stages of teleosts]. *Ocherki po obshchim voprosam ikhtiologii* [Essays on General Issues of

Ichthyology]. Moscow; Leningrad: AN SSSR, 1953. P. 207–217.

Veselov A. E., Kalyuzhin S. M. Ekologiya, povedenie i raspredeleniye molodi atlanticheskogo lososya [Eco-logy, behaviour, and the distribution of juvenile Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Kareliya, 2001. 160 p.

Veselov A. E. Ekologicheskie i povedencheskie os-novy vosproizvodstva atlanticheskogo lososya (*Salmo salar* L.) v rekakh Vostochnoi Fennoskandii [Ecologi-cal and behavioral bases of reproduction of an Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the rivers of East Fennoscan-dia]: DSc (Dr. of Chem.) thesis. Moscow, 2006. 481 p.

Veselov A. E., Sysoeva M. I., Bakhmet I. N. Izmene-nie lokomotornoj komponenty reoreaktsii v ontogeneze molodi atlanticheskogo lososya [Change in locomotory reotactic responses components in the ontogenesis of juvenile Atlantic salmon]. *Ekologicheskie problemy onto-geneza ryb: fiziologo-biokhimicheskie aspekty* [Ecologi-cal Issues of Fish Ontogenesis: Physiological and Bio-chemical Aspects]. Moscow: MGU, 2001. P. 125–134.

Zubchenko A. V., Veselov A. E., Kalyuzhin S. M. Biologicheskie osnovy upravleniya zapasami semgi v reke Varzuga i Varzugskom rybopromyslovom raione [Biological bases of stockpile management of the salm-on in the river of Varzuga and the Varzuga fishing area]. Murmansk; Petrozavodsk, 2002. 77 p.

Veselov A. E., Kazakov R. V., Sysoeva M. I., Bakh-met I. N. Ontogenesis of reotactic and optomotor re-sponses of juvenile Atlantic salmon. *Aquaculture*. 1998. Vol. 168. P. 17–26.

Received July 03, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ручьев Михаил Андреевич

аспирант
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: lsstyle@ya.ru
тел.: +79214571845

Ефремов Денис Александрович

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: denisefremov@list.ru
тел.: +79114103105

Скоробогатов Михаил Александрович

ведущий научный сотрудник, д. т. н.
Институт проблем экологии и эволюции
им. А. Н. Северцова РАН
Ленинский пр., 33, Москва, Россия, 119071
эл. почта: skorobogatov1@rambler.ru
тел.: +79109366948

Веселов Алексей Елпидифорович

главный научный сотрудник, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: veselov@krc.karelia.ru
тел.: +79114093805

CONTRIBUTORS:

Ruch'ev, Mikhail

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: lsstyle@ya.ru
tel.: +79214571845

Efremov, Denis

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: denisefremov@list.ru
tel.: +79114103105

Skorobogatov, Mikhail

Institute of Ecology and Evolution,
Russian Academy of Sciences
33 Leninskii Pr., 119071 Moscow, Russia
e-mail: skorobogatov1@rambler.ru
tel.: +79109366948

Veselov, Alexey

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: veselov@krc.karelia.ru
tel.: +79114093805

УДК 581.1:631.8

ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА *BRASSICACEAE* ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

В. Н. Лебедев, Г. А. Воробейков

*Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,
Санкт-Петербург*

Проведен анализ данных многолетних полевых исследований, выполненных на Биологической станции РГПУ им. А. И. Герцена (пос. Вырица Гатчинского района Ленинградской области), по выявлению эффективных штаммов ассоциативных ризобактерий для хозяйственно ценных однолетних кормовых растений, относящихся к семейству *Brassicaceae*, отличающихся интенсивным ростом и быстрой вегетацией в условиях северо-западных регионов России. Показано, что применение ассоциативных штаммов ризобактерий стимулирует ростовые процессы и увеличивает биомассу надземных органов. При инокуляции семян ассоциативными ризобактериями отмечается накопление основных минеральных элементов (азота, фосфора и калия) в надземных органах растений, что улучшает кормовое качество зеленой массы. Следует отметить, что положительное влияние отобранных бактерий на формирование урожая зеленой массы наблюдалось у всех исследованных культур. Наилучшие результаты получены при использовании бактериальных препаратов мизорин (*Arthrobacter mysorens*, штамм 7) и флавобактерин (*Flavobacterium* sp., штамм Л 30), независимо от вида растений. Данные препараты могут быть рекомендованы для применения в полевых условиях сельскохозяйственного производства.

К л ю ч е в ы е с л о в а: ризобактерии, способствующие росту растений (PGPR); ассоциативные ризобактерии; инокуляция; всхожесть; рост; продуктивность; минеральное питание.

V. N. Lebedev, G. A. Vorobeikov. PRODUCTIVITY OF *BRASSICACEAE* PLANTS INOCULATED WITH BACTERIAL PREPARATIONS

A long-term study was carried out at the Herzen State Pedagogical University's Biological Research Station in the Leningrad Region, Russia. The article presents the data analysis aimed at selecting efficient associative strains for a variety of economically valuable *Brassicaceae* plants. The selected strains increase plant biomass. The best results are obtained when using the following bacterial preparations: mizorin (*Arthrobacter mysorens*, strain 7) and flavobacterin (*Flavobacterium* sp., strain L 30).

Key words: plant growth promoting rhizobacteria (PGPR); associative rhizobacteria; inoculation; germinating capacity; growth; productivity; mineral nutrition.

Введение

В последнее время при внедрении в сельское хозяйство адаптивно-ландшафтной системы земледелия широкий интерес и практическую значимость приобретает применение бактериальных препаратов, изготовленных на основе стимулирующих рост ассоциативных ризобактерий (PGPR). Их использование способствует более эффективному усвоению элементов минерального питания из почвы и удобрений, усиливает ростовые процессы, защищает от бактериальных и грибковых инфекций, повышает толерантность растений к неблагоприятным факторам среды и увеличивает продуктивность посевов [Воробейков и др., 2005, 2011, 2015; Лебедев, Воробейков, 2006; Воробейков, Лебедев, 2007; Завалин, Кожемяков, 2010].

Ранее [Лебедев, 2008, 2014; Лебедев, Ураев, 2015а, б] нами уже использовались отобранные штаммы бактерий в отношении некоторых видов горчицы (например, горчицы белой). В данной работе впервые проведена оценка влияния инокуляции семян штаммами бактерий на шесть видов капустных растений.

Цель работы заключалась в определении эффективности влияния инокуляции семян бактериальными штаммами на рост, минеральное питание и продуктивность некоторых однолетних кормовых растений семейства Капустные (*Brassicaceae* Burbnett.) в условиях полевых опытов.

Материалы и методы

Объектами исследования служили шесть видов семейства *Brassicaceae*: горчица белая (*Sinapis alba* L.), сорт Чергинская (к-4219); горчица сарептская (*Brassica juncea* (L.) Czern.), сорт Донская-5 (к-4345); горчица черная (*Brassica nigra* (L.) Koch), сорт Tubra (к-2643); горчица абиссинская (*Brassica carinata* A. Braun), сорт BRA 1152/85 (к-4705); сурепица яровая (*Brassica campestris* L.), сорт Восточная (к-274) и рыжик посевной (*Camelina sativa* L.), сорт Воронежский (к-4140).

Инокуляцию семян проводили стандартным способом [Завалин, Кожемяков, 2010], непосредственно перед посевом, в чашках Петри. Использовали следующие бактериальные препараты: агрофил (*Agrobacterium radiobacter*, штамм 10), мизорин (*Arthrobacter mysorens*, штамм 7), флавобактерин (*Flavobacterium* sp., штамм 30) и экстрасол (*Pseudomonas fluorescens*, штамм ПГ-5). Повторность всех полевых опытов 10-кратная. Бактериальные препараты

были получены из ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, а сортовые семена растений – из ВНИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова.

Опыты проведены в полевых условиях на Биологической станции РГПУ им. А. И. Герцена в пос. Вырица Гатчинского района Ленинградской области, на протяжении пяти лет (2011–2015 гг.), на дерново-подзолистой, супесчаной почве, характеризующейся средней обеспеченностью гумусом, слабокислой реакцией среды и средним содержанием фосфора и калия [Лебедев, 2008; Юргина, 2011]. Ежегодно проводилось по два посева: весенний (май) и летний (июль).

Всхожесть семян в полевых опытах учитывали в процентах по стандартной методике на седьмой день после посева. Высоту и сухую массу надземных органов определяли в фазу цветения (укошной спелости).

Продуктивность оценивали путем измерения сухой надземной массы в фазе цветения укосным методом. Надземную часть растений срезали на уровне 1 см над поверхностью почвы. Выход сухого вещества определяли в средней пробе зеленой массы после высушивания в термостате при 105 °С. Перевод урожая зеленой массы с делянки на сухое вещество в ц/га проводился расчетным путем.

Для учета качества сенокосного корма определяли валовое содержание азота, фосфора и калия в сухой массе надземных частей растений. Определение проводили в вытяжках после мокрого озоления растительного материала по методу К. Гинзбурга. Количественное определение общего азота в растительных образцах выполнялось на автоматическом устройстве Kjeltec 2003 Analyzer Unit согласно Kjeldahl-методу на базе ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Количественный учет калия проводили на пламенном фотометре. Все определения фосфора выполняли на электрофотокориметре ФЭК-56.

Статистическую обработку полученных данных проводили методом дисперсионного анализа [Доспехов, 1985; Карпушкина, 2001] с использованием стандартных программ анализа Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Семенная всхожесть является одной из важнейших физиологических характеристик растений, во многом определяющей их дальнейшее развитие и продуктивность. Положительное влияние бактериальных препаратов на первых этапах органогенеза растения свидетельствует об эффективности процесса инокуляции. Это

Таблица 1. Всхожесть семян при их инокуляции ассоциативными ризобактериями (среднее за 2011–2015 гг.)

Варианты	Горчица белая	Горчица сарептская	Горчица черная	Горчица абиссинская	Сурепица яровая	Рыжик посевной
	% Δ	% Δ	% Δ	% Δ	% Δ	% Δ
Контроль	62,8 -	62,9 -	62,6 -	69,5 -	71,5 -	71,0 -
Агрофил	70,7 +12,6	67,6 +7,5	68,6 +9,6	79,5 +14,4	87,5 +22,4	85,5 +20,4
Мизорин	75,9 +20,9	74,6 +18,6	74,3 +18,7	78,0 +12,2	87,5 +22,4	87,0 +22,5
Флавобактерин	74,9 +19,3	71,2 +13,2	69,7 +11,3	87,5 +25,9	93,0 +30,1	92,0 +29,6
Экстрасол	67,6 +7,6	68,1 +8,3	68,7 +9,7	72,5 +4,3	80,0 +11,9	77,5 +9,2
НСР ₀₅	4,4 -	3,7 -	3,4 -	2,0 -	1,2 -	1,1 -

Примечание. Δ – % отклонения от контроля.

Таблица 2. Высота растений при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями (среднее за 2011–2015 гг.)

Варианты	Горчица белая	Горчица сарептская	Горчица черная	Горчица абиссинская	Сурепица яровая	Рыжик посевной
	см %	см %	см %	см %	см %	см %
Контроль	98,1 100,0	85,2 100,0	61,1 100,0	96,0 100,0	71,0 100,0	69,5 100,0
Агрофил	107,8 109,9	91,5 107,4	71,9 117,7	107,4 111,9	74,5 104,9	77,5 111,5
Мизорин	112,9 115,1	98,0 115,0	74,5 121,9	105,2 109,5	95,5 134,5	81,9 117,8
Флавобактерин	112,5 114,6	95,2 111,7	76,1 124,5	104,2 108,5	96,1 135,4	80,9 116,4
Экстрасол	105,9 107,9	93,5 109,7	71,9 117,7	100,4 104,5	75,9 106,9	76,7 110,4
НСР ₀₅	4,8 -	4,5 -	8,3 -	4,8 -	8,3 -	3,8 -

объясняется тем, что биохимические процессы, протекающие в фазу прорастания семян, влияют на ход обмена веществ во всех последующих стадиях морфогенеза растения [Armstrong, Nicol, 1991; Hall, Williams, 2000]. Поэтому в наших исследованиях данный показатель служил своеобразным тестом, позволяющим прогнозировать дальнейшую отзывчивость того или иного растения на ассоциативный штамм. Все исследованные виды капустных культур проявили отзывчивость на действие бактериальных препаратов. Наиболее эффективными оказались такие препараты, как мизорин и флавобактерин, созданные на основе артробактерий и флавобактерий соответственно. Полученные данные свидетельствуют о том, что большинство биопрепаратов оказывают стимулирующее влияние на всхожесть семян в начальные моменты роста проростков (табл. 1).

В наших исследованиях при инокуляции семян ризобактериями у всех шести видов растений наблюдалось увеличение высоты, но наиболее эффективно оно проявилось в вариантах с применением флаво- и артробактерий – до 114,6–135,4 % по сравнению с контролем (табл. 2).

Мы изучали содержание основных минеральных элементов – азота, фосфора и калия – в надземных органах растений при инокуляции семян бактериальными препаратами. Анализ результатов (табл. 3–5) показал, что у инокулированных ассоциативными ризобактериальными штаммами капустных растений в надземных органах происходит повышение, относительно контроля, содержания основных минеральных элементов. Наиболее эффективными бактериальными препаратами в отношении данных показателей оказались мизорин и флавобактерин.

Таблица 3. Содержание общего азота (N) в надземных органах растений при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями, % от сухой массы (среднее за 2011–2015 гг.)

Варианты	Горчица белая		Горчица сарептская		Сурепица яровая		Рыжик посевной	
	%	Δ	%	Δ	%	Δ	%	Δ
Контроль	1,70	-	2,27	-	1,79	-	1,84	-
Агрофил	1,78	+5,0	2,31	+1,6	1,74	-2,8	1,93	+5,0
Мизорин	2,02	+19,1	2,66	+16,9	1,93	+7,4	2,39	+29,8
Флавобактерин	2,10	+23,6	2,76	+21,7	2,07	+15,6	2,40	+30,5
Экстрасол	1,70	+17,7	2,33	+7,0	1,76	+1,8	2,0	+13,0
НСР ₀₅	0,05	-	0,16	-	0,05	-	0,11	-

Примечание. Δ здесь и далее – % прибавки содержания элемента минерального питания по отношению к контролю.

Таблица 4. Содержание общего фосфора (P₂O₅) в надземных органах растений при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями, % от сухой массы (среднее за 2011–2015 гг.)

Варианты	Горчица белая		Горчица сарептская		Сурепица яровая		Рыжик посевной	
	%	Δ	%	Δ	%	Δ	%	Δ
Контроль	1,0	-	1,4	-	1,3	-	1,3	-
Агрофил	1,4	+40,0	1,4	0	1,6	+23,1	1,4	+7,7
Мизорин	1,4	+40,0	1,6	+14,3	1,5	+15,4	1,5	+15,4
Флавобактерин	1,3	+30,0	1,5	+7,1	1,5	+23,1	1,5	+15,4
Экстрасол	1,2	+34,5	1,4	+5,3	1,3	+2,0	1,3	+1,4
НСР ₀₅	0,04	-	0,04	-	0,03	-	0,01	-

Таблица 5. Содержание общего калия (K₂O) в надземных органах растений при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями, % от сухой массы (среднее за 2011–2015 гг.)

Варианты	Горчица белая		Горчица сарептская		Сурепица яровая		Рыжик посевной	
	%	Δ	%	Δ	%	Δ	%	Δ
Контроль	1,6	-	2,6	-	3,0	-	3,0	-
Агрофил	2,3	+40,8	3,1	+20,8	3,6	+20,0	3,6	+20,0
Мизорин	2,3	+40,8	4,2	+63,6	3,1	+3,3	3,7	+23,3
Флавобактерин	2,6	+59,2	3,4	+32,5	3,1	+3,3	3,6	+20,0
Экстрасол	2,0	+22,3	2,9	+15,1	3,0	+3,5	3,3	+14,6
НСР ₀₅	0,4	-	0,4	-	0,1	-	0,5	-

Таблица 6. Сухая масса надземных органов растений при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями (среднее за 2011–2015 гг.)

Варианты	Горчица белая	Горчица сарептская	Горчица черная	Горчица абиссинская	Сурепица яровая	Рыжик посевной
	ц/га %	ц/га %	ц/га %	ц/га %	ц/га %	ц/га %
Контроль	120,4 ± 3,8 (100,0)	100,7 ± 10,7 (100,0)	81,8 ± 1,4 (100,0)	107,0 ± 4,3 (100,0)	125,7 ± 1,3 (100,0)	49,0 ± 3,0 (100,0)
Агрофил	158,2 ± 2,3 (131,4)	142,4 ± 6,1 (141,5)	91,2 ± 3,0 (111,5)	122,7 ± 6,8 (114,6)	143,7 ± 3,7 (114,3)	63,8 ± 3,3 (130,2)
Мизорин	170,4 ± 13,4 (141,5)	167,1 ± 10,3 (166,0)	104,0 ± 3,0 (127,1)	152,3 ± 6,1 (142,4)	183,3 ± 15,0 (145,9)	68,3 ± 3,8 (139,4)
Флавобактерин	169,3 ± 3,8 (140,6)	158,7 ± 12,4 (157,6)	94,2 ± 13,8 (115,2)	152,0 ± 16,2 (142,1)	164,7 ± 1,0 (131,0)	68,6 ± 3,7 (140,0)
Экстрасол	155,6 ± 1,1 (129,1)	132,7 ± 5,2 (131,8)	92,7 ± 1,7 (113,3)	122,3 ± 12,1 (114,3)	140,0 ± 1,1 (111,4)	66,9 ± 2,1 (136,5)
НСР ₀₅	10,1 -	11,4 -	9,4 -	12,1 -	10,8 -	3,9 -

Более высокую концентрацию азота в надземных органах растений в фазу полного цветения при обработке семян мизорином и флавобактерином можно связать с генетически

обусловленными особенностями данных штаммов, приводящими к значительному повышению содержания азота в ризосфере, а также их ростостимулирующей особенностью, что

может также улучшать использование почвенного азота и приводить к повышению качества урожая.

В наших опытах для оценки продуктивности однолетних кормовых капустных культур мы использовали показатель накопления сухой массы растений [Лебедев, Ураев, 2015а, б]. Известно, что ассоциативные ризобактерии выделяют различные биологически активные вещества (фитогормоны, антибиотики, витамины и т. д.), что способствует повышению накопления сухой массы растений [Завалин, Кожемяков, 2010]. По нашим данным (табл. 6), наибольшая продуктивность растений наблюдалась при использовании мизорина и флавобактерина. Максимальная прибавка сухой массы в этих вариантах составила от 68,3 до 183,3 ц/га (мизорин) и от 68,6 до 169,3 ц/га (флавобактерин).

Анализ отзывчивости однолетних полевых капустных культур на биопрепараты в условиях полевых опытов показывает, что наибольшее накопление сухого вещества происходит у горчицы сарептской – на 66 % при использовании артробактерий (мизорин) и на 57,6 % при использовании флавобактерий (флавобактерин).

Таким образом, обработка семян однолетних культур семейства *Brassicaceae* препаратами ассоциативных бактерий, способных к азотфиксации и выделению фитостимулирующих веществ, приводит к повышению всхожести и ускорению ростовых процессов, что позволяет растениям лучше реализовать потенциал своей продуктивности. В результате активнее развиваются как ассимиляционные надземные органы, так и корневая система, которая становится более разветвленной [Воробейков и др., 2011; Лебедев, Ураев, 2015б], что повышает площадь ее поглощения. Кроме того, данные штаммы ризобактерий улучшают минеральное питание, которое может стимулироваться не только за счет процесса ассоциативной азотфиксации, но и благодаря калий- и фосфатмобилизирующей деятельности данных микроорганизмов в зоне ризосферы [Воробейков и др., 2015]. К штаммам, которые проявили наибольший эффект на всех видах растений семейства Капустные, в первую очередь можно отнести *Arthrobacter mysorens*, штамм 7, и *Flavobacterium* sp., штамм 30, в виде изготовленных на их основе биопрепаратов мизорин и флавобактерин. Эти же ризобактерии в предыдущие годы исследования оказались наиболее эффективными при изучении разных видов горчицы. Полученные результаты не только подтверждают наши более ранние сведения, но также указывают, что представители

семейства *Brassicaceae* характеризуются сходной отзывчивостью на данные препараты. Это может быть связано с подобным биохимическим составом корневых экссудатов капустных культур, которые в одинаковой степени оказываются наиболее предпочтительными именно для ризобактериальных штаммов мизорина и флавобактерина.

Литература

- Воробейков Г. А., Бредихин В. Н., Лебедев В. Н., Юргина В. С. Биология критического периода растений в условиях нарушения влажности почвы // Известия РГПУ им. А. И. Герцена. СПб., 2015. № 173. С. 49–53.
- Воробейков Г. А., Дмитриева О. М., Павлова Т. К., Лебедев В. Н. Повышение урожайных показателей редьки масличной путем инокуляции семян ассоциативными ризобактериями // Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия: Тезисы докл. междунар. конф. (Вологда, 19–23 сентября 2005 г.). Вологда, 2005. 37 с.
- Воробейков Г. А., Лебедев В. Н. Продуктивность горчицы белой при инокуляции семян ассоциативными бактериальными штаммами // Кормопроизводство. 2007. № 10. С. 24–26.
- Воробейков Г. А., Павлова Т. К., Кондрат С. В., Лебедев В. Н., Юргина В. С., Муратова Р. Р., Макаров П. Н., Дубенская Г. И., Хмелевская И. А. Исследование эффективности штаммов ассоциативных ризобактерий в посевах различных видов растений // Известия РГПУ им. А. И. Герцена. СПб., 2011. № 141. С. 114–123.
- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
- Завалин А. А., Кожемяков А. П. Новые технологии производства и применения биопрепаратов комплексного действия. СПб.: Химиздат, 2010. 64 с.
- Карпушкина С. А. Применение Microsoft Excel для статистического анализа данных медико-биологических исследований. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2001. 152 с.
- Лебедев В. Н. Минеральное питание, рост и продуктивность горчицы белой (*Sinapis alba* L.) при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. СПб.; Пушкин, 2008. 18 с.
- Лебедев В. Н. Оценка биологической продуктивности действия PGPR *Agrobacterium* и *Flavobacterium* на горчицу белую и горчицу сарептскую // 21 century: fundamental science and technology: Матер. IV Междунар. науч.-практ. конф. (North Carlestone, USA, 16–17 июня 2014 г.). North Carlestone. 2014. Т. 2. С. 1–3.
- Лебедев В. Н., Воробейков Г. А. Влияние бактериальных препаратов на минеральное питание и продуктивность горчицы белой (*Sinapis alba* L.) // Агрехимия. 2006. № 12. С. 42–46.
- Лебедев В. Н., Ураев Г. А. Оценка эффективности инокуляции семян четырех видов горчицы

ассоциативными азотфиксирующими штаммами ризобактерий // *Фундаментальные исследования*. 2015а. № 2–25. С. 5594–5598.

Лебедев В. Н., Ураев Г. А. Перспективность инокуляции семян горчицы белой и сарептской ассоциативными азотфиксирующими штаммами ризобактерий // *Пермский аграрный вестник*. 2015б. № 11. С. 21–25.

Юргина В. С. Морфофизиологические особенности и продуктивность редьки масличной (*Raphanus sativus* L. var. *oleifera* Metzg) при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями

в условиях нормального увлажнения и почвенной засухи: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2011. 18 с.

Armstrong E. L., Nicol H. I. Reducing height and lodging in rapeseed with growth regulators // *Australian J. of Experimental Agriculture*. 1991. Vol. 31. P. 245–250.

Hall J. L., Williams L. E. Assimilate transport and partitioning in fungal biotrophic interactions // *Australian J. Plant Physiology*. 2000. Vol. 27. P. 549–560.

Поступила в редакцию 19.01.2016

References

Dospikhov B. A. Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoi obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Methods of field tests (with the fundamentals of statistical processing of research results)]. Moscow: Agropromizdat Publ., 1985. 351 p.

Karpushkina S. A. Primenenie Microsoft Excel dlya statisticheskogo analiza dannykh mediko-biologicheskikh issledovaniy [Application of Microsoft Excel for statistical analysis of biomedical research data]. Saransk: Izd-vo Mordovskogo un-ta, 2001. 152 p.

Lebedev V. N., Uraev G. A. Otsenka effektivnosti inokulyatsii semyan chetyrekh vidov gorchitsy assotsiativnymi azotfiksiruyushchimi shtammami rizobakterii [Assessment of the effectiveness of seeds inoculation of four kinds of mustard with associative nitrogen-fixing strains of rhizobacteria]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental Res.]. 2015а. No. 2 (25). P. 5594–5598.

Lebedev V. N., Uraev G. A. Perspektivnost' inokulyatsii semyan gorchitsy beloi i sarepskoi assotsiativnymi azotfiksiruyushchimi shtammami rizobakterii [The prospects of the effectiveness of seeds inoculation of four kinds of mustard with associative nitrogen-fixing strains of rhizobacteria]. *Permskii agrarnyi vestnik* [Perm Agrarian J.]. 2015b. No. 11. P. 21–25.

Lebedev V. N., Vorobeikov G. A. Vliyanie bakterial'nykh preparatov na mineral'noe pitanie i produktivnost' gorchitsy beloi (*Sinapis alba* L.) [Influence of bacterial preparations on mineral nutrition and productivity of the white mustard (*Sinapis alba* L.)]. *Agrokhimiya* [Agric. Chem.]. 2006. No. 12. P. 42–46.

Lebedev V. N. Mineral'noe pitanie, rost i produktivnost' gorchitsy beloi (*Sinapis alba* L.) pri inokulyatsii semyan assotsiativnymi rizobakteriyami [Mineral nutrition, growth, and productivity of the white mustard (*Sinapis alba* L.) due to seeds inoculation with associative rhizobacteria]: Summary of PhD (Cand. of Agr.) thesis. St. Petersburg; Pushkin, 2008. 18 p.

Lebedev V. N. Otsenka biologicheskoi produktivnosti deistviya PGPR Agrobacterium и Flavobacterium na gorchitsu beluyu i gorchitsu sarepskuyu [Evaluation of biological productivity of the impact of PGPR Agrobacterium and Flavobacterium on the white mustard and Brassica juncea]. *21 Century: Fundamental Science and Technology: Materialy IV Mezhd. nauch.-prakt. konf. (North Carlestone, USA, 16–17 iyunya 2014 g.)*. [21 Century: Fundamental Science and Technology: Proceed. of IV Int. Scientific Practical Conf. (North Carlestone,

USA, June 16–17, 2014). North Carlestone. 2014. Vol. 2. P. 1–3

Vorobeikov G. A., Bredikhin V. N., Lebedev V. N., Yurgina V. S. Biologiya kriticheskogo perioda rasteniy v usloviyakh narusheniya vlazhnosti pochvy [Critical period biology of plants in disturbed conditions of soil moisture]. *Izvestiya RGPU im. A. I. Gertsena* [Izvestia: Herzen Univ. J. Humanities Sci.]. 2015. No. 173. P. 49–53.

Vorobeikov G. A., Dmitrieva O. M., Pavlova T. K., Lebedev V. N. Povyshenie urozhainykh pokazatelei red'ki maslichnoi putem inokulyatsii semyan assotsiativnymi rizobakteriyami [The increase of oil radish productive indicators by means of seeds inoculation with associative rhizobacteria]. *Fiziologicheskie i molekulyarno-geneticheskie aspekty sokhraneniya bioraznobraziya: tezisy dokladov Mezhdunarodnoi konferentsii (Vologda, 19–23 sentyabrya 2005 g.)* [Physiological and Molecular Genetic Aspects of Biodiversity Conservation: Abs. of the Int. Conf. (Vologda, September 19–23, 2005)]. Vologda, 2005. 37 p.

Vorobeikov G. A., Lebedev V. N. Produktivnost' gorchitsy beloi pri inokulyatsii semyan assotsiativnymi bakterial'nymi shtammami [The productivity of white mustard due to seeds inoculation with associative bacterial strains]. *Kormoproizvodstvo* [Forage Prod. J.]. 2007. No. 10. P. 24–26.

Vorobeikov G. A., Pavlova T. K., Kondrat S. V., Lebedev V. N., Yurgina V. S., Muratova R. R., Makarov P. N., Dubenskaya G. I., Khmelevskaya I. A. Issledovanie effektivnosti shtammov assotsiativnykh rizobakterii v posevakh razlichnykh vidov rasteniy [The research of more effective strains of associative rhizobacteria in crops of various plant species] *Izvestiya RGPU im. A. I. Gertsena* [Izvestia: Herzen Univ. J. Humanities Sci.]. 2011. No. 141. P. 114–123.

Yurgina V. S. Morfofiziologicheskie osobennosti i produktivnost' red'ki maslichnoi (*Raphanus sativus* L. var. *oleifera* Metzg) pri inokulyatsii semyan assotsiativnymi rizobakteriyami v usloviyakh normal'nogo uvlazhneniya i pochvennoi zasukhi [Morphological and physiological features and productivity of the oil radish (*Raphanus sativus* L. var. *oleifera* Metzg) due to seeds inoculation with associative rhizobacteria in normal soil moisture and drought]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2011. 18 p.

Zavalin A. A., Kozhemyakov A. P. Novye tekhnologii proizvodstva i primeneniya biopreparatov kompleksnogo deistviya [New technologies of production and

application of biological preparations of complex effect]. St. Petersburg: Khimizdat Publ., 2010. 64 p.

Armstrong E. L., Nicol H. I. Reducing height and lodging in rapeseed with growth regulators. *Australian J. of Experimental Agriculture*. 1991. Vol. 31. P. 245–250.

Hall J. L., Williams L. E. Assimilate transport and partitioning in fungal biotrophic interactions. *Australian J. Plant Physiology*. 2000. Vol. 27. P. 549–560.

Received January 19, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лебедев Виталий Николаевич

доцент каф. ботаники, к. с.-х. н.
Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена
наб. р. Мойки, 48, Санкт-Петербург, Россия, 191186
эл. почта: antares-80@yandex.ru

Воробейков Геннадий Александрович

профессор каф. ботаники, д. с.-х. н.
Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена
наб. р. Мойки, 48, Санкт-Петербург, Россия, 191186
эл. почта: antares-80@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Lebedev, Vitalii

Herzen State Pedagogical University of Russia
48 Nab. Moiki, 191186 St. Petersburg, Russia
e-mail: antares-80@yandex.ru

Vorobeikov, Gennadii

Herzen State Pedagogical University of Russia
48 Nab. Moiki, 191186 St. Petersburg, Russia
e-mail: antares-80@yandex.ru

УДК 582.926 + 581.2:632.651

РАЗВИТИЕ ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКОЙ НЕМАТОДЫ *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* WOLL. НА КОРНЯХ ДИКОГО КЛУБНЕНОСНОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM COMMERSONII* DUN.

В. В. Лаврова, Е. М. Матвеева

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Проведено исследование возможности развития картофельной цистообразующей нематоды *Globodera rostochiensis* Woll. на корнях растений картофеля из семейства *Commersoniana* на примере *Solanum commersonii* Dun. (уругвайский картофель). В результате проведенных исследований установлено, что личинки *G. rostochiensis* способны инвазировать и проходить основные стадии развития в корнях растений *S. commersonii*. При этом значения зараженности индивидуальных растений варьировали от 98 до 171 цисты. Анализ «качества» содержимого новой генерации цист *G. rostochiensis*, развившихся на корнях *S. commersonii*, показал, что, несмотря на высокий уровень зараженности растений, жизнеспособность яиц и личинок в цистах довольно низкая за счет высокой смертности личинок I возраста внутри яиц, а также присутствия большого количества blastomeres яиц (яйца с развитыми яйцевыми оболочками и отсутствием вителлиновой жидкости; яйца, содержащие только вителлиновую жидкость без сформированной внутри личинки) и мертвых личинок II возраста, которые вылупились из яиц, но не вышли из цист. Значения коэффициента размножения нематоды свидетельствуют о сниженных репродуктивных возможностях паразита при развитии на корнях растений *S. commersonii*. Полученные результаты могут быть связаны с географическими и экологическими особенностями ареала распространения растений, которые обуславливают физиолого-биохимические качества (не связанные с генетической устойчивостью) растительного организма, оказывающие влияние на эффективность паразитирования нематоды.

Ключевые слова: картофельная цистообразующая нематода; дикий вид картофеля; восприимчивость; цисты; жизнеспособность яиц и личинок; коэффициент размножения.

V. V. Lavrova, E. M. Matveeva. DEVELOPMENT OF THE PHYTOPARASITIC NEMATODE *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* WOLL. IN THE ROOTS OF THE WILD TUBER-BEARING POTATO *SOLANUM COMMERSONII* DUN.

The ability of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* Woll. to reproduce in the roots of potato plants from the family *Commersoniana* (*Solanum commersonii* Dun., Uruguayan potato) was investigated. The results showed that *G. rostochiensis* juveniles are able to infest and develop in the roots of *S. commersonii*. The values of the nematode infection in individual plants varied from 98 to 171 cysts. Analysis of the “quality” of cysts indicated that the viability of eggs and juveniles was low due to high mortality of juveniles (J1) inside the eggs, as well as the presence of a large number of blastomere eggs (eggs lacking vitelline fluid but with well-developed eggshells; eggs containing only vitel-

line fluid but no larva) and dead juveniles (J2) that hatched from eggs but did not emerge from cysts. The low value of *G. rostochiensis* multiplication factor indicates a reduced reproductive ability of the nematode during its development in *S. commersonii* roots. The results may be due to the geographical and environmental features of the distribution area of the plants, which define their physiological and biochemical state (non-genetic resistance), affecting the success of nematode parasitism.

Key words: potato cyst nematode; wild potato; susceptibility; cysts; viability of eggs and juveniles; multiplication factor.

Введение

Картофельная цистообразующая нематода (КЦН) *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 является облигатным узкоспециализированным эндопаразитом корневой системы растений семейства *Solanaceae*, и прежде всего картофеля. В настоящее время *G. rostochiensis* широко распространена в зонах картофелеводства многих стран, в том числе Российской Федерации, и является объектом внешнего и внутреннего карантина [РМ..., 2013].

На протяжении многих лет изучаются особенности развития нематоды на культурных растениях картофеля (*S. tuberosum*, восприимчивые сорта) [Trudgill, Cotes, 1983; Greco, Moreno, 1992; Renčo, 2007; Urek et al., 2008; Ebrahimi et al., 2014]. При этом особый акцент делается на поиск факторов, подавляющих развитие паразита, с целью оптимизации контроля численности *G. rostochiensis* и защиты растений. Кроме того, в рамках исследований, направленных на изучение основных принципов взаимоотношений нематоды с хозяином, внимание ученых привлекают дикие клубненоносные виды картофеля. Известно, что *G. rostochiensis* прошла длительную сопряженную эволюцию с растениями картофеля в Южной Америке, в результате которой жизненный цикл паразита полностью синхронизирован с основными этапами развития растения-хозяина, что обеспечивает успешную инвазию. Изучение особенностей природных эволюционно сложившихся взаимоотношений диких видов картофеля с фитопаразитической нематодой позволят определить наиболее уязвимые этапы жизненного цикла паразита, выявить основные механизмы устойчивости растений к нематоде, а также осуществить подбор растений для вовлечения в селекционные программы в качестве источников устойчивости к паразиту и создать на их основе устойчивые сорта картофеля, ограничивая распространение нематоды и снижая ее вредоносность [Бирюкова и др., 2015].

Наиболее изученными дикими видами картофеля, обладающими разной степенью

устойчивости к нематоде рода *Globodera* за счет подавления ее нормального развития, являются *S. tuberosum* spp. *andigena*, *S. spengazzinii* и *S. vernei* [Jacobs et al., 1996]. Исследования последних десятилетий выделяют еще ряд видов растений рода *Solanum* как ценных источников устойчивости к паразиту [Castelli et al., 2005; Рогозина, 2012]. Большинство работ основывается на существующих коллекциях диких видов картофеля, собранных в результате научных экспедиций в Южную Америку как центр происхождения картофеля (Мексику, Боливию, Аргентину и Перу) – коллекция картофеля на базе International Potato Centre (CIP) (Перу), The Commonwealth Potato Collection (CPC) на базе Университета Джеймса Хаттона (Шотландия) и Мировая коллекция картофеля на базе Всероссийского НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова (Российская Федерация). Несмотря на многолетние научные работы, до сих пор особенности развития нематоды на диких видах картофеля остаются малоисследованными, и поиск новых устойчивых форм к *G. rostochiensis* среди диких видов продолжается. В частности, устойчивость *Solanum commersonii* (уругвайский картофель) к биотическому фактору изучена лишь частично. Известна его устойчивость к некоторым грибным и бактериальным патогенам [Narancio et al., 2013]. Однако данные об устойчивости *S. commersonii* к *G. rostochiensis* и насколько это растение подходит паразиту в качестве хозяина (создание благоприятных условий для развития) отсутствуют. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение возможности развития личинок картофельной цистообразующей нематоды *G. rostochiensis* на корнях дикого вида картофеля *S. commersonii*.

Материалы и методы

Исследование проводилось на растениях дикого вида картофеля *Solanum commersonii* Dup. (семейство *Commersoniana*), полученных на базе лаборатории сельскохозяйственных наук Университета Хельсинки, Финляндия, PhD Mervi Seppanen: растения картофеля получены

из апикальных (верхушечных) меристем этиолированных ростков клубней с последующим культивированием *in vitro* в течение трех недель при температуре 20/18 °С путем микрочеренкования на модифицированную питательную среду Мурасиге – Скуга.

Схема эксперимента по изучению размножения *G. rostochiensis* на корнях *S. commersonii* включала несколько этапов. Растения (n = 10) выращивали в сосудах с песком при поливе питательным раствором с добавлением микроэлементов в камере искусственного климата при оптимальных для роста и развития условиях – температуре 23 °С, фотопериоде (день/ночь) 12/12 ч и освещенности 10 клк в течение 2 недель. Затем растения заражали картофельной цистообразующей нематодой, патотип Ro1, путем внесения цист в прикорневую зону. Доза заражения составляла 10 цист/раст., что соответствует 2500 личинок/раст. Далее растения выращивали 1,5 месяца в камере искусственного климата при оптимальных условиях. В конце эксперимента оценивали устойчивость картофеля к заражению нематодой по численности самок (цист) нового поколения, развившихся на корнях растений. Для этого цисты выделяли из субстрата флотационным методом [Seinhorst, 1964]. Репродуктивный потенциал нематоды оценивали по коэффициенту размножения (k_r), который определяется как отношение Pf / Pi (конечная / исходная численность популяции нематоды) [Seinhorst, 1967]. Цисты нового поколения оценивали по следующим показателям: размерная характеристика – крупные (длина и ширина цисты >0,6 мкм), средние (0,5–0,6 мкм), мелкие (<0,5 мкм) (n = 40) и «качество» содержимого цист – количество яиц и личинок в одной цисте, их жизнеспособность, степень зрелости яиц (n = 30).

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера». Данные обработаны статистически с использованием пакета программ Statgraphics.

Результаты

Результаты исследования показали, что для растений *S. commersonii* характерен высокий уровень заражения *G. rostochiensis* – средняя зараженность корней составляла 129 цист/раст. При этом значения зараженности индивидуальных растений варьировали от 98 до 171 цисты.

Об особенностях развития нематоды на корнях *S. commersonii* и соответствии данного

вида растения в качестве хозяина для нематоды (установление совместимых взаимоотношений партнеров в паразитарной системе) судили по размерной характеристике цист нового поколения и «качества» их содержимого. Показано, что более 50 % популяции нематоды составляли цисты средних размеров. На доли цист мелкого и крупного размера приходилось 22 и 24 % соответственно (рис. 1).

Анализ содержимого цист показал, что в зависимости от размерной группы цисты содержат от 156 до 382 яиц и личинок. Их жизнеспособность характеризовалась как невысокая и составляла в среднем 55 % от общего количества яиц и личинок, содержащихся в цистах. При этом самая низкая жизнеспособность яиц и личинок определена для группы мелких цист (табл. 1). Следует отметить большой размах варьирования значений, что свидетельствует о колебаниях индивидуальных показателей размножения нематод.

Снижение инвазионности нового поколения нематоды происходило за счет высокой смертности полностью сформированных личинок I возраста внутри яиц, присутствия яиц, находящихся на разных стадиях бластомеризации (отсутствие в яйцах вителлиновой жидкости, развиты только яйцевые оболочки и яйца, содержащие только вителлиновую жидкость без сформированной личинки), а также мертвых личинок II возраста, которые вылупились из яиц, но не вышли из цист (рис. 2). Отмечено, что в группах крупных и средних цист преобладают бластомерные яйца (76 и 69 % соответственно), в то время как в мелких цистах – яйца, содержащие мертвые личинки I возраста (51 %) и бластомерные яйца (48 %).

Коэффициент размножения (k_r), рассчитанный на основе количества цист новой генерации, составлял 12,9. Однако учитывая тот факт, что в цистах присутствует только около 50 % жизнеспособных яиц и личинок, величина k_r значительно уменьшалась до 7,5 (табл. 2).

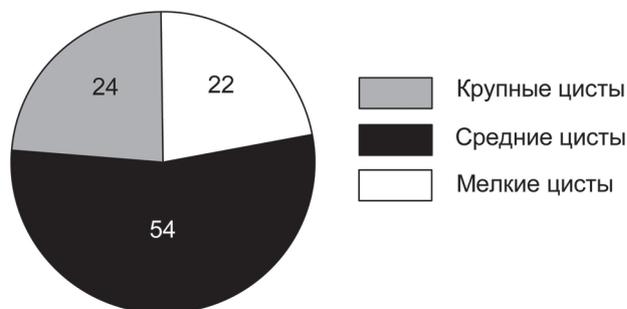


Рис. 1. Соотношение (%) размерных групп цист в популяции *G. rostochiensis*, развившихся на корнях *S. commersonii*

Таблица 1. Характеристика цист популяции *G. rostochiensis*, развившихся на корнях *S. commersonii*

Размерная категория цист	Общее кол-во яиц и личинок (в 1 цисте)	Яйца и личинки (в 1 цисте)			
		Жизнеспособные		Нежизнеспособные	
		Общее кол-во, экз.	%	Общее кол-во, экз.	%
Крупные	382 ± 163	231 ± 120	60	151 ± 99	40
Средние	255 ± 106	148 ± 107	58	107 ± 44	42
Мелкие	156 ± 40	73 ± 15	47	83 ± 18	53

Таблица 2. Численность популяции *G. rostochiensis* на корнях *S. commersonii*

Исходная численность популяций нематоды, экз./раст.		Конечная численность популяций нематоды, экз./раст.		Коэффициент размножения нематоды, k_f		
цисты	яйца и личинки	цисты	яйца и личинки	на основе количества		с учетом жизнеспособности яиц и личинок
				цист	яиц и личинок	
10	2500	129	34 099	12,9	13,6	7,5

Обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что растения *S. commersonii* обладают восприимчивостью к заражению *G. rostochiensis*. Причем степень восприимчивости (по средним значениям зараженности корневой системы) сопоставима с таковой у ранее исследованного культурного вида картофеля *S. tuberosum*, сорт Детскосельский [Матвеева, 1998] и Невский [Сысоева и др., 2011]. Причина поражения нематодой *S. commersonii* может быть связана с отсутствием природной генетической устойчивости к паразиту. Считается, что выработка у растений неких природных механизмов защиты к паразитарной инвазии, а соответственно, формирование устойчивых форм, связано с появлением в геноме так называемых генов устойчивости (*R*-генов, от англ. resistance genes), кодирующих цитоплазматические рецепторы, распознающие продукты комплементарных генов авирулентности нематоды внутри клетки растения и передающие в геном сигнал о запуске защитных реакций

[Williamson et al., 2006]. Данные гены являются ключевыми в развитии устойчивости к нематоде. К настоящему времени в геноме растений *S. commersonii* идентифицирован ряд *R*-генов, количество которых гораздо меньше, чем у *S. tuberosum* [Contaldi et al., 2013; Aversano et al., 2015]. При этом гены, обеспечивающие устойчивость к *G. rostochiensis*, пока не обнаружены. Кроме того, известно, что возникновение генетически устойчивых форм картофеля к *G. rostochiensis* происходит в результате их сопряженной эволюции, которая возможна только при совпадении ареалов распространения паразита и хозяина [Castelli et al., 2003]. Большинство устойчивых к *G. rostochiensis* растений сосредоточено на юге Южной Америки (Аргентина и Боливия), что совпадает с областью происхождения и распространения нематоды. Считается, нематоды рода *Globodera* (*G. rostochiensis* и *G. pallida*) берут свое начало в северо-западной части Аргентины. Однако после плейстоценового оледенения два близкородственных вида были разделены: центром распространения *G. pallida* стала северная

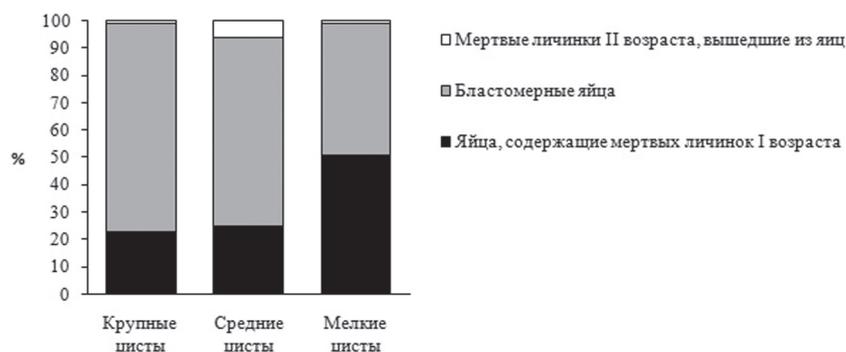


Рис. 2. Соотношение (%) групп нежизнеспособных яиц и личинок *G. rostochiensis*, развившихся на корнях *S. commersonii*



◆ Ареал распространения *G. rostochiensis*

▲ Ареал распространения диких видов растений рода *Solanum*, устойчивых к заражению *G. rostochiensis*

● Ареал распространения *S. commersonii*

Ареалы распространения *G. rostochiensis* и растений рода *Solanum* [по: Castelli et al., 2003; Narancio et al., 2013]

часть Южной Америки от озера Титикака, а *G. rostochiensis* – южная часть [Castelli et al., 2003]. В то же время областью происхождения и распространения *S. commersonii* является в основном Уругвай, а также восточная часть Аргентины и юг Бразилии [Narancio et al., 2013]. Таким образом, ареалы распространения нематоды и *S. commersonii* не совпадают (схема), соответственно, отсутствует совместная коэволюция между паразитом и хозяином, и у данного вида картофеля еще не выработалась природная генетическая (*R*-ген-опосредованная) устойчивость к нематоду.

В полученных результатах обращает на себя внимание не только факт заражения *S. commersonii*, но большая вариабельность значений зараженности индивидуальных растений: от 98 до 171 цисты на растение. Среди диких видов часто встречается проявление разной степени зараженности при отсутствии у них природной генетической устойчивости к паразиту [Trudgill, 1991], что отличается от

культурных растений картофеля (восприимчивых сортов), у которых заражение происходит примерно с одинаковой интенсивностью и различия в индивидуальной зараженности выражены в меньшей степени [Матвеева, 1998; Lavrova, Matveeva, 2015]. Такие различия могут быть связаны с тем, что восприимчивые сорта картофеля являются генетически однородными вследствие селекции при выравнивании по ряду сельскохозяйственных признаков, тогда как дикие представители рода *Solanum* обладают большим генетическим разнообразием, а соответственно, и разной реакцией на заражение. Кроме того, вариабельность в зараженности растений *S. commersonii* может в значительной степени определяться особенностями физиолого-биохимического статуса растений. Так, в ряде исследований показано, что повышенное содержание и/или активность тех или иных соединений оказывает негативное влияние на успешность прохождения паразитом жизненного цикла и возможность давать

следующее поколение, тем самым способствуя снижению паразитарной нагрузки на растительный организм и поддержанию его жизнедеятельности [Зиновьева и др., 2004; Удалова и др., 2014]. Растения *S. commersonii* характеризуются высоким содержанием сахаров, углеводов и гликоалколоидов [Vazquez et al., 1997; Seppanen, Coleman, 2003; Folgado et al., 2013]. Кроме того, растения обладают высоким уровнем некоторых PR-белков (от англ. pathogenesis-related proteins) [Folgado et al., 2013], которые играют важную роль не только в нормальной жизнедеятельности, но и участвуют в развитии защитных реакций при действии стресс-факторов, в том числе заражении фитопаразитическими организмами [Зиновьева и др., 2004]. На основании этого можно предположить, что физиолого-биохимический статус растений *S. commersonii* создает неблагоприятные условия для развития нематоды, определяя варьирование показателей зараженности отдельных растений.

Высказанное предположение находит свое подтверждение при анализе содержимого цист новой генерации *G. rostochiensis*, полученных при развитии нематоды на корнях *S. commersonii*. Известно, что «качество» содержимого цист (количество яиц и личинок, их жизнеспособность, степень зрелости яиц) является прямым отражением успешности прохождения жизненного цикла нематоды и обеспеченности личинок питательными веществами, т. е. зависит от условий их обитания в организме растения-хозяина как среде I порядка, его физиолого-биохимического и иммунного статуса. Изучение содержимого цист, развившихся на корнях растений, показало, что жизнеспособной является лишь половина всех яиц и личинок, что свидетельствует о существовании неких механизмов, препятствующих нормальному развитию личинок нематоды. Более детальный анализ нежизнеспособных яиц и личинок показал, что основной вклад в снижение инвазионности нового поколения вносит высокая смертность личинок, сформировавшихся внутри яиц, а также присутствие большого количества blastomeres яиц. Это может быть связано с ограничением питания личинок, доступности соединений, необходимых для нормальной жизнедеятельности, вследствие активности защитных реакций со стороны хозяина (например, высокая активность PR-белков). Таким образом, результаты изучения «качества» содержимого цист нового поколения *G. rostochiensis* свидетельствуют о том, что развитие инвазионных личинок нематоды после проникновения в корни растений происходило

в неблагоприятных условиях и сопровождалось нарушением репродуктивной функции сформировавшихся на корнях растений *S. commersonii* самок нематоды; это подтверждается низкими значениями коэффициента размножения паразита. Следует отметить, что полученные данные отличаются от показателей развития нематод на корнях растения восприимчивого сорта, для которых характерна более высокая репродуктивная способность и максимальная жизнеспособность яиц и личинок нового поколения (99 %) [Матвеева, 1998; Lavrova, Matveeva, 2015].

Заключение

Проведенные экспериментальные исследования показали, что личинки *G. rostochiensis* способны инвазировать и проходить основные стадии развития в корнях растений *S. commersonii*. Однако проникшие в корни личинки нематоды полностью завершить жизненный цикл не могут, подавляются репродуктивные возможности нематоды: цисты формируются, но с некачественным содержимым, что не позволяет сохранять инвазионный потенциал популяции для последующего заражения растений. Такая реакция может быть связана с географическими и экологическими особенностями ареала распространения растений, которые обуславливают физиолого-биохимические качества (не связанные с генетической устойчивостью) растительного организма, оказывающие влияние на эффективность паразитирования нематоды.

Полученные результаты свидетельствуют о различиях в реакции дикого вида картофеля и культурного представителя рода *Solanum* (*S. tuberosum*) на заражение *G. rostochiensis*, а соответственно, о различиях во взаимоотношениях между паразитом и хозяином. Несмотря на то что дикий вид картофеля *S. commersonii* является восприимчивым к заражению *G. rostochiensis* наравне с культурными растениями (восприимчивые сорта) по интенсивности инвазии, плохое «качество» цист нового поколения показывает несоответствие растений *S. commersonii* в качестве оптимального хозяина для нематоды. Полученные результаты являются предметом дальнейших исследований для изучения тонких механизмов взаимодействия партнеров в паразитарной системе.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (темы №№ 0221-2014-0004, 0221-2014-0030).

Литература

- Бирюкова В. А., Шмыгля И. В., Абросимова С. Б., Запекина Т. И., Мелешин А. А., Митюшкин А. В., Мананков В. В. Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ с использованием молекулярных маркеров // Защита картофеля. 2015. № 1. С. 3–7.
- Зиновьева С. В., Васюкова Н. И., Озерецковская О. Л. Биохимические аспекты взаимодействия растений с паразитическими нематодами // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. Т. 40, № 2. С. 133–142.
- Матвеева Е. М. Популяционные аспекты взаимодействия паразитической нематоды *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behren, 1975 и растений картофеля: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1998. 28 с.
- Рогозина Е. В. Дикие клубненозные виды рода *Solanum* L. и перспективы их использования в селекции картофеля на устойчивость к патогенам: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2012. 42 с.
- Сысоева М. И., Лаврова В. В., Матвеева Е. М., Шерудило Е. Г., Топчиева Л. В. Кросс-адаптация растений картофеля к действию низких температур и заражению картофельной цистообразующей нематодой // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 6. С. 853–858.
- Удалова Ж. В., Ревина Т. А., Герасимова Н. А., Зиновьева С. В. Участие ингибиторов протеиназы в защите растений томатов от галловых нематод // ДАН. 2014. Т. 458, № 6. С. 726–729. doi: 10.7868/S0869565214300264
- Aversano R., Contaldi F., Ercolano M. R., Grosso V., Iorizzo M., Tatino F., Xumerle L., Molin A. D., Avanzato C., Ferrarini A., Delledonne M., Sanseverino W., Cigliano R. A., Capella-Gutierrez S., Gabaldón T., Frusciante L., Bradeen J. M., Carputo D. The *Solanum commersonii* Genome Sequence Provides Insights into Adaptation to Stress Conditions and Genome Evolution of Wild Potato Relatives // The Plant Cell. 2015. Vol. 27, no. 4. P. 954–968. doi: 10.1105/tpc.114.135954
- Castelli L., Bryan G., Blok V. C., Ramsay G., Phillips M. S. Investigation of resistance specificity amongst fifteen wild *Solanum* species to a range of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* populations // Nematology. 2005. Vol. 7, no. 5. P. 689–699. doi: 10.1163/156854105775143017
- Castelli L., Ramsay G., Bryan G., Neilson S. J., Phillips M. S. New sources of resistance to the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* in the Commonwealth Potato Collection // Euphytica. 2003. Vol. 129, no. 3. P. 377–386. doi: 10.1023/A:1022264111096
- Contaldi F., Aversano R., Aiese C. R., Bradeen J. M., Buson G., Molin A. D., Delledonne M., Ercolano M. R., Ferrarini A., Frusciante L., Iorizzo M., Sanseverino W., Venturini L., Zamperin G., Carputo D. The draft genome sequence of *Solanum commersonii* Dun., a valuable source of resistant genes for potato breeding // Proceedings of the 58th Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress (Alghero, 15–18 September, 2013), Italy 2013. Poster Communication Abstract – 6.15.
- Ebrahimi N., Viaene N., Demeulemeester K., Moens M. Observations on the life cycle of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, on early potato cultivars // Nematology. 2014. Vol. 16. P. 937–952. doi: 10.1163/15685411-00002821
- Folgado R., Panis B., Sergeant K., Renaut J., Swennen R., Hausman J.-F. Differential Protein Expression in Response to Abiotic Stress in Two Potato Species: *Solanum commersonii* Dun and *Solanum tuberosum* L. // Int. J. Mol. Sci. 2013. Vol. 14, no. 3. P. 4912–4933. doi: 10.3390/ijms14034912
- Greco N., Moreno I. L. Development of *Globodera rostochiensis* during three different growing seasons in Chile // Nematropica. 1992. Vol. 22, no. 2. P. 175–181.
- Jacobs J. M. E., van Eck H. J., Horsman K., Arens P. F. P., Verkerk-Bakker B., Jacobsen E., Pereira A., Stiekema W. J. Mapping of resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* from the wild potato species *Solanum vernei* // Molecular Breeding. 1996. Vol. 2, no. 1. P. 51–60. doi: 10.1007/BF00171351
- Lavrova V. V., Matveeva E. M. Temperature as management strategy for plant-parasitic nematode *Globodera rostochiensis* Woll. // Abstracts of the Eleventh International Symposium of the Russian Society of Nematologists (Russia, Cheboksary, 6–11 July, 2015) in Russian Journal of Nematology. 2015. Vol. 23, no. 2. P. 160.
- Narancio R., Zorrilla P., Robello C., Gonzalez M., Vilaró F., Pritsch C., Dalla Rizza M. Insights on gene expression response of a characterized resistant genotype of *Solanum commersonii* Dun. against *Ralstonia solanacearum* // Eur. J. Plant Pathol. 2013. Vol. 136, no. 4. P. 823–835. doi: 10.1007/s10658-013-0210-y
- PM 7/40 (3) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2013. Vol. 43, no. 1. P. 119–138. doi: 10.1111/epp.12025
- Renčo M. Comparison of the life cycle of potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) pathotype Ro1 on selected potato cultivars // Biologia. 2007. Vol. 62. P. 195–200. doi: 10.2478/s11756-007-0029-0
- Seinhorst J. W. Methods for the extraction of *Heterodera* cysts from not previously dried soil samples // Nematologica. 1964. Vol. 10, no. 1. P. 87–94. doi: 10.1163/187529264X00664
- Seinhorst J. W. The relationship between population increase and population density in plant-parasitic nematodes // Nematologica. 1967. Vol. 13. P. 429–450. doi: 10.1163/187529267X01048
- Seppanen M. M., Coleman G. D. Characterization of genotypic variation in stress gene expression and photosynthetic parameters in potato // Plant, Cell and Environment. 2003. Vol. 26. P. 401–410.
- Trudgill D. L. Resistance to and Tolerance of Plant Parasitic Nematodes in Plants // Annual Review of Phytopathology. 1991. Vol. 29. P. 167–192. doi: 10.1146/annurev.py.29.090191.001123
- Trudgill D. L., Cotes L. M. Differences in the tolerance of potato cultivars to potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*) in field trials with and without nematicides // Annals of Applied Biology. 1983. Vol. 102, no. 2. P. 373–384. doi: 10.1111/j.1744-7348.1983.tb02707.x

Vázquez A., González G., Ferreira F., Moyna P., Kenne L. Glycoalkaloids of *Solanum commersonii* Dun. ex Poir // *Euphytica*. 1997. Vol. 95, no. 2. P. 195–201. doi: 10.1023/A:1002997616784

Williamson V. M., Kumar A. Nematode resistance in plants: the battle underground // *Trends in Genetics*. 2006. Vol. 22, no. 7. P. 396–403. doi: 10.1016/j.tig.2006.05.003

Urek G., Širca S., Geric Stare B., Dolničar P., Strajnar P. The influence of potato cyst nematode *G. rostochiensis* infestation on different potato cultivars // *Journal of Central European Agricultural*. 2008. Vol. 9, no. 1. P. 71–76.

Поступила в редакцию 02.03.2017

References

Biryukova V. A., Shmyglya I. V., Abrosimova S. B., Zapekina T. I., Meleshin A. A., Mityushkin A. V., Manankov V. V. Poisk istochnikov genov ustoichivosti k patogenam sredi obraztsov selektsionno-geneticheskikh kolleksii VNIKKH s ispol'zovaniem molekulyarnykh markerov [The search for pathogen-resistant genes sources among the samples of plant breeding and genetic collections of the All-Russian A. G. Lorch Research Institute of Potato Farming using molecular markers]. *Zashchita kartofelya* [Potato Protection]. 2015. No. 1. P. 3–7.

Matveeva E. M. Populyatsionnye aspekty vzaimodeistviya paraziticheskoi nematody *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behren, 1975 i rastenii kartofelya [Population aspects of the interaction between the parasitic nematode *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behren, 1975, and potato plants]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Moscow, 1998. 28 p.

Rogozina E. V. Dikie klubnenosnye vidy roda *Solanum* L. i perspektivy ikh ispol'zovaniya v selektsii kartofelya na ustoichivost' k patogenam [Wild tuber-bearing species of *Solanum* L. and perspectives of their use in potato selection for resistance to pathogens]: Summary of DSc (Dr. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2012. 42 p.

Sysoeva M. I., Lavrova V. V., Matveeva E. M., Sherdilo E. G., Topchieva L. V. Kross-adaptatsiya rastenii kartofelya k deistviyu nizkikh temperatur i zarazheniyu kartofel'noi tsistoobrazuyushchei nematodoi [Cross adaptation of potato plants to low temperatures and potato cyst nematode infestation]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2011. Vol. 58, no. 6. P. 853–858.

Udalova Zh. V., Revina T. A., Gerasimova N. A., Zinov'eva S. V. Uchastie ingibitorov proteinaz v zashchite rastenii tomatov ot gallovykh nematod [The participation of protease inhibitors in the protection of tomato plants from root-knot nematodes]. *DAN [Dokl. Biol. Sci.]*. 2014. Vol. 458, no. 6. P. 726–729. doi: 10.7868/S0869565214300264

Zinov'eva S. V., Vasyukova N. I., Ozeretkovskaya O. L. Biokhimicheskie aspekty vzaimodeistviya rastenii s paraziticheskimi nematodami [Biochemical aspects of plant-nematode interaction]. *Prikl. biokhimiya i mikrobiologiya* [Appl. Biochem. Microbiol.]. 2004. Vol. 40, no. 2. P. 133–142.

Aversano R., Contaldi F., Ercolano M. R., Grosso V., Iorizzo M., Tatino F., Xumerle L., Molin A. D., Avanzato C., Ferrarini A., Delledonne M., Sanseverino W., Cigliano R. A., Capella-Gutierrez S., Gabaldón T., Frusciante L., Bradeen J. M., Carputo D. The *Solanum commersonii* Genome Sequence Provides Insights into

Adaptation to Stress Conditions and Genome Evolution of Wild Potato Relatives. *The Plant Cell*. 2015. Vol. 27, no. 4. P. 954–968. doi: 10.1105/tpc.114.135954

Castelli L., Bryan G., Blok V. C., Ramsay G., Phillips M. S. Investigation of resistance specificity amongst fifteen wild *Solanum* species to a range of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* populations. *Nematology*. 2005. Vol. 7, no. 5. P. 689–699. doi: 10.1163/156854105775143017

Castelli L., Ramsay G., Bryan G., Neilson S. J., Phillips M. S. New sources of resistance to the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* in the Commonwealth Potato Collection. *Euphytica*. 2003. Vol. 129, no. 3. P. 377–386. doi: 10.1023/A:1022264111096

Contaldi F., Aversano R., Aiese C. R., Bradeen J. M., Buson G., Molin A. D., Delledonne M., Ercolano M. R., Ferrarini A., Frusciante L., Iorizzo M., Sanseverino W., Venturini L., Zamperin G., Carputo D. The draft genome sequence of *Solanum commersonii* Dun., a valuable source of resistant genes for potato breeding. *Proceedings of the 58th Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress (Alghero, 15–18 September, 2013)*, Italy 2013. Poster Communication Abstract – 6.15.

Ebrahimi N., Viaene N., Demeulemeester K., Moens M. Observations on the life cycle of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, on early potato cultivars. *Nematology*. 2014. Vol. 16. P. 937–952. doi: 10.1163/15685411-00002821

Folgado R., Panis B., Sergeant K., Renaut J., Swennen R., Hausman J.-F. Differential Protein Expression in Response to Abiotic Stress in Two Potato Species: *Solanum commersonii* Dun and *Solanum tuberosum* L. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14, no. 3. P. 4912–4933. doi: 10.3390/ijms14034912

Greco N., Moreno I. L. Development of *Globodera rostochiensis* during three different growing seasons in Chile. *Nematropica*. 1992. Vol. 22, no. 2. P. 175–181.

Jacobs J. M. E., van Eck H. J., Horsman K., Arens P. F. P., Verkerk-Bakker B., Jacobsen E., Pereira A., Stiekema W. J. Mapping of resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* from the wild potato species *Solanum vernei*. *Molecular Breeding*. 1996. Vol. 2, no. 1. P. 51–60. doi: 10.1007/BF00171351

Lavrova V. V., Matveeva E. M. Temperature as management strategy for plant-parasitic nematode *Globodera rostochiensis* Woll. Abstracts of the Eleventh International Symposium of the Russian Society of Nematologists (Russia, Cheboksary, 6–11 July, 2015) in *Russian Journal of Nematology*. 2015. Vol. 23, no. 2. P. 160.

Renčo M. Comparison of the life cycle of potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) pathotype Ro1 on selected potato cultivars. *Biologia*. 2007. Vol. 62. P. 195–200. doi: 10.2478/s11756-007-0029-0

Narancio R., Zorrilla P., Robello C., Gonzalez M., Vilaró F., Pritsch C., Dalla Rizza M. Insights on gene expression response of a characterized resistant genotype of *Solanum commersonii* Dun. against *Ralstonia solanacearum*. *Eur. J. Plant Pathol.* 2013. Vol. 136, no. 4. P. 823–835. doi: 10.1007/s10658-013-0210-y

PM 7/40 (3) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2013. Vol. 43, no. 1. P. 119–138. doi: 10.1111/epp.12025

Seinhorst J. W. Methods for the extraction of *Heterodera* cysts from not previously dried soil samples. *Nematologica*. 1964. Vol. 10, no. 1. P. 87–94. doi: 10.1163/187529264X00664

Seinhorst J. W. The relationship between population increase and population density in plant-parasitic nematodes. *Nematologica*. 1967. Vol. 13. P. 429–450. doi: 10.1163/187529267X01048

Seppanen M. M., Coleman G. D. Characterization of genotypic variation in stress gene expression and photosynthetic parameters in potato. *Plant, Cell and Environment*. 2003. Vol. 26. P. 401–410.

Trudgill D. L. Resistance to and Tolerance of Plant Parasitic Nematodes in Plants. *Annual Review of Phytopathology*. 1991. Vol. 29. P. 167–192. doi: 10.1146/annurev.py.29.090191.001123

Trudgill D. L., Cotes L. M. Differences in the tolerance of potato cultivars to potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*) in field trials with and without nematicides. *Annals of Applied Biology*. 1983. Vol. 102, no. 2. P. 373–384. doi: 10.1111/j.1744-7348.1983.tb02707.x

Vázquez A., González G., Ferreira F., Moyna P., Kenne L. Glycoalkaloids of *Solanum commersonii* Dun. ex Poir. *Euphytica*. 1997. Vol. 95, no. 2. P. 195–201. doi: 10.1023/A:1002997616784

Williamson V. M., Kumar A. Nematode resistance in plants: the battle underground. *Trends in Genetics*. 2006. Vol. 22, no. 7. P. 396–403. doi: 10.1016/j.tig.2006.05.003

Urek G., Širca S., Geric Stare B., Dolničar P., Strajnar P. The influence of potato cyst nematode *G. rostochiensis* infestation on different potato cultivars. *Journal of Central European Agricultural*. 2008. Vol. 9, no. 1. P. 71–76.

Received March 02, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лаврова Виктория Витальевна

научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Карелия, Россия, 185910
эл. почта: victoria.v.lavrova@gmail.com
тел.: (8142) 762706

Матвеева Елизавета Михайловна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Карелия, Россия, 185910
эл. почта: matveeva@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 783622

CONTRIBUTORS:

Lavrova, Victoria

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: victoria.v.lavrova@gmail.com
tel.: (8142) 762706

Matveeva, Elizaveta

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: matveeva@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 783622

УДК 631.467.2:635.21

СООБЩЕСТВА ПОЧВООБИТАЮЩИХ НЕМАТОД НА НАЧАЛЬНОМ ЭТАПЕ ФОРМИРОВАНИЯ И ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ФУНКЦИОНИРОВАНИИ АГРОЦЕНОЗА С МОНОКУЛЬТУРОЙ КАРТОФЕЛЯ

Е. М. Матвеева, А. А. Суцук, Д. С. Калинкина, В. В. Лаврова

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Изучено влияние культивирования картофеля на сообщества почвенных нематод в условиях лабораторного эксперимента (начальный этап формирования агроценоза) и на основе полевых данных (долгосрочное культивирование). В качестве контроля рассмотрены естественные луга (окрестности г. Петрозаводска, Республика Карелия). Показана перестройка структуры сообществ нематод в почвах агроценозов по сравнению с лугами: увеличение обилия бактериотрофов в ходе краткосрочных наблюдений, уменьшение доли нематод-политрофов, хищников (*K*-стратеги) и нематод, ассоциированных с растениями, в сообществе при долгосрочном функционировании агроценоза. Выявлено снижение значений индекса зрелости сообществ нематод ΣMI и индекса структурирования SI во всех вариантах исследования; увеличение индекса обогащения EI в полевых образцах. Показана эффективность использования в нематологических исследованиях понятия «метаболический отпечаток», характеризующего величину потоков углерода в почвенных трофических сетях, для оценки вклада сообществ нематод в экосистемные функции агроценозов и луговых биоценозов.

Ключевые слова: почвенные нематоды; паразиты растений; структура сообществ; монокультура; эксперимент; полевые исследования.

E. M. Matveeva, A. A. Sushchuk, D. S. Kalinkina, V. V. Lavrova. SOIL NEMATODE COMMUNITIES AT THE INITIAL STAGE OF AGROCENOSIS FORMATION AND IN LONG CULTIVATED POTATO FIELDS

Soil nematode communities influenced by potato cultivation were studied in a laboratory experiment (initial stages of agrocenosis formation) and on the basis of field data (long-term crop cultivation). Natural meadows located nearby Petrozavodsk (Republic of Karelia) were taken for reference. The soil nematode community structure in the agrocenoses has changed as compared with meadows. The number of bacterial feeders increased in the short-term observation, the contribution of *K*-strategist omnivores and predators to the nematode community, and the abundance of nematodes associated with plants decreased under long-term potato cultivation. In all the trials (experimental and field data) the values of the Maturity index and Structure index decreased. In contrast, the Enrichment index of the soil food web increased in field samples. The analysis of nematode metabolic footprints characterizing the magnitudes of carbon flow in the soil food webs is suggested as an effective tool in nematology investigations for the assessment of nematode contributions to ecosystem functions of agrocenoses and meadows.

Key words: soil nematodes; plant parasites; community structure; monoculture; experiment; field studies.

Введение

Сельскохозяйственная деятельность человека вносит значительные изменения в биоценозы. Возделываемые человеком земли сельскохозяйственного назначения, как правило, характеризуются наличием одной или нескольких выращиваемых культур, дополнительным внесением в почву питательных веществ (различные виды удобрений) и утратой основного свойства природных экосистем – устойчивости. Такие изменения не могут не сказаться на фауне почвенных организмов. Почвенные нематоды вследствие довольно высокой численности, большого видового разнообразия и широких экологических предпочтений позволяют проследить воздействие антропогенного фактора на структуру и функционирование почвенной экосистемы в целом.

В мировом масштабе исследования сообществ почвенных нематод в агроценозах ведутся в большей степени с прикладных позиций для выявления плотности популяций фитопаразитов в разных типах почв, тестирования эффективности различных видов сельскохозяйственных обработок и методов контроля их численности [Kimpinski et al., 2003; Collins et al., 2006]. Например, эффективность использования растений семейства Brassicaceae для биофумигации почв картофельных полей с различным уровнем заражения картофельной цистообразующей нематодой *Globodera rostochiensis* была оценена на основе плотности популяций паразита и структуры сообществ почвенных нематод в работе бельгийских авторов [Valdes et al., 2012]. Научные публикации по данной теме многочисленны, особенно в Европе, где находятся ведущие мировые научно-исследовательские центры по изучению нематод – паразитов растений. Кроме того, особенности нематодофауны агроэкосистем рассматриваются в зависимости от интенсивности сельскохозяйственной нагрузки [Freckman, Etema, 1993], вида выращиваемого сельскохозяйственного растения, например, сопоставление пропашных и многолетних культур [Neher, Campbell, 1994; Yeates et al., 1999], выполняется сравнение с естественными малонарушенными биоценозами [Hanel, 2003; Briar et al., 2007]. В частности, данные об изменениях структуры сообществ нематод при культивировании картофеля как одной из наиболее распространенных культур в агроценозах имеются в зарубежных

публикациях [Wasilewska, 1989; Hanel, 1994; Liang et al., 1999; Matute et al., 2013] и работах авторов статьи [Груздева, Суцук, 2008; Груздева, Матвеева, 2010; Матвеева и др., 2015].

Важный аспект влияния трансформации почвенных экосистем на педобионтов, в том числе при сельскохозяйственном использовании, касается экосистемных услуг почв, а именно группы поддерживающих услуг (почвообразование, фотосинтез, круговорот веществ и др.), необходимых для существования самой экосистемы и обеспечивающих выполнение ею других функций. Снижение уровня экосистемных услуг трансформированных почв, вызванное ухудшением их состояния, может быть диагностировано с использованием нового в нематологии понятия – метаболического отпечатка нематод (nematode metabolic footprint, NMF) [Ferris, 2010]. Дополняя разработанные ранее эколого-популяционные индексы, метаболические отпечатки обеспечивают информацию о биомассе нематод, метаболической активности и величине потоков углерода (C) и энергии в почвенных трофических сетях, что представляет собой эффективный метод мониторинга доступных ресурсов и является мерой вклада нематод в экосистемные услуги и функции почв. Тема влияния различных факторов среды на величину метаболических отпечатков нематод стала активно разрабатываться зарубежными исследователями только в последние годы [Ferris et al., 2012; Zhang et al., 2012, 2015; Hodson et al., 2014; Gutierrez et al., 2016; Kergunteuil et al., 2016]. В России к настоящему времени накоплен обширный фактический материал по эколого-популяционным индексам сообществ нематод естественных и трансформированных биоценозов [Матвеева и др., 2008, 2015; Суцук, Груздева, 2011; Матвеева, Суцук, 2016], в то же время исследования по графическому выражению метаболической активности нематод до сих пор не проводились.

Для условий Европейского Севера России имеются ограниченные сведения об изменениях фауны нематод луговых почв под влиянием распахивания и дальнейшего выращивания картофеля на начальных этапах формирования агроценоза и в срезе длительных временных периодов. В связи с этим сформулированы цели настоящего исследования: 1) выявление и сравнение кратко- и долгосрочных изменений, происходящих в сообществах почвенных

нематод агроценозов, сформированных из луговых биоценозов, в том числе с использованием новых методов анализа нематологических данных; 2) оценка роли сельскохозяйственной деятельности в формировании сообществ почвенных нематод.

Материалы и методы

Исследования сообществ почвенных нематод на начальном этапе формирования агроценоза с культурой картофеля проводились в условиях лабораторного эксперимента, тогда как влияние длительного функционирования агроценоза оценено на основе полевых данных.

Лабораторный эксперимент по изучению сообществ почвенных нематод на начальном этапе формирования агроценоза

Для изучения фауны нематод на начальном этапе формирования агроценоза проведен лабораторный эксперимент с применением камер искусственного климата. Контейнеры (40×17×15 см) заполняли почвой, отобранной в луговом биоценозе, расположенном на Агробиологической станции (АБС) ИБ КарНЦ РАН (61°45'08.79" с. ш., 34°20'47.02" в. д.). Тип почвы – дерново-среднеподзолисто-глееватая супесчаная на водно-ледниковых суглинистых отложениях, pH = 4,8; C_{орг} = 3,48 %; N_{общ} = 0,10 %. Перед проведением эксперимента в почву добавляли комплексное органоминеральное (ОМУ) гранулированное удобрение «Картофельное» и дренаж. Мини-клубни картофеля *Solanum tuberosum* (сорт Невский), полученные на базе Санкт-Петербургского аграрного университета, проращивали стандартным способом на свету и высаживали в контейнеры (по 3 клубня массой 30 ± 5 г на один контейнер, 8-кратная повторность). Далее растения выращивали в камере искусственного климата при температуре 23 °С, фотопериоде (день/ночь) 16/8 ч и освещенности 10 клк в течение 2 месяцев. Отбор образцов почвы проводился на начальном этапе постановки эксперимента – май (исходная фауна в почве, изъятая из лугового биоценоза) и по мере развития растений – июнь (25-е сутки после посадки) и июль (43-и сутки после посадки).

Полевые исследования сообществ почвенных нематод при долгосрочном функционировании агроценоза

Для изучения фауны нематод в условиях долгосрочного культивирования картофе-

ля в период 2013–2015 гг. выполнены полевые исследования в агроценозах с известной (АБС ИБ КарНЦ РАН, 61°45'02.96" с. ш., 34°20'55.42" в. д.) и неустановленной (окрестности г. Петрозаводска; 61°49'23.82" с. ш., 34°15'41.84" в. д.) историей землепользования. На опытном участке АБС почва агродерново-подзолистая легкосуглинистая, сформировавшаяся на легкосуглинистой сильно завалуненной морене (pH = 5,3; C_{орг} = 2,83 %; N_{общ} = 0,35 %); длительность культивирования картофеля – более 30 лет. Картофельное поле в окрестностях г. Петрозаводска имело следующие характеристики почвы: тип – агродерново-подзолистая тяжелосуглинистая, pH = 5,1; C_{орг} = 5,1 %; N_{общ} = 0,33 %.

Для сравнения использованы луговые биоценозы на территориях, прилегающих к картофельным полям. Луг на АБС (61°45'08.79" с. ш., 34°20'47.02" в. д.): почва дерново-среднеподзолисто-глееватая супесчаная, pH = 4,8; C_{орг} = 3,48 %; N_{общ} = 0,10 %; травяной покров сформирован ежой сборной *Dactylis glomerata* L., лисохвостом луговым *Alopecurus pratensis* L., плевелом многолетним (райграсом пастбищным) *Lolium perenne* L., мятликом луговым *Poa pratensis* L., люпином многолистным *Lupinus polyphyllus* Lindl., одуванчиком лекарственным *Taraxacum officinale* F. H. Wigg. Луг, прилегающий к картофельному полю в окрестностях Петрозаводска (61°49'23.68" с. ш., 34°15'47.60" в. д.): почва дерново-подзолистая тяжелосуглинистая, pH = 4,4; C_{орг} = 4,1 %; N_{общ} = 0,22 %; травяной покров представлен купырем лесным *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm., видами сем. Poaceae, одуванчиком лекарственным *Taraxacum officinale*, иван-чаем узколистным *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., крапивой двудомной *Urtica dioica* L., лопухом войлочным *Arctium tomentosum* Mill.

Отбор образцов почвы проводился с использованием почвенного бура на глубину 0–15 см в 9 повторностях. Выделение, фиксацию и идентификацию нематод как в ходе лабораторного эксперимента, так и при полевых исследованиях выполняли по единым методикам. Нематод из почвы выделяли по модифицированному методу Бермана с экспозицией 48 ч, фиксация – ТАФом (триэтаноламин : формалин : вода в соотношении 2:7:91) [van Bezooijen, 2006]. Идентификацию нематод осуществляли на временных глицериновых препаратах. Эколого-трофическое группирование нематод было проведено на основе классификации Йейтса [Yeates et al., 1993a, b], адаптированной на русский язык авторами статьи с выделением шести трофических групп: бактериотрофы

(Б), микотрофы (М), политрофы (П), хищники (Х), нематоды, ассоциированные с растениями (Асп) и паразиты растений (Пр).

Для оценки состояния сообществ нематод использованы следующие параметры: таксономическое разнообразие (количество родов), индекс Шеннона H' , плотность популяций (численность) нематод (кол-во экз. / 100 г сырой почвы), эколого-трофическая структура. Также были проанализированы индекс зрелости сообществ нематод (ΣMI) [Bongers, 1990] и эколого-популяционные индексы, характеризующие почвенную трофическую сеть (индексы структурирования (Structure index, SI) и обогащения (Enrichment index, EI) почвенной трофической сети, индекс преобладающего пути разложения органического вещества в почве (Channel index, CI)) [Ferris et al., 2001]. Расчет и интерпретация экологических индексов детально рассмотрены в статьях авторов [Груздева и др., 2007; Матвеева, Сузук, 2016].

Для оценки вклада сообществ почвенных нематод в экосистемные услуги и функции применено понятие «метаболический отпечаток» нематод (NMF), основанный на количестве углерода, расходуемом на образование биологической продукции (рост нематоды и формирование яиц в течение всей жизни особи), и его затратах на дыхание (углерод, используемый в метаболической активности). NMF состоит из двух компонентов: отпечатка обогащения (enrichment footprint, EF) и структурирования (structure footprint, SF), которые дают информацию о метаболической активности и величине потоков углерода и энергии на низких и высоких трофических уровнях соответственно [Ferris, 2010]. При расчете отпечатка обогащения EF большее внимание уделяется утилизации углерода нематодами-оппортунистами, такими как r -стратеги низких трофических уровней. Отпечаток структурирования SF отражает метаболическую активность нематод высоких трофических уровней, т. е. нематод, выполняющих регуляторную функцию в почвенных трофических сетях и косвенно являющихся индикаторами численности других педобионтов со сходными функциями [Ferris и др., 2012]. Расчеты и графическое представление отпечатков (значений NMF) выполнены с использованием программы NINJA: Nematode INdicator Joint Analysis (<https://sieriebriennikov.shinyapps.io/ninja/>) [Sieriebriennikov et al., 2014].

Статистическая обработка данных проведена с использованием H -критерия Краскела – Уоллиса для малого числа повторностей. Различия между группами считали достоверными при $p \leq 0,05$. Числовые данные представлены

в форме $M \pm SE$ (среднее значение \pm стандартная ошибка среднего). Расчеты выполнены при помощи программы PAST 1.68. [Hammer et al., 2001].

Аналитическая обработка почвенных проб проведена по общепринятым методикам [Аринушкина, 1970] на оборудовании ЦКП Аналитическая лаборатория ИЛ КарНЦ РАН и частично в лаборатории экологии и географии почв ИБ КарНЦ РАН. Для выполнения исследования почвенных нематод использовано оборудование (микроскоп Olympus серии CX41) ЦКП ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты и обсуждение

Краткосрочные изменения фауны и структуры сообществ почвенных нематод на начальном этапе формирования агроценоза с культурой картофеля

Результаты лабораторного эксперимента показали, что под влиянием культивирования картофеля происходит повышение численности нематод в первый месяц опыта (июнь) и дальнейшее снижение до уровня, отмеченного в исходной луговой почве. Таксономическое разнообразие (как среднее число родов, так и индекс биоразнообразия Шеннона H') демонстрирует устойчивое снижение в ходе эксперимента. Эколого-трофическая структура сообществ нематод также претерпевает изменения в посадках картофеля: возрастает обилие бактериотрофов, а доля микотрофов, нематод, ассоциированных с растениями, и паразитов растений снижается. Процентный вклад хищников и политрофов в структуру сообщества существенно не меняется (табл. 1).

Значения эколого-популяционных индексов в условиях культивирования картофеля либо уменьшались в ходе эксперимента (SI , EI), либо варьировали незначительно (CI) (табл. 1). Соотношение индексов, рассчитанных для фауны нематод исходного луга, позволяет оценить местообитание как стабильное со сложными многокомпонентными трофическими сетями (значение SI выше 50) и значительным количеством доступной органики в почве (значение EI выше 50). Низкие значения индексов SI и EI , полученные при выращивании картофеля, свидетельствуют об упрощении и нестабильности трофической сети, что в нашем случае может быть связано с изъятием дернины из лугового биоценоза и механическим перемешиванием почвы. Индекс преобладающего пути разложения

органического вещества *CI* показал, что де-струкция идет с преимущественным участием бактерий (табл. 1).

Выращивание культуры картофеля оказа-ло влияние на динамику численности доми-нирующих таксонов нематод, определивших колебания общей численности по срокам на-блюдений. Так, для популяций нематод-бак-териотрофов значительное увеличение коли-чества особей отмечено для родов *Acrobeloides* и *Mesorhabditis* на первом этапе, затем наблю-далось снижение их плотности. После двух ме-сяцев эксперимента нематоды р. *Mesorhabditis* имели численность на уровне исходной в лу-говой почве (рис. 1). Известно, что бактерио-трофы с *s-p* значением 1 (нематоды-колониза-торы) быстро увеличивают свою численность сразу после резких изменений или нарушений среды обитания (загрязнение почв, внесение удобрений, вспашка и т. д.), а затем замеща-ются нематодами со значением 2 по *s-p*-шка-ле, которые обычно преобладают в сообщест-вах, формируя базальную трофическую сеть, и за счет широкой экологической пластичнос-ти являются стабильным компонентом почв агроценозов [Ferris et al., 2001]. В нашем экс-перименте это нематоды рода *Acrobeloides*, сохраняющие высокую численность до кон-ца эксперимента.

Качественные перестройки были отмечены в комплексе нематод-фитопаразитов: плот-ность нематод р. *Paratylenchus* уменьшилась в ходе опыта, а р. *Pratylenchus* – поддержива-лась на уровне контроля с достоверным уве-личением в июне (рис. 1). Это позволяет пред-положить, что начальные этапы становления агроценоза, а именно распаивание исходной

Таблица 1. Характеристика сообществ почвенных нематод лугового биоценоза и агроценоза на первых этапах его функционирования (данные лабораторно-го эксперимента)

Показатель	Исходная фауна, луг	Начало культивирования картофеля	
	май	июнь	июль
Численность, экз./100 г почвы	1708 ± 321 ^a	2950 ± 308 ^b	1878 ± 293 ^a
Среднее число родов	37 ± 1,0 ^a	28 ± 1,5 ^b	24 ± 2,3 ^b
<i>H'</i>	4,3 ± 0,1 ^a	3,3 ± 0,1 ^b	3,2 ± 0,2 ^b
Эколого-трофические группы, %			
Б	35,4 ± 1,8 ^a	63,9 ± 2,5 ^b	68,6 ± 2,3 ^b
М	13,4 ± 1,4 ^a	6,6 ± 0,5 ^b	6,2 ± 1,1 ^b
П	5,5 ± 1,4 ^a	2,5 ± 0,4 ^b	3,4 ± 1,1 ^{ab}
Х	1,8 ± 0,6 ^a	1,5 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,4 ^a
Аспр	9,4 ± 2,1 ^a	5,3 ± 0,8 ^{ab}	1,7 ± 0,6 ^b
Пр	34,5 ± 2,7 ^a	20,2 ± 1,9 ^b	18,1 ± 1,2 ^b
Эколого-популяционные индексы			
ΣMI	2,6 ± 0,06 ^a	2,6 ± 0,02 ^a	2,5 ± 0,1 ^a
<i>SI</i>	76,2 ± 2,4 ^a	37,4 ± 3,3 ^b	35,5 ± 7,6 ^b
<i>EI</i>	71,0 ± 3,5 ^a	56,6 ± 3,5 ^{ab}	40,5 ± 5,5 ^b
<i>CI</i>	8,9 ± 3,4 ^a	7,0 ± 1,7 ^a	11,6 ± 2,8 ^a

Примечание. Здесь и в табл. 2: Б – бактериотрофы, М – микотрофы, П – политрофы, Х – хищные нематоды, Аспр – нематоды, ассоциированные с растениями, Пр – паразиты растений. *H'* – индекс Шеннона, ΣMI – индекс зрелости сообществ нематод, *SI* – индекс структурирования почвенной трофической сети, *EI* – индекс обогащения почвенной трофической сети, *CI* – индекс преобладающего пути разложе-ния органического вещества в почве. Значения с различными буквенными обозначениями статисти-чески различаются ($p \leq 0,05$).

луговой почвы и дальнейшее культивирование одного вида растений (картофеля), сопровож-даются ограничением субстрата питания для

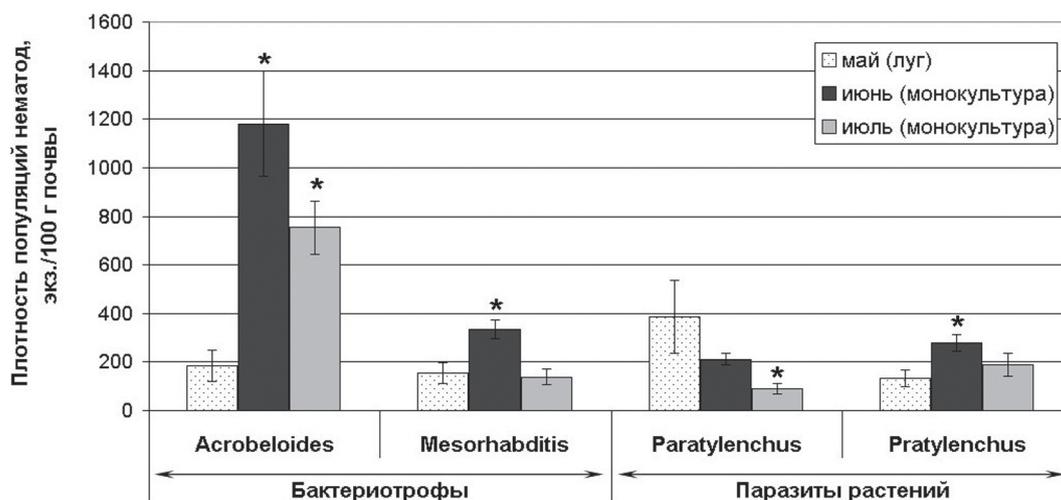


Рис. 1. Динамика численности доминирующих таксонов нематод в луговой почве и на первых этапах функционирования агроценоза с культурой картофеля (данные лабораторного эксперимента). *Различия статистически значимы по отношению к контролю ($p \leq 0,05$)

Таблица 2. Характеристика сообществ почвенных нематод луговых биоценозов и агроценозов при длительном культивировании картофеля (данные полевых исследований)

Показатель	Полевые исследования			
	АБС		Окрестности г. Петрозаводска	
	Луг	Агроценоз	Луг	Агроценоз
Численность, экз./100 г почвы	3145 ± 270 ^a	1354 ± 179 ^b	1062 ± 46 ^a	3594 ± 134 ^b
Среднее число родов	45 ± 0,6 ^a	25 ± 0,7 ^b	31 ± 0,9 ^a	35 ± 0,9 ^a
<i>H'</i>	4,5 ± 0,1 ^a	2,8 ± 0,2 ^b	4,0 ± 0,1 ^a	3,8 ± 0,1 ^a
Эколого-трофические группы, %				
Б	38,5 ± 2,3 ^a	77,7 ± 3,9 ^b	70,1 ± 5,4 ^a	70,4 ± 3,5 ^a
М	7,7 ± 2,0 ^a	14,4 ± 2,6 ^a	7,3 ± 1,5 ^a	9,4 ± 2,9 ^a
П	8,0 ± 0,8 ^a	0,6 ± 0,2 ^b	10,6 ± 2,4 ^a	6,6 ± 2,7 ^a
Х	1,2 ± 0,3 ^a	0,4 ± 0,2 ^b	5,3 ± 1,2 ^a	0,6 ± 0,3 ^b
Аср	20,3 ± 2,3 ^a	5,5 ± 2,1 ^b	4,5 ± 1,3 ^a	1,1 ± 0,9 ^b
Пр	24,3 ± 1,6 ^a	1,4 ± 0,5 ^b	2,2 ± 0,8 ^a	11,9 ± 1,3 ^b
Эколого-популяционные индексы				
<i>ΣMI</i>	2,8 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,1 ^b	2,6 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,1 ^a
<i>SI</i>	67,9 ± 3,3 ^a	12,7 ± 3,6 ^b	61,9 ± 8,5 ^a	48,9 ± 8,7 ^a
<i>EI</i>	29,2 ± 1,8 ^a	84,0 ± 1,8 ^b	56,1 ± 5,4 ^a	70,7 ± 2,2 ^b
<i>CI</i>	30,8 ± 4,9 ^a	6,7 ± 1,4 ^b	9,8 ± 4,9 ^a	7,7 ± 2,4 ^a

Примечание. Значения с различными буквенными обозначениями для пар «луг – агроценоз» статистически различаются ($p \leq 0,05$).

нематод-эктопаразитов р. *Paratylenchus*. Снижение их численности может быть связано, в частности, с отсутствием злаков – группы растений, с которой нематоды сем. Paratylenchidae тесно связаны и которую предпочитают в качестве основного растения-хозяина [Соловьева, 1986; Brzeski, 1998]. С другой стороны, формируются благоприятные условия для мигрирующих эндопаразитов р. *Pratylenchus*, питающихся на корнях культивируемых растений, в том числе картофеля.

Долгосрочные изменения фауны и структуры сообществ почвенных нематод под влиянием культивирования картофеля (полевые исследования)

Результаты полевых исследований показали, что под влиянием длительного выращивания одной сельскохозяйственной культуры (картофель) такие характеристики сообществ почвенных нематод, как численность, число родов, индекс *SI*, могут колебаться в больших пределах; эколого-трофическая структура сообществ, напротив, является более стабильным показателем (табл. 2).

Сравнение агроценозов с лугами в силу вышеописанного варьирования значений ряда параметров не показало однонаправленных изменений: численность и таксономическое разнообразие нематод как снижались (АБС, опытный участок), так и повышались (окрестности

г. Петрозаводска), что, возможно, определяется локальными условиями местообитаний – почвенными (например, запасы органического углерода и общего азота) и фитоценозными характеристиками. Анализ эколого-трофической структуры сообществ нематод показал, что в почве исследованных биоценозов доминирующей группой являются бактериотрофы: их доля была значимо выше в агроценозах (АБС, опытный участок) или сопоставима с лугами (окрестности г. Петрозаводска). Кроме того, установлено, что в агроценозах по сравнению с лугами процент политрофов, хищников и нематод, ассоциированных с растениями, был ниже (табл. 2). Изменение их вклада в сообщество нематод обусловлено увеличением интенсивности сельскохозяйственной нагрузки. Известно, что присутствие хищных и всеядных нематод, относящихся к *K*-стратегам, является показателем стабильности сообществ почвенных нематод; их численность снижается в условиях трансформации среды обитания [Bongers, 1990]. Согласно литературным данным, уменьшение численности нематод *Аср* также было показано ранее в почве интенсивно используемых сельскохозяйственных полей по сравнению с разнотравным лугом для территории Центральной Европы [Hanel, 2003].

Различия в относительном обилии фитопаразитических нематод при выращивании картофеля обусловлены присутствием в агроценозе окрестностей г. Петрозаводска личинок

картофельной цистообразующей нематоды *Globodera rostochiensis*, облигатного паразита корневой системы картофеля, возбудителя глободероза картофеля – широко распространенного и наиболее вредоносного заболевания этой культуры на территории России [Матвеева, 2011]. Доля инвазионных личинок глободеры в фауне нематод составила 8,5 %. Другой особенностью исследованных картофельных полей является отсутствие нематод р. *Paratylenchus*, что согласуется с результатами лабораторного эксперимента (рис. 1).

По большинству эколого-популяционных индексов сообщества нематод лугов и агроценозов разделяются отчетливо. Луга характеризуются высокими значениями индекса зрелости ΣMI и структурирования SI , умеренным уровнем обогащения почв (средние значения индекса EI), что в совокупности свидетельствует о стабильной почвенной экосистеме с многокомпонентными трофическими сетями. Индекс преобладающего пути разложения органического вещества CI показал, что деструкция идет с преимущественным участием бактерий. Использование земель для бессменного выращивания картофеля привело к изменению значений индексов: ΣMI , SI , CI снижались; EI , напротив, возрастал, что связано с обогащением почвы органикой (табл. 2). Такое соотношение индексов указывает на упрощенную трофическую сеть и нарушенную почвенную экосистему [Матвеева и др., 2015; Матвеева, Суцук, 2016].

Метаболический отпечаток нематод как мера вклада сообществ в экосистемные функции почв в условиях культивирования картофеля

Оценка величин метаболических отпечатков нематод, позволяющих определять потоки углерода и энергии на низких и высоких трофических уровнях, выполнена в ходе полевых исследований агроценозов с монокультурой картофеля и лугов, рассмотренных в качестве контроля. Показано, что величина отпечатка обогащения EF в агроценозах была значительно выше, что связано с внесением органического вещества в почву и последующим увеличением в экосистеме роли нематод, быстро реагирующих на обогащение (бактериотрофы и/или микотрофы) (рис. 2). С другой стороны, величина отпечатка структурирования SF , характеризующая метаболическую активность нематод высоких трофических уровней (хищники, политрофы), в агроценозах или практически не изменялась (окрестности г. Петрозаводска), или снижалась (АБС, опытный участок). Таким образом,

существование агроценоза в локальных условиях с недостатком органического углерода (АБС, опытный участок) может быстрее привести к потере регуляторной функции, выполняемой нематодами данных групп в трофической сети.

Понятие «суммарный метаболический отпечаток» нематод, NMF (площадь фигуры), вводится для определения соответствия формы отпечатка максимальным пропорциям: когда фигура ромба становится квадратом, это указывает на продукцию и скорость размножения нематод низких трофических уровней (жертва), достаточную для поддержания потребностей нематод высоких уровней (хищник), т. е. система находится в метаболическом балансе [Ferris, 2010]. Данным критериям в большей мере соответствует суммарный метаболический отпечаток луговых биоценозов (рис. 2). В исследованных агроценозах из-за высоких EF -значений, обусловленных повышенным содержанием органики в почве, отпечатки имеют форму, далекую от соответствия оптимальной фигуре квадрата. Однако в агроценозе окрестностей Петрозаводска площадь отпечатка увеличивается по сравнению с лугом. В данном случае высокое NMF -значение позволяет предположить, что величина потока углерода через сообщество нематод в почвенной трофической сети возрастает, но высокий трофический уровень реагирует позднее согласно сопряженным колебаниям численности в системе «хищник – жертва» или не способен отреагировать из-за чувствительности нематод данного уровня – политрофов и хищников – к увеличению интенсивности сельскохозяйственной нагрузки. Известно, что в почве сельскохозяйственных полей с пропашными культурами значения SF обычно низкие, EF – высокие, при этом после смены стратегии землепользования, направленной на снижение нагрузки на почвенную экосистему, нематодам высокого трофического уровня может потребоваться значительное время для восстановления плотности их популяций [Ferris, 2010].

Заключение

Настоящее исследование позволило более полно охарактеризовать сообщества нематод агроценозов и естественных лугов, оценить роль сельскохозяйственной деятельности в формировании сообществ почвенных нематод. В ходе исследования установлена реакция нематод на распаивание луговой почвы и дальнейшее выращивание отдельной сельскохозяйственной культуры (картофеля) как на начальном этапе формирования агроценоза,

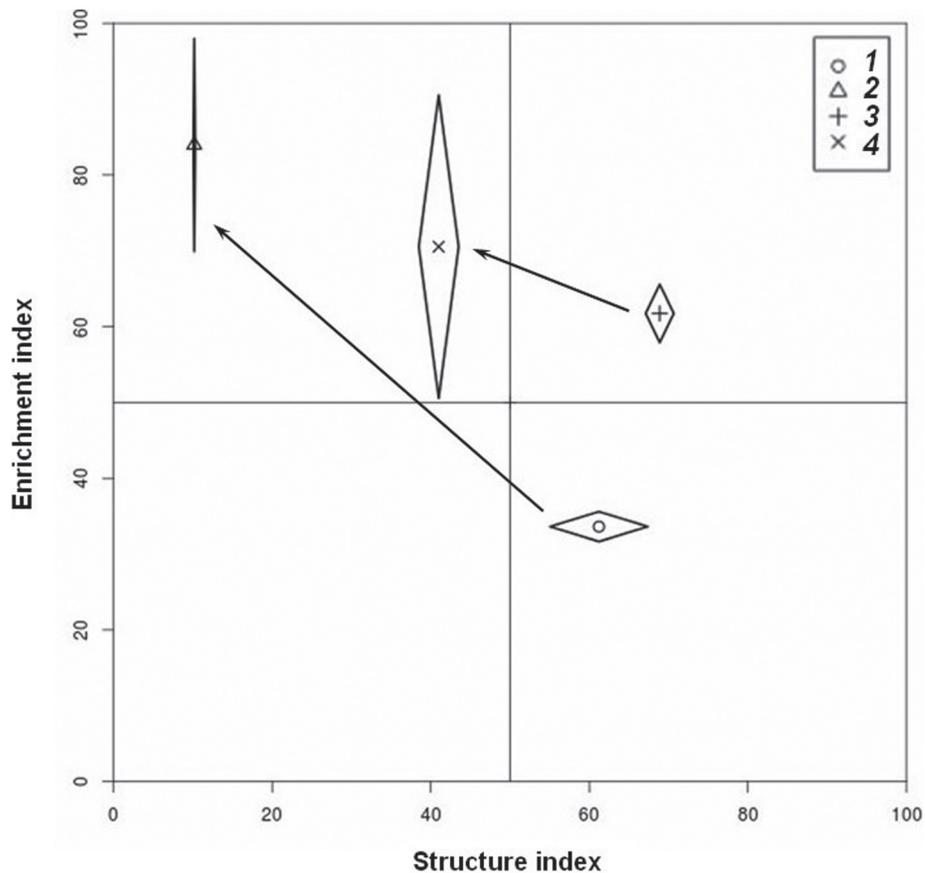


Рис. 2. Функциональные метаболические отпечатки нематод в луговых почвах и в условиях длительного культивирования картофеля (данные полевых исследований)

1 и 2 – луг и агроценоз на территории АБС; 3 и 4 – луг и агроценоз в окрестностях г. Петрозаводска

так и в срезе длительных временных периодов его функционирования. В условиях лабораторного эксперимента показано снижение таксономического разнообразия и увеличение обилия бактериотрофов в структуре сообщества как первая реакция на посадку картофеля. Среди рассмотренных параметров наиболее чувствительными к долгосрочному культивированию картофеля оказались процентный вклад в сообщество нематод, ассоциированных с растениями, и нематод-К-стратегов (политрофы, хищники). Сельскохозяйственные мероприятия влияли и на эколого-популяционные индексы, основанные на анализе фауны нематод: агроценозы характеризовались низкими значениями индекса зрелости ΣMI и структурирования SI , что указывает на упрощенную трофическую сеть и нарушенную почвенную экосистему.

Впервые показана возможность использования такой расчетной величины, как метаболический отпечаток нематод, позволяющей судить о потоках углерода на низких и высоких трофических уровнях и являющейся мерой

вклада сообществ нематод в экосистемные услуги и функции почв. Установлено, что величина отпечатка обогащения EF в агроценозах была значительно выше, чем в лугах, это связано с внесением органического вещества в почву и последующим увеличением в экосистеме роли нематод низких трофических уровней, быстро реагирующих на обогащение. Величина отпечатка структурирования SF , характеризующая метаболическую активность нематод высоких трофических уровней, показала зависимость от локальных условий местообитаний, в частности, от содержания органических веществ в почве, которые обуславливают сохранение или потерю регуляторной функции, выполняемой нематодами данных групп в трофической сети.

Результаты лабораторного эксперимента позволили выявить изменения фауны и структуры сообществ почвенных нематод на начальных этапах перехода от лугового разнотравья к агроценозу с монокультурой и в сравнительном аспекте с полевыми исследованиями показать,

что, несмотря на некоторые различия, выращивание картофеля независимо от длительности воздействия (начальный этап или многолетний агроценоз) влияет на сообщества почвенных нематод сходным образом.

Авторы признательны М. Г. Юркевич и В. А. Сидоровой за предоставленную информацию о типе почв в районе исследования.

Исследования были выполнены в рамках государственного задания (темы №№ 0221-2014-0030, 0221-2015-0006) при частичной поддержке РФФИ (№ 15-04-07675).

Литература

- Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 487 с.
- Груздева Л. И., Суцук А. А. Влияние степени загрязненности почвы картофельной цистообразующей нематодой на структуру сообществ почвенных нематод // Паразитология. 2008. Т. 42, № 6. С. 510–516.
- Груздева Л. И., Матвеева Е. М. Расширение ареала картофельной цистообразующей нематоды на Северо-Западе России // Труды Центра паразитологии. Т. XLVI: Биоразнообразие и экология паразитов. М.: Наука, 2010. С. 71–80.
- Груздева Л. И., Матвеева Е. М., Коваленко Т. Е. Изменения в комплексах почвенных нематод под влиянием удобрений // Почвоведение. 2007. № 6. С. 756–768.
- Матвеева Е. М. Картофельная цистообразующая нематода – опасный вредитель картофеля // Краткий спецкурс по нематологии. Учебно-методическое пособие. Петрозаводск: ПИН, 2011. С. 61–69.
- Матвеева Е. М., Груздева Л. И., Коваленко Т. Е., Суцук А. А. Почвенные нематоды как биоиндикаторы техногенного загрязнения таежных экосистем // Труды КарНЦ РАН. 2008. Вып. 14. С. 63–75.
- Матвеева Е. М., Суцук А. А. Особенности сообществ почвенных нематод в различных типах естественных биоценозов: информативность параметров оценки // Известия РАН. Сер. биологическая. 2016. № 5. С. 551–560. doi: 10.7868/S0002332916040093.
- Матвеева Е. М., Суцук А. А., Калинин Д. С. Сообщества почвенных нематод агроценозов с монокультурами (на примере Республики Карелия) // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 2. С. 16–32. doi: 10.17076/eco16
- Соловьева Г. И. Экология почвенных нематод. Л.: Наука, 1986. 247 с.
- Суцук А. А., Груздева Л. И. Влияние техногенного загрязнения промышленных центров Карелии на сообщества почвенных нематод // Известия ПГПУ им. В. Г. Белинского. 2011. № 25. С. 445–452.
- van Bezooijen J. Methods and techniques for nematology. Wageningen: The Netherlands, Wageningen University Press, 2006. 112 p.
- Bongers T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition // Oecologia. 1990. Vol. 83. P. 14–19. doi: 10.1007/BF00324627
- Briar S. S., Jagdale G. B., Cheng Z., Hoy C. W., Miller S. A., Grewal P. S. Indicative value of soil nematode food web indices and trophic group abundance in differentiating habitats with a gradient of anthropogenic impacts // Environmental Bioindicators. 2007. Vol. 2. P. 146–160. doi: 10.1080/15555270701590909
- Brzeski M. W. Nematodes of Tylenchina in Poland and temperate Europe. Warszawa: Museum and Institute of Zoology, Polish Academy of Sciences, 1998. 397 p.
- Collins H. P., Alva A., Boydston R. A., Cochran R. L., Hamm P. B., McGuire A., Riga E. Soil microbial, fungal, and nematode responses to soil fumigation and cover crops under potato production // Biology and Fertility of Soils. 2006. Vol. 42, no. 3. P. 247–257. doi: 10.1007/s00374-005-0022-0
- Ferris H. Form and function: Metabolic footprints of nematodes in the soil food web // European Journal of Soil Biology. 2010. Vol. 46, no. 2. P. 97–104. doi: 10.1016/j.ejsobi.2010.01.003
- Ferris H., Bongers T., de Goede R. G. M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept // Applied Soil Ecology. 2001. Vol. 18. P. 13–29. doi: 10.1016/S0929-1393(01)00152-4
- Ferris H., Sanchez-Moreno S., Brennan E. B. Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production // Applied Soil Ecology. 2012. Vol. 61. P. 16–25. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.04.006
- Freckman D. W., Ettema C. H. Assessing nematode communities in agroecosystems of varying human intervention // Agriculture, ecosystems and environment. 1993. Vol. 45. P. 239–261.
- Gutierrez C., Fernandez C., Escuer M., Campos-Herrera R., Rodriguez M. E. B., Carbonell G., Rodriguez Martin J. A. Effect of soil properties, heavy metals and emerging contaminants in the soil nematodes diversity // Environmental pollution. 2016. Vol. 213. P. 184–194. doi: 10.1016/j.envpol.2016.02.012
- Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis // Paleontological Electronica. 2001. 4 (1). P. 1–9. URL: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm (дата обращения: 16.05.2017).
- Hanel L. Structure and dynamics of soil nematode communities in wheat and potato fields // Biologia, Bratislava. 1994. Vol. 49. P. 153–159.
- Hanel L. Recovery of soil nematode populations from cropping stress by natural secondary succession to meadow land // Applied Soil Ecology. 2003. Vol. 22. P. 255–270.
- Hodson A. K., Ferris H., Hollander A. D., Jackson L. E. Nematode food webs associated with native perennial plant species and soil nutrient pools in California riparian oak woodlands // Geoderma. 2014. Vol. 228–229. P. 182–191. doi: 10.1016/j.geoderma.2013.07.021
- Kergunteuil A., Campos-Herrera R., Sanchez-Moreno S., Vittoz P., Rasmann S. The abundance, diversity, and metabolic footprint of soil nematodes is highest in high elevation alpine grasslands // Frontiers in Eco-

logy and Evolution. 2016. Vol. 4. P. 1–12. doi: 10.3389/fevo.2016.00084

Kimpinski J., Gallant C. E., Henry R., Macleod J. A., Sanderson J. B., Sturz A. V. Effect of compost and manure soil amendments on nematodes and on yields of potato and barley: A 7-year study // *J. of Nematol.* 2003. Vol. 35, no. 3. P. 289–293.

Liang W. J., Lavian I., Steinberger Y. Dynamics of nematode community composition in a potato field // *Pedobiologia.* 1999. Vol. 43. P. 459–469.

Matute M. M., Manning Y. A., Kaleem M. I. Community structure of soil nematodes associated with *Solanum tuberosum* // *J. Agr. Sci.* 2013. Vol. 5, no. 1. P. 44–53. doi: 10.5539/jas.v5n1p44

Neher D. A., Campbell C. L. Nematode communities and microbial biomass in soils with annual and perennial crops // *Applied soil ecology.* 1994. Vol. 1. P. 17–28. doi: 10.1016/0929-1393(94)90020-5

Seriebriennikov B., Ferris H., de Goede R. G. M. NINJA: An automated calculation system for nematode-based biological monitoring // *Eur. J. Soil Biol.* 2014. Vol. 61. P. 90–93. doi: 10.1016/j.ejsobi.2014.02.004

Valdes Y., Viaene N., Moens M. Effects of yellow mustard amendments on the soil nematode community in a potato field with focus on *Globodera rostochiensis* // *Applied soil ecology.* 2012. Vol. 59. P. 39–47. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.03.011

Wasilewska L. Impact of human activities on nematode communities in terrestrial ecosystems // *Ecology of arable lands – perspectives and challenges*

/ Eds. M. Clarholm, L. Bergstrom. Kluwer Academic Publishers. 1989. P. 123–132.

Yeates G. W., Bongers T., de Goede R. G. M., Freckman D. W., Georgieva S. S. Feeding habits in soil nematode families and genera: An outline for soil ecologists // *J. of Nematol.* 1993a. Vol. 25, no. 3. P. 315–331.

Yeates G. W., Wardle D. A., Watson R. N. Relationships between nematodes, soil microbial biomass and weed-management strategies in maize and asparagus cropping systems // *Soil Biology and Biochemistry.* 1993b. Vol. 25, no. 7. P. 869–876. doi: 10.1016/0038-0717(93)90089-t

Yeates G. W., Wardle D. A., Watson R. N. Responses of soil nematode populations, community structure, diversity and temporal variability to agricultural intensification over a seven-year period // *Soil Biology and Biochemistry.* 1999. Vol. 31. P. 1721–1733.

Zhang X., Li Q., Zhu A., Liang W., Zhang J., Steinberger Y. Effects of tillage and residue management on soil nematode communities in North China // *Ecological Indicators.* 2012. Vol. 13, iss. 1. P. 75–81. doi: 10.1016/j.ecolind.2011.05.009

Zhang X., Guan P., Wang Y., Li Q., Zhang S., Zhang Z., Bezemer T. M., Liang W. Community composition, diversity and metabolic footprints of soil nematodes in differently-aged temperate forests // *Soil biology and biochemistry.* 2015. Vol. 80. P. 118–126. doi: 10.1016/j.soilbio.2014.10.003

Поступила в редакцию 10.07.2017

References

Arinushkina E. V. Rukovodstvo po khimicheskomu analizu pochv [A manual of soil chemical analysis]. Moscow: MGU, 1970. 487 p.

Gruzdeva L. I., Sushchuk A. A. Vliyanie stepeni zarazhennosti pochvy kartofel'noi tsistoobrazuyushchei nematodoi na strukturu soobshchestv pochvennykh nematod [Effect of soil infection with potato cyst-forming nematodes on community structure of soil-inhabiting nematodes]. *Parazitologiya* [Parasitology]. 2008. Vol. 42, no. 6. P. 510–516.

Gruzdeva L. I., Matveeva E. M. Rasshirenie areala kartofel'noi tsistoobrazuyushchei nematody na Severo-Zapade Rossii [Spreading of potato cyst nematode in North-West Russia]. *Trudy Tsentra parazitologii* [Trans. of the Center of Parasitology]. Vol. XLVI: Bioraznoobrazie i ekologiya parazitov [Biodiversity Ecol. Parasites]. Moscow: Nauka, 2010. P. 71–80.

Gruzdeva L. I., Matveeva E. M., Kovalenko T. E. Changes in soil nematode communities under the impact of fertilizers. *Eurasian Soil Science.* 2007. Vol. 40, no. 6. P. 681–693. doi: 10.1134/S1064229307060105.

Matveeva E. M. Kartofel'naya tsistoobrazuyushchaya nematoda – opasnyi vreditel' kartofelya [Potato cyst nematode as a dangerous pest of potatoes]. *Kratkii spetskurs po nematologii* [A Short Course on Nematology: a Handbook]. Petrozavodsk: PIN, 2011. P. 61–69.

Matveeva E. M., Gruzdeva L. I., Kovalenko T. E., Sushchuk A. A. Pochvennye nematody kak bioindikatory

tekhnogennogo zagryazneniya taezhnykh ekosistem [Soil nematodes as bioindicators of technogenic pollution of taiga ecosystems]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2008. Iss. 14. P. 63–75.

Matveeva E. M., Sushchuk A. A. Osobennosti soobshchestv pochvennykh nematod v razlichnykh tipakh estestvennykh biotsenozov: informativnost' parametrov otsenki [Features of soil nematode communities in various types of natural biocenoses: effectiveness of assessment parameters]. *Izvestiya RAN* [Biol. Bull.]. 2016. Vol. 43, iss. 5. P. 474–482. doi: 10.1134/S1062359016040099

Matveeva E. M., Sushchuk A. A., Kalinkina D. S. Soobshchestva pochvennykh nematod agrotsenozov s monokul'turami (na primere Respubliki Kareliya) [Soil nematode communities under monoculture agrocenoses (example of the Republic of Karelia)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 2. P. 16–32. doi: 10.17076/eco16

Solov'eva G. I. Ekologiya pochvennykh nematod [Ecology of soil nematodes]. Leningrad: Nauka, 1986. 247 p.

Sushchuk A. A., Gruzdeva L. I. Vliyanie tekhnogennogo zagryazneniya promyshlennykh tsentrov Karelii na soobshchestva pochvennykh nematod [Effect of anthropogenic pollution of the Karelian industrial centres on the soil nematode communities]. *Izvestiya PGPU im. V. G. Belinskogo* [Proceed. of PSPU named after V. G. Belinsky]. 2011. No. 25. P. 445–452.

van Bezooijen J. Methods and techniques for nematology. The Netherlands, Wageningen: Wageningen University Press, 2006. 112 p.

Bongers T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*. 1990. Vol. 83. P. 14–19. doi: 10.1007/BF00324627

Briar S. S., Jagdale G. B., Cheng Z., Hoy C. W., Miller S. A., Grewal P. S. Indicative value of soil nematode food web indices and trophic group abundance in differentiating habitats with a gradient of anthropogenic impacts. *Environmental Bioindicators*. 2007. Vol. 2. P. 146–160. doi: 10.1080/15555270701590909

Bzreski M. W. Nematodes of Tylenchina in Poland and temperate Europe. Warszawa: Museum and Institute of Zoology, Polish Academy of Sciences, 1998. 397 p.

Collins H. P., Alva A., Boydston R. A., Cochran R. L., Hamm P. B., McGuire A., Riga E. Soil microbial, fungal, and nematode responses to soil fumigation and cover crops under potato production. *Biology and Fertility of Soils*. 2006. Vol. 42, no. 3. P. 247–257. doi: 10.1007/s00374-005-0022-0

Ferris H. Form and function: Metabolic footprints of nematodes in the soil food web. *European Journal of Soil Biology*. 2010. Vol. 46, no. 2. P. 97–104. doi: 10.1016/j.ejsobi.2010.01.003

Ferris H., Bongers T., de Goede R. G. M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*. 2001. Vol. 18. P. 13–29. doi: 10.1016/S0929-1393(01)00152-4

Ferris H., Sanchez-Moreno S., Brennan E. B. Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. *Applied Soil Ecology*. 2012. Vol. 61. P. 16–25. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.04.006

Freckman D. W., Ettema C. H. Assessing nematode communities in agroecosystems of varying human intervention. *Agriculture, ecosystems and environment*. 1993. Vol. 45. P. 239–261.

Gutierrez C., Fernandez C., Escuer M., Campos-Herrera R., Rodriguez M. E. B., Carbonell G., Rodriguez Martin J. A. Effect of soil properties, heavy metals and emerging contaminants in the soil nematodes diversity. *Environmental pollution*. 2016. Vol. 213. P. 184–194. doi: 10.1016/j.envpol.2016.02.012

Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontological Electronica*. 2001. 4 (1). 9 pp. URL: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm (accessed: 16.05.2017).

Hanel L. Structure and dynamics of soil nematode communities in wheat and potato fields. *Biologia*. Bratislava. 1994. Vol. 49. P. 153–159.

Hanel L. Recovery of soil nematode populations from cropping stress by natural secondary succession to meadow land. *Applied Soil Ecology*. 2003. Vol. 22. P. 255–270.

Hodson A. K., Ferris H., Hollander A. D., Jackson L. E. Nematode food webs associated with native perennial plant species and soil nutrient pools in California riparian oak woodlands. *Geoderma*. 2014. Vol. 228–229. P. 182–191. doi: 10.1016/j.geoderma.2013.07.021

Kergunteuil A., Campos-Herrera R., Sanchez-Moreno S., Vittoz P., Rasmann S. The abundance, diversity, and metabolic footprint of soil nematodes is highest in high elevation alpine grasslands. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2016. Vol. 4. P. 1–12. doi: 10.3389/fevo.2016.00084

Kimpinski J., Gallant C. E., Henry R., Macleod J. A., Sanderson J. B., Sturz A. V. Effect of compost and manure soil amendments on nematodes and on yields of potato and barley: A 7-year study. *J. of Nematol.* 2003. Vol. 35, no. 3. P. 289–293.

Liang W. J., Lavian I., Steinberger Y. Dynamics of nematode community composition in a potato field. *Pedobiologia*. 1999. Vol. 43. P. 459–469.

Matute M. M., Manning Y. A., Kaleem M. I. Community structure of soil nematodes associated with *Solanum tuberosum*. *J. of Agricultural Sci.* 2013. Vol. 5, no. 1. P. 44–53. doi: 10.5539/jas.v5n1p44

Neher D. A., Campbell C. L. Nematode communities and microbial biomass in soils with annual and perennial crops. *Applied soil ecology*. 1994. Vol. 1. P. 17–28. doi: 10.1016/0929-1393(94)90020-5

Sieriebriennikov B., Ferris H., de Goede R. G. M. NINJA: An automated calculation system for nematode-based biological monitoring. *Eur. J. of Soil Biol.* 2014. Vol. 61. P. 90–93. doi: 10.1016/j.ejsobi.2014.02.004

Valdes Y., Viaene N., Moens M. Effects of yellow mustard amendments on the soil nematode community in a potato field with focus on *Globodera rostochiensis*. *Applied soil ecology*. 2012. Vol. 59. P. 39–47. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.03.011

Wasilewska L. Impact of human activities on nematode communities in terrestrial ecosystems. *Ecology of arable lands – perspectives and challenges*. Kluwer Academic Publishers, 1989. P. 123–132.

Yeates G. W., Bongers T., de Goede R. G. M., Freckman D. W., Georgieva S. S. Feeding habits in soil nematode families and genera: An outline for soil ecologists. *J. of Nematol.* 1993a. Vol. 25, no. 3. P. 315–331.

Yeates G. W., Wardle D. A., Watson R. N. Relationships between nematodes, soil microbial biomass and weed-management strategies in maize and asparagus cropping systems. *Soil Biol. and Biochem.* 1993b. Vol. 25, no. 7. P. 869–876. doi: 10.1016/0038-0717(93)90089-t

Yeates G. W., Wardle D. A., Watson R. N. Responses of soil nematode populations, community structure, diversity and temporal variability to agricultural intensification over a seven-year period. *Soil Biol. and Biochem.* 1999. Vol. 31. P. 1721–1733.

Zhang X., Li Q., Zhu A., Liang W., Zhang J., Steinberger Y. Effects of tillage and residue management on soil nematode communities in North China. *Ecological Indicators*. 2012. Vol. 13, iss. 1. P. 75–81. doi: 10.1016/j.ecolind.2011.05.009

Zhang X., Guan P., Wang Y., Li Q., Zhang S., Zhang Z., Bezemer T. M., Liang W. Community composition, diversity and metabolic footprints of soil nematodes in differently-aged temperate forests. *Soil Biol. and Biochem.* 2015. Vol. 80. P. 118–126. doi: 10.1016/j.soilbio.2014.10.003

Received July 10, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Матвеева Елизавета Михайловна

старший научный сотрудник лаб. паразитологии животных и растений, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: matveeva@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 783622

Сушук Анна Алексеевна

научный сотрудник лаб. паразитологии животных и растений, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: anna_sushchuk@mail.ru
тел.: (8142) 762706

Калинкина Дарья Сергеевна

аспирант, младший научный сотрудник лаб. паразитологии животных и растений
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: dania_22@mail.ru
тел.: (8142) 762706

Лаврова Виктория Витальевна

научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: victoria.v.lavrova@gmail.com
тел.: (8142) 762706

CONTRIBUTORS:

Matveeva, Elizaveta

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: matveeva@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 783622

Sushchuk, Anna

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: anna_sushchuk@mail.ru
tel.: (8142) 762706

Kalinkina, Darya

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: dania_22@mail.ru
tel.: (8142) 762706

Lavrova, Victoria

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: victoria.v.lavrova@gmail.com
tel.: (8142) 762706

УДК 58.036.5:546.48

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И КАДМИЯ

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

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Изучали реакцию растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на комбинированное (последовательное) действие холода (4 °С) и сульфата кадмия (100 мкМ). Предобработка проростков в течение 1 сут кадмием вызывала повышение их холодоустойчивости, в дальнейшем при температуре 4 °С она продолжала нарастать, достигая максимума через 1–2 сут, но к концу опыта (7 сут) несколько снижалась. Вместе с тем кадмий не препятствовал накоплению сырой и сухой биомассы побегов при последующем действии на проростки температуры 4 °С, хотя отрицательно сказывался на суммарном содержании хлорофиллов в листьях. Суточная предобработка проростков холодом также вызывала повышение их холодоустойчивости, которая сохранялась при последующем действии кадмия в течение нескольких суток, но через 6–7 сут заметно снижалась. Кроме того, предобработка холодом уменьшала накопление сырой и сухой биомассы побегов пшеницы, а также суммарное содержание хлорофиллов в листьях при последующем продолжительном действии кадмия. Сделан вывод о том, что реакция растений пшеницы на длительное воздействие (7 сут) низкой положительной температуры или кадмия заметно изменяется, если ему предшествует даже непродолжительное (1 сут) воздействие другого стресс-фактора. В частности, воздействие кадмия, предшествующее действию холода, приводило к частичному «сбою» программы холодовой адаптации, в результате чего устойчивость растений не достигала уровня, характерного для холодового закаливания при температуре 4 °С, а предобработка растений холодом, в свою очередь, усиливала негативные эффекты кадмия на холодоустойчивость, накопление биомассы и содержание фотосинтетических пигментов в листьях пшеницы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; низкая положительная температура; кадмий; предобработка; холодоустойчивость; накопление биомассы; фотосинтетические пигменты.

Yu. V. Venzhik, A. F. Titov, V. V. Talanova. RESPONSE OF WHEAT PLANTS TO THE COMBINED IMPACT OF LOW TEMPERATURE AND CADMIUM

The response of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to a combined (consecutive) impact of low temperature (4 °C) and cadmium sulphate (100 μM) was investigated. Pretreatment of the seedlings with cadmium for 1 day caused an increase in cold tolerance, which continued during the following exposure to the 4 °C temperature, reaching a maximum after 1–2 days, but decreasing somewhat in the end of the experiment (7 d). At the same time cadmium did not prevent the accumulation of fresh and dry biomass of the shoots at subsequent exposure of the seedlings to 4 °C temperature, although it negatively affected the total chlorophyll content in the leaves. Pretreatment of the seedlings during

1 day also caused an increase in their cold tolerance, which persisted for a few days at subsequent exposure to cadmium, but decreased significantly in 6–7 days. Moreover, the chilling pretreatment decreased the accumulation of fresh and dry biomass of wheat shoots as well as the total chlorophyll content in the leaves at the subsequent prolonged cadmium impact. It was concluded that the response of wheat plants to a prolonged impact (7 d) of a low non-freezing temperature or cadmium changed significantly if preceded even by a short-term (1 d) treatment with the other stress factor. In particular, exposure to cadmium before chilling partially ‘disrupted’ the programme of cold adaptation, wherefore the plants’ resistance did not reach the level typical for cold hardening at a temperature of 4 °C, and cold pretreatment of the plants, in turn, aggravated the negative effects of cadmium on cold tolerance, biomass accumulation and the content of photosynthetic pigments in wheat leaves.

Key words: *Triticum aestivum* L.; low non-freezing temperature; cadmium; pretreatment; cold tolerance; accumulation of biomass; photosynthetic pigments.

Введение

В естественных условиях растения на протяжении всей жизни многократно подвергаются воздействию тех или иных стресс-факторов или их комбинированному (последовательному или одновременному) действию. Поэтому в ходе эволюции растения выработали целый спектр защитно-приспособительных реакций и механизмов, которые позволяют им выживать в самых различных неблагоприятных условиях. Как показывает анализ литературы, многие из этих механизмов, возможно, большая часть, носят неспецифический (общий) характер [Чиркова, 2002; Кузнецов, Дмитриева, 2006; Титов и др., 2006]. Благодаря своей универсальности такие механизмы оказываются весьма эффективными, особенно в тех случаях, когда растения подвергаются одновременному воздействию не одного, а двух или более стресс-факторов, причем разной природы. В условиях Севера такими стресс-факторами могут, например, быть низкая температура (фактор физической природы) и тяжелые металлы (фактор химической природы). В подобных случаях можно ожидать, что реакция растений на их комбинированное воздействие может отличаться от того, как они реагируют на каждый из стресс-факторов в отдельности. Имеющиеся в литературе данные подтверждают это [Zhao et al., 2009; Pourghasemian et al., 2013; Репкина и др., 2014; Sergeant et al., 2014; Венжик и др., 2015a], но явно недостаточны для более широких обобщений. Таким образом, нами предпринято исследование реакции растений пшеницы на комбинированное действие низкой температуры и кадмия, который является одним из наиболее распространенных и токсичных тяжелых металлов. При этом нас интересовало, как изменяется реакция растений на продолжительное действие каждого из факторов, если ему

предшествовало непродолжительное воздействие другого.

Материалы и методы

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе с добавлением микроэлементов в камере искусственного климата при температуре воздуха 22 °C, его относительной влажности 60–70 %, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста проростки подвергали комбинированному воздействию низкой температуры и кадмия по схеме:

- 1) $Cd \rightarrow 4^{\circ}C$ – предобработка сульфатом кадмия (100 мкМ) в течение 1 сут, затем воздействие температуры 4 °C в течение 7 сут (без кадмия);
- 2) $4^{\circ}C \rightarrow Cd$ – предобработка холодом (4 °C) в течение 1 сут, затем воздействие сульфата кадмия (100 мкМ) в течение 7 сут.

О холодоустойчивости листьев судили по температуре (LT_{50}), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток паренхимы листовых высеков после их 5-минутного промораживания в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/–20 («Интерм», Россия) при последовательном изменении температур с интервалом 0,4 °C [Балагурова и др., 1982]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) с объективом 40× по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Рост растений оценивали по накоплению сырой и сухой биомассы в соответствии со стандартной методикой [Рогожин, Рогожина, 2013]. Содержание хлорофиллов измеряли с помощью спектрофотометра СФ-2000 («Спектр», Россия) в спиртовой вытяжке [Lichtenthaler, Wellburn, 1983].

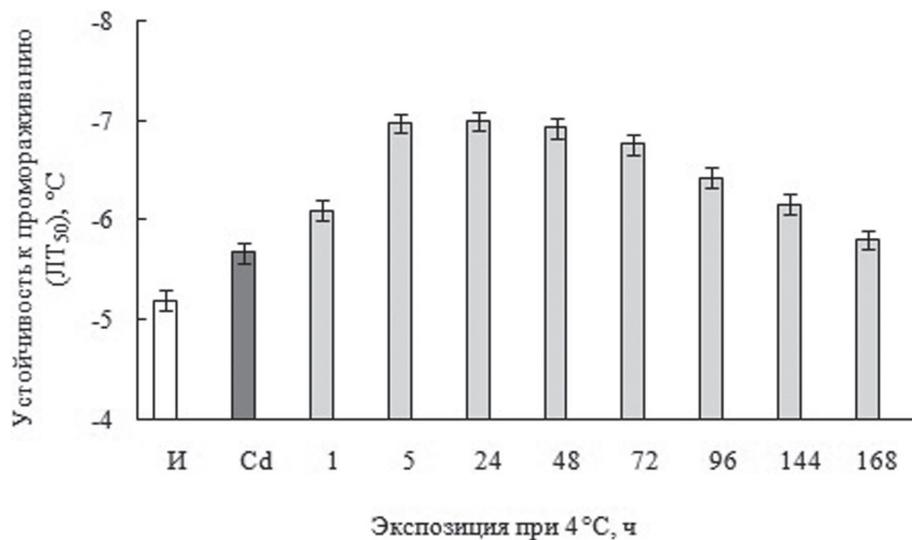


Рис. 1. Влияние суточной предобработки кадмием на холодоустойчивость клеток листьев проростков пшеницы, подвергнутых недельному воздействию температуры 4 °C (Cd→4°C). Здесь и на рис. 2, 3: И – исходный уровень, Cd – предобработка кадмием (100 мкМ) в течение 1 сут

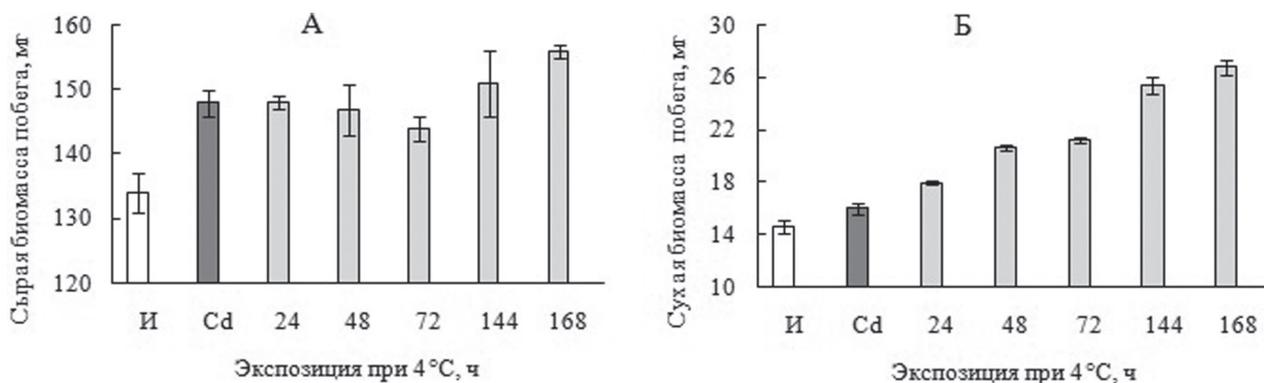


Рис. 2. Влияние суточной предобработки кадмием на накопление сырой (А) и сухой (Б) биомассы побегов проростков пшеницы, подвергнутых недельному воздействию температуры 4 °C (Cd→4°C)

Биологическая повторность в пределах одного варианта каждого отдельного опыта варьировала в зависимости от анализируемого показателя от 3 до 6. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. В таблицах и на графиках приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. В статье обсуждаются величины, достоверные при $p \leq 0,05$.

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

Результаты

Комбинированное действие Cd→4°C. Установлено, что суточная предобработка пророст-

ков пшеницы сульфатом кадмия (100 мкМ) вызывает достоверный прирост холодоустойчивости клеток листьев (рис. 1). В дальнейшем, при переносе растений в условия действия температуры 4 °C устойчивость продолжала быстро нарастать в течение суток, следующие двое суток она оставалась на достигнутом уровне, а затем постепенно снижалась (рис. 1).

Кроме того, в присутствии кадмия происходило активное накопление сырой биомассы побегов пшеницы, однако при переносе проростков в условия действия температуры 4 °C этот процесс тормозился и в дальнейшем возобновлялся только к 7-м суткам опыта (рис. 2, А). Отметим, что при комбинированном действии кадмия и холода зафиксировано активное накопление сухой биомассы побегов пшеницы (рис. 2, Б), и поэтому отношение сухой биомассы побегов к сырой к концу опыта заметно возросло (табл. 1).

Таблица 1. Влияние комбинированного действия низкой температуры и кадмия на отношение сухой и сырой биомассы побегов проростков пшеницы

Вариант опыта	Сухая/сырая биомасса побега						
	Исходный уровень	Предобработка*	Экспозиция, ч				
			24	48	72	144	168
Cd→4°C	0,11	0,11	0,13	0,14	0,15	0,17	0,17
4°C→Cd	0,11	0,13	0,11	0,12	0,11	0,12	0,12

Примечание. *Предобработка растений кадмием или холодом (4 °С) в течение 1 сут.

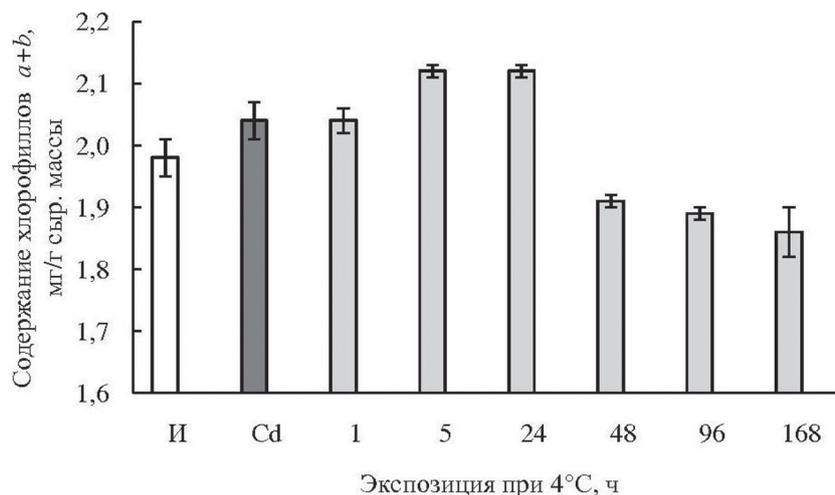


Рис. 3. Влияние суточной предобработки кадмием на суммарное содержание хлорофиллов в листьях проростков пшеницы, подвергнутых недельному воздействию температуры 4 °С (Cd→4°C)

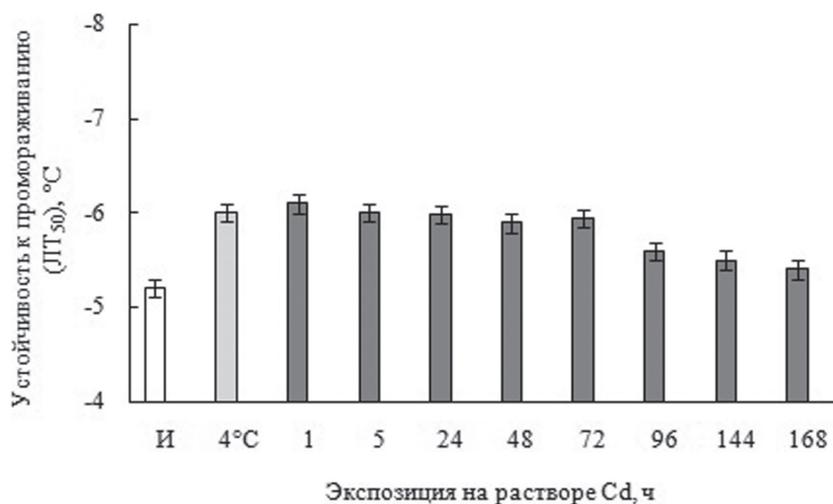


Рис. 4. Влияние суточной предобработки холодом на холодоустойчивость клеток листьев проростков пшеницы, подвергнутых недельному воздействию кадмия (100 мкМ) (4°C→Cd). Здесь и на рис. 5, 6: И – исходный уровень; 4 °С – предобработка холодом (4°C) в течение 1 сут

Укажем также, что суммарное содержание хлорофиллов в листьях после предобработки растений кадмием несколько увеличивалось и затем в течение первых суток действия температуры 4 °С этот процесс продолжался, но

уже через 2 сут отмечено значительное снижение данного показателя (рис. 3).

Комбинированное действие 4°C→Cd. Показано, что суточная предобработка проростков пшеницы холодом (4 °С) вызывала заметное

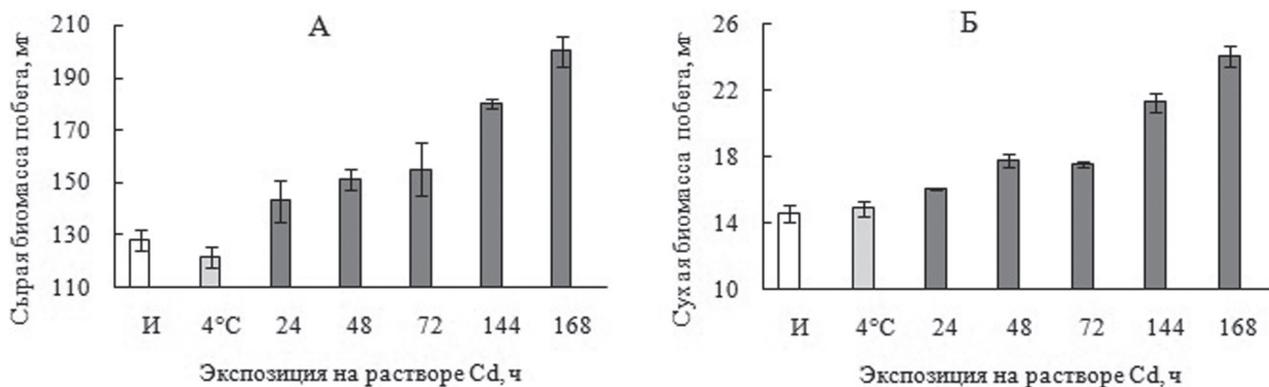


Рис. 5. Влияние суточной предобработки холодом на накопление сырой (А) и сухой (Б) биомассы побегов проростков пшеницы, подвергнутых недельному воздействию кадмия (100 мкМ) (4°C→Cd)

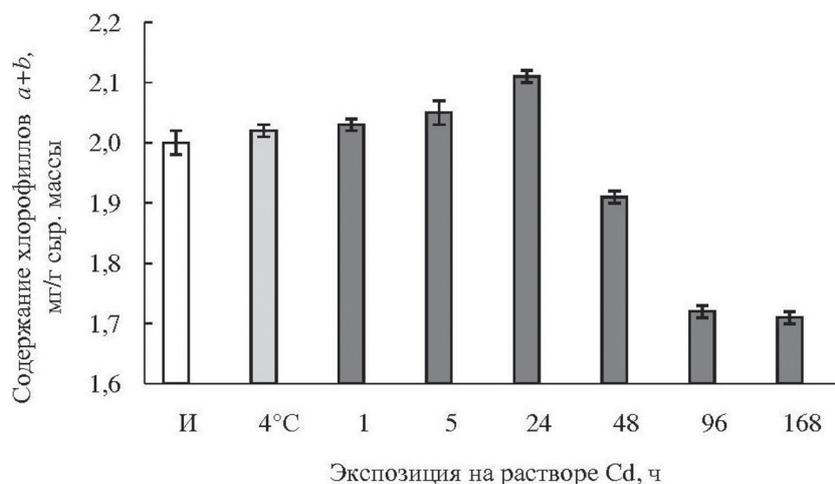


Рис. 6. Влияние суточной предобработки холодом на суммарное содержание хлорофиллов в листьях проростков пшеницы, подвергнутых длительному воздействию кадмия (100 мкМ) (4°C→Cd)

увеличение их холодоустойчивости, которая при последующем действии кадмия (100 мкМ) в течение 3 сут оставалась постоянной, а к концу опыта снижалась до уровня, близкого к исходному (рис. 4).

Накопление сырой биомассы побегов полностью тормозилось во время предобработки холодом, но в дальнейшем при переносе растений в условия действия кадмия оно возобновлялось (рис. 5, А). При этом сухая биомасса побегов увеличивалась в течение всего опыта (рис. 5, Б), и поэтому отношение сухая/сырая биомасса существенно не изменялось (табл. 1).

Содержание хлорофиллов в листьях пшеницы под влиянием предобработки холодом несколько увеличилось, а после переноса растений в условия действия кадмия продолжало повышаться еще в течение суток, но уже на 2-е сут опыта резко уменьшалось и к 6–7-м сут было намного ниже исходного уровня (рис. 6).

Снижение содержания фотосинтетических пигментов сопровождалось появлением признаков хлороза – примерно на 4–7-е сут опыта листья пшеницы желтели и скручивались.

Обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что суточная предобработка проростков пшеницы кадмием вызывает увеличение холодоустойчивости их листьев, а дальнейшее воздействие на растения холода (4 °C) стимулирует ее последующий рост. Эти данные хорошо коррелируются с представлениями о кросс-адаптации растений и об участии не только специфических, но и общих (неспецифических) адаптивных реакций в формировании повышенной холодоустойчивости [Кузнецов, Дмитриева, 2006; Титов и др., 2006]. По всей видимости, увеличение холодоустойчивости пшеницы под влиянием кадмия

Таблица 2. Количественная оценка изменения некоторых физиологических показателей у проростков пшеницы при действии температуры 4 °С, кадмия и их комбинированном действии

Показатель	Вариант опыта			
	4 °С	Cd→4°С	Cd	4°С→Cd
Холодоустойчивость	153	112	115	107
Сырая биомасса побегов	112	116	158	149
Сухая биомасса побегов	161	183	196	165
Содержание хлорофиллов, a+b	106	94	93	86

Примечание. Показатели в вариантах опыта 4 °С и Cd (без предобработок) рассчитаны по результатам предыдущих исследований [Венжик и др., 2015а, б]. Значения показателей приведены на 7-е сут опытов в % от исходного уровня, который принят за 100 %.

происходит вследствие индукции у растений ряда общих (неспецифических) адаптационных изменений, в то время как формирование повышенной холодоустойчивости в процессе длительного воздействия температуры 4 °С, которая является для пшеницы закалывающей, включает в себя не только общие, но и более специфические адаптационные изменения. Однако важно отметить, что максимальный прирост холодоустойчивости в случае комбинированного действия кадмия и температуры 4 °С не достигал значений, зафиксированных в процессе холодого закалывания без предобработки кадмием (табл. 2). Более того, на 4-е сут опыта при комбинированном действии этих факторов холодоустойчивость пшеницы начинала снижаться. Можно предположить, что кадмий, который успевает поступить в листья пшеницы в течение суток при нахождении растений в обычной температуре [Репкина и др., 2015], в дальнейшем оказывает на проростки токсическое действие, что приводит к частичному «сбою» программы холодовой адаптации.

Важно, что обнаруженное в наших опытах увеличение холодоустойчивости пшеницы сопровождалось изменениями ряда других физиологических показателей, причем направленность некоторых из них определялась главным образом действием низкой температуры (табл. 2). Например, рост проростков пшеницы, судя по накоплению сырой биомассы побегов, был ингибирован и частично восстанавливался только к концу опыта, так же как и при холодого закалывании без предобработки кадмием [Венжик и др., 2015б]. При этом накопление сухой биомассы продолжалось в течение всего опыта и при комбинированном действии факторов, и при действии температуры 4 °С без предобработки кадмием, поэтому отношение сухой биомассы побегов к сырой биомассе повышалось. Такого рода реакция вполне типична для холодостойких растений, выращиваемых в условиях низких температур, и она свидетельствует о сохранении баланса между

ростом и фотосинтезом [Ensminger et al., 2006; Климов, 2008], благодаря чему в их клетках и тканях происходит накопление резервных энергоемких (липидов и углеводов) веществ, необходимых для холодовой адаптации [Theocharis et al., 2012].

С другой стороны, предобработка пшеницы кадмием приводила к заметному снижению содержания фотосинтетических пигментов (табл. 2). Вероятно, частичный «сбой» программы холодовой адаптации, зафиксированный в наших опытах, может быть связан с негативным влиянием кадмия на фотосинтетический аппарат. Кроме того, учитывая высокую токсичность кадмия [Титов и др., 2014], нельзя исключить, что в данном случае он ингибирует и какие-то другие процессы, например, синтез белков, участвующих в ответе растительного организма на холод, или активность некоторых ферментов [Bashir et al., 2015].

Результаты другой серии опытов, в которой воздействие температуры 4 °С на проростки пшеницы предшествовало действию кадмия, показали, что холодоустойчивость увеличивается только в процессе предобработки, а при последующем действии кадмия остается на достигнутом уровне и к концу опыта снижается. Эти данные свидетельствуют о том, что повышение холодоустойчивости под влиянием кадмия является неспецифическим. Оно сопровождалось рядом изменений основных физиологических показателей, касающихся роста и фотосинтетического аппарата растений (табл. 2). Важно, что такие же изменения происходили под влиянием кадмия без холодовой предобработки (табл. 2). В обоих случаях наблюдалось повышение холодоустойчивости, торможение роста растений, снижение содержания фотосинтетических пигментов и появление признаков хлороза.

Отметим, что снижение темпов роста, накопления биомассы и хлороз листьев относятся к основным индикаторам токсического действия кадмия на растения [Титов и др., 2007, 2014; Hasan et al., 2009; Gallego et al., 2012;

Казнина, Титов, 2013]. Замедление роста при действии кадмия является следствием его негативного влияния на деление и рост клеток [Tran, Porova, 2013], минеральное питание [Ci et al., 2010], активность ферментов [Wang et al., 2014], синтез белков [Hasan et al., 2009]. Хлороз листьев обусловлен, с одной стороны, непосредственным влиянием кадмия на биосинтез и/или деградацию хлорофиллов [Wang et al., 2014], а с другой стороны, связан с изменениями в ультраструктуре и биохимическом составе фотосинтетических мембран [Moradkhani et al., 2013; Ali et al., 2014], а также со снижением активности фотосистемы II, наиболее чувствительной к действию кадмия [Wang et al., 2014; Piršelova et al., 2016; Yughoubian et al., 2016]. В наших предыдущих исследованиях было показано, что при совместном действии холода и кадмия низкая температура частично нивелирует токсическое действие кадмия, в частности, на фотосинтетический аппарат растений, предотвращая развитие хлороза [Венжик и др., 2015a]. Результаты опытов по комбинированному действию этих стресс-факторов наглядно демонстрируют, что если воздействие холода предшествовало действию кадмия, то в этом случае низкая температура не только не оказывала защитного действия, но и усиливала негативные эффекты кадмия на рост растений и содержание фотосинтетических пигментов.

Заключение

Проведенные исследования показали, что комбинированное (последовательное) действие низкой температуры и кадмия вызывает у растений пшеницы целый ряд физиологических изменений: увеличение холодоустойчивости, торможение роста и снижение содержания в листьях фотосинтетических пигментов. При этом, если обработка кадмием предшествовала действию на растения холода, то у них сохранялась способность накапливать резервную биомассу, необходимую для адаптации растений, находящихся в условиях длительного охлаждения, хотя и происходил частичный «сбой» этого процесса. Если же суточное воздействие низкой положительной температуры предшествовало продолжительному (7 сут) действию на растения кадмия, то наблюдалось усиление его негативных эффектов на рост и на пигментный аппарат пшеницы. Следовательно, реакция растений пшеницы на продолжительное действие каждого из этих стресс-факторов заметно изменяется, если ему предшествует даже относительно непродолжительное воздействие другого стресс-фактора.

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: Карел. фил. АН СССР, 1982. 6 с.

Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Холопцева Е. С., Таланова В. В. Раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия на некоторые физиологические показатели пшеницы // Труды КарНЦ РАН. 2015а. № 12. С. 23–34.

Венжик Ю. В., Таланова В. В., Титов А. Ф., Холопцева Е. С. О сходстве и различиях в реакции растений пшеницы на действие низкой температуры и кадмия // Известия РАН. 2015б. № 6. С. 597–604.

Казнина Н. М., Титов А. Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Poaceae // Успехи совр. биол. 2013. Т. 133, № 6. С. 588–603.

Климов С. В. Адаптация растений к стрессам через изменение донорно-акцепторных отношений на разных уровнях структурной организации // Успехи совр. биологии. 2008. Т. 128, № 3. С. 281–299.

Кузнецов В. В., Дмитриева Г. А. Физиология растений. М.: Высшая школа, 2006. 742 с.

Репкина Н. С., Таланова В. В., Титов А. Ф., Букарева И. В. Реакция растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 133–139. doi: 10.17076/eb229

Репкина Н. С., Батова Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В. Экспрессия гена глутатионсинтетазы GS3 в корнях и листьях проростков пшеницы при действии кадмия // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 11. С. 67–75.

Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Практикум по физиологии и биохимии растений. СПб.: ГИОРД, 2013. 352 с.

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., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 172 с.

Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 194 с.

Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб ун-та, 2002. 244 с.

Ali B., Qian P., Jin R., Ali S., Khan M., Aziz R., Tian T., Zhou W. Physiological and ultrastructural changes in *Brassica napus* seedlings induced by cadmium stress // Biol. Plant. 2014. Vol. 58, no. 1. P. 131–138. doi: 10.1007/s10535-013-0358-5

Bashir H., Qureshi M. I., Ibrahim M. M., Iqbal M. Chloroplast and photosystems: Impact of cadmium and

iron deficiency // *Photosynthetica*. 2015. Vol. 53, no. 3. P. 321–335. doi: 10.1007/s11099-015-0152z

Ci D., Jiang D., Wollenweber B. Cadmium stress in wheat seedlings: growth, cadmium accumulation and photosynthesis // *Acta Physiol. Plant*. 2010. Vol. 32, no. 2. P. 365–373. doi: 10.1007/s11738-009-0414-0

Ensminger I., Busch F., Huner N. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis // *Physiol. Plant*. 2006. Vol. 126, no. 1. P. 28–44. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00627.x

Gallego S. M., Pena L. B., Barcia R. A., Azpilicueta C. E., Iannone M. F., Rosales E. P., Zawoznik M. S., Groppa M. D., Benavides M. P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms // *Environ. Exp. Bot*. 2012. Vol. 83. P. 33–46. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.04.006

Hasan S. A., Fariduddin Q., Ali B., Hayat B. A., Ahmad A. Cadmium: toxicity and tolerance in plants // *J. Environ. Biol*. 2009. Vol. 30, no. 2. P. 165–174.

Lichtenthaler H. K., Wellburn A. L. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents // *Biochem. Soc. Trans*. 1983. Vol. 11, no. 5. P. 591–593.

Moradkhani S., Nejad R. A. K., Dilmaghani K., Chaparzadeh N. Salicylic acid decreases Cd toxicity in sunflower plants // *Ann. Biol. Res*. 2013. Vol. 4, no. 1. P. 135–141.

Piršelová B., Boleček P., Gálusová T. Effect of cadmium and arsenic on chlorophyll fluorescence of selected soybean cultivars // *Физиол. раст*. 2016. Т. 63, № 4. С. 499–503. doi: 10.7868/s0015330316040126

Pourghasemian N., Ehsanzadeh P., Greger M. Genotypic variation in safflower (*Carthamus* spp.) cadmium accumulation and tolerance affected by temperature

and cadmium levels // *Environ. Exp. Bot*. 2013. Vol. 87. P. 218–226. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.12.003

Sergeant K., Kieffer P., Dommes J., Hausman J.-F. Proteomic changes in leaves of poplar exposed to both cadmium and low temperature // *Environ. Exp. Bot*. 2014. Vol. 106. P. 112–123. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.01.007

Theocharis A., Clément Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta*. 2012. Vol. 235, no. 6. P. 1091–1105. doi: 10.1007/s00425-012-164-y

Tran T. A., Popova L. P. Function and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects // *Turk. J. Bot*. 2013. Vol. 37, no. 1. P. 1–13. doi: 10.3906/bot-1112-16

Wang Y., Jiang X., Li K., Wu M., Zhang R., Zhang L., Chen G. Photosynthetic responses of *Oryza sativa* L. seedlings to cadmium stress: physiological, biochemical and ultrastructural analyses // *Biometals*. 2014. Vol. 27, no. 2. P. 389–401.

Yughoubian Y., Siadat S. A., Moradi Telavat M. R., Pirdashti H. Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil // *Физиол. раст*. 2016. Т. 63, № 1. С. 83–90. doi: 10.7868/s0015330316010188

Zhao F.-Y., Liu W., Zhang S.-Y. Different responses on plant growth and antioxidant system to the combination of cadmium and heat stress in transgenic and non-transgenic rice // *J. Integr. Plant Biol*. 2009. Vol. 51, no. 10. P. 942–950. doi: 10.1111/j.1744-7909.2009.00865

Поступила в редакцию 08.06.2017

References

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

Chirkova T. V. Fiziologicheskie osnovy ustoichivosti rastenii [Physiological bases of plant tolerance]. St. Petersburg: St. Peterb. Univ., 2002. 244 p.

Kaznina N. M., Titov A. F. Vliyaniye kadmii na fiziologicheskie protsessy i produktivnost' rastenii semeistva Poaceae [The influence of cadmium on physiological processes and productivity of the Poaceae plants]. *Uspehi sovr. biol.* [Biol. Bull. Reviews]. 2013. Vol. 133, no. 6. P. 588–603.

Klimov S. V. Adaptatsiya rastenii k stressam cherez izmeneniye donorno-aktseptornykh otnoshenii na raznykh urovnyakh strukturnoi organizatsii [Plants adaptation to stresses through donor-acceptor relations on different levels of structural organization]. *Uspehi sovr. biologii.* [Biol. Bull. Reviews]. 2008. Vol. 128, no. 3. P. 281–299.

Kuznetsov V. V., Dmitrieva G. A. Fiziologiya rastenii [Plants physiology]. Moscow: Vysshaya shkola, 2006. 742 p.

Repkina N. S., Talanova V. V., Titov A. F., Bukareva I. V. Reaktsiya rastenii pshenitsy (*Triticum aestivum*

L.) na razdel'noe i sovmestnoe deistvie nizkoi temperatury i kadmiiya [Wheat (*Triticum aestivum* L.) response to separate and combined impact of low temperature and cadmium]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2014. No. 5. P. 133–139.

Repkina N. S., Batova Ju. V., Titov A. F., Talanova V. V. Ekspressiya gena glutationsintetazy GS3 v kornnyakh i list'yakh prorstkov pshenitsy pri deistvii kadmiiya [Glutathione synthetase (GS3) gene expression in the leaves and roots of wheat seedlings under cadmium impact]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 11. P. 67–75. doi: 10.17076/eb229

Rogozhin V. V., Rogozhina T. V. Praktikum po fiziologii i biokhimmii rastenii [Practical work on physiology and biochemistry of plants]. St. Petersburg: GIORD, 2013. 352 p.

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

Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. M., Laidinen G. F. Ustoichivost' rastenii k tyazhelym metallam [Plant tolerance to heavy metals]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2007. 172 p.

Titov A. F., Kaznina N. M., Talanova V. V. Tyazhelye metally i rasteniya [Heavy metals and plants]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2014. 194 p.

Venzhik Yu. V., Titov A. F., Kholoptseva E. S., Talanova V. V. Razdel'noe i sovместnoe deistvie nizkoi temperatury i kadmiya na nekotorye fiziologicheskie pokazateli pshenitsy [Separate and combined effects of low temperature and cadmium on some physiological indicators in wheat]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015a. No. 12. P. 23–34.

Venzhik Yu. V., Talanova V. V., Titov A. F., Kholoptseva E. S. O skhodstve i razlichiyakh v reaktsii rastenii pshenitsy na deistvie nizkoi temperatury i kadmiya [Similarities and differences in wheat plant responses to low temperature and cadmium]. *Izvestiya RAN* [Biol. Bull.]. 2015b. No. 6. P. 597–604.

Ali B., Qian P., Jin R., Ali S., Khan M., Aziz R., Tian T., Zhou W. Physiological and ultrastructural changes in *Brassica napus* seedlings induced by cadmium stress. *Biol. Plant.* 2014. Vol. 58, no. 1. P. 131–138. doi: 10.1007/s10535-013-0358-5

Bashir H., Qureshi M. I., Ibrahim M. M., Iqbal M. Chloroplast and photosystems: Impact of cadmium and iron deficiency. *Photosynthetica.* 2015. Vol. 53, no. 3. P. 321–335. doi: 10.1007/s11099-015-0152z

Ci D., Jiang D., Wollenweber B. Cadmium stress in wheat seedlings: growth, cadmium accumulation and photosynthesis. *Acta Physiol. Plant.* 2010. Vol. 32, no. 2. P. 365–373. doi: 10.1007/s11738-009-0414-0

Ensminger I., Busch F., Huner N. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis. *Physiol. Plant.* 2006. Vol. 126, no. 1. P. 28–44. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00627.x

Gallego S. M., Pena L. B., Barcia R. A., Azpilicueta C. E., Iannone M. F., Rosales E. P., Zawoznik M. S., Groppa M. D., Benavides M. P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environ. Exp. Bot.* 2012. Vol. 83. P. 33–46. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.04.006

Hasan S. A., Fariduddin Q., Ali B., Hayat B. A., Ahmad A. Cadmium: toxicity and tolerance in plants. *J. Environ. Biol.* 2009. Vol. 30, no. 2. P. 165–174.

Lichtenthaler H. K., Wellburn A. L. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 1983. Vol. 11, no. 5. P. 591–593.

Moradkhani S., Nejad R. A. K., Dilmaghani K., Chaparzadeh N. Salicylic acid decreases Cd toxicity in sunflower plants. *Ann. Biol. Res.* 2013. Vol. 4, no. 1. P. 135–141.

Piršelová B., Boleček P., Gálusová T. Effect of cadmium and arsenic on chlorophyll fluorescence of selected soybean cultivars. *Fiziol. rast. [Rus. J. Plant Physiol.]* 2016. Vol. 63, no. 4. P. 499–503. doi: 10.7868/s0015330316040126

Pourghasemian N., Ehsanzadeh P., Greger M. Genotypic variation in safflower (*Carthamus* spp.) cadmium accumulation and tolerance affected by temperature and cadmium levels. *Environ. Exp. Bot.* 2013. Vol. 87. P. 218–226. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.12.003

Sergeant K., Kieffer P., Dommès J., Hausman J.-F. Proteomic changes in leaves of poplar exposed to both cadmium and low temperature. *Environ. Exp. Bot.* 2014. Vol. 106. P. 112–123. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.01.007

Theocharis A., Clément Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature. *Planta.* 2012. Vol. 235, no. 6. P. 1091–1105. doi: 10.1007/s00425-012-164/-y

Tran T. A., Popova L. P. Function and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turk. J. Bot.* 2013. Vol. 37, no. 1. P. 1–13. doi: 10.3906/bot-1112-16

Wang Y., Jiang X., Li K., Wu M., Zhang R., Zhang L., Chen G. Photosynthetic responses of *Oryza sativa* L. seedlings to cadmium stress: physiological, biochemical and ultrastructural analyses. *Biometals.* 2014. Vol. 27, no. 2. P. 389–401.

Yughoubian Y., Siadat S. A., Moradi Telavat M. R., Pirdashti H. Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. *Fiziol. rast. [Rus. J. Plant Physiol.]* 2016. Vol. 63, no. 1. P. 83–90. doi: 10.7868/s0015330316010188

Zhao F.-Y., Liu W., Zhang S.-Y. Different responses on plant growth and antioxidant system to the combination of cadmium and heat stress in transgenic and non-transgenic rice. *J. Integr. Plant Biol.* 2009. Vol. 51, no. 10. P. 942–950. doi: 10.1111/j.1744-7909.2009.00865.x

Received June 08, 2017

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
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) 762712

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, 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) 762712

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

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ЦИНКА НА РОСТ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОПТИМУМА И ГИПОТЕРМИИ

Н. М. Казнина, Ю. В. Батова, Г. Ф. Лайдинен, А. Ф. Титов

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

В лабораторных условиях исследовали влияние цинка в высокой концентрации (1000 мкМ) на рост и состояние фотосинтетического аппарата растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при оптимальной (22 °С) и пониженной (4 °С) температуре. Показано, что независимо от температуры цинк в изученной концентрации оказывает ярко выраженное негативное действие на растения, вызывая уменьшение содержания в листьях основных фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов), снижение потенциальной квантовой эффективности фотосистемы II. Кроме того, при воздействии этого металла у проростков в опытных вариантах наблюдалось частичное закрывание устьиц и уменьшение площади устьичной щели. Указанные изменения, наряду с другими возможными изменениями и/или нарушениями физиологических процессов, приводили к снижению фотосинтетической активности и торможению роста растений. Однако при оптимальной температуре отрицательное воздействие цинка на проростки к концу опыта (3 сут) ослабевало. В частности, скорость фотосинтеза, а также накопление биомассы побегов достигали уровня, характерного для растений контрольного варианта. В условиях же гипотермии ингибирующий эффект, обусловленный одновременным действием этих двух стресс-факторов, который фиксировался по ряду изученных показателей роста (высота побега и надземная биомасса) и состояния фотосинтетического аппарата (содержание фотосинтетических пигментов, интенсивность фотосинтеза, оводненность тканей листа), напротив, усиливался. Обнаруженное в опыте в условиях действия оптимальной и низкой температуры примерно равное уменьшение значений максимального квантового выхода фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) связано, очевидно, со слабой зависимостью реакций световой фазы фотосинтеза от температуры.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; цинк; низкая положительная температура; рост; фотосинтез.

N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, G. F. Laidinen, A. F. Titov. THE EFFECT OF ZINC ON THE GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WHEAT UNDER OPTIMAL AND HYPOTHERMIC CONDITIONS

The effect of zinc in a high concentration (1000 μM) on the growth and the photosynthetic apparatus of winter wheat plants (*Triticum aestivum* L.) was investigated in the laboratory

under optimal (22 °C) and low (4 °C) temperatures. It was shown that irrespective of the temperature, zinc in the stated concentration had a pronounced negative effect on the plants, causing a decrease in the content of the main photosynthetic pigments (chlorophylls and carotenoids) in the leaves, and a decline of the potential quantum efficiency of photosystem II. In addition, the exposure of the experimental plants to this metal caused a partial closure of stomata and a decrease of the stomatal pore size. These changes, along with other possible modifications and/or disruptions of physiological processes, inhibited the photosynthetic activity and growth of the plants. Where the temperature was optimal, however, the detrimental effect of zinc on the plants was attenuated toward the end of the experiment (3 days). Namely, the rate of photosynthesis, as well as the accumulation of shoot biomass reached a level typical of the control plants. Under hypothermic conditions, on the contrary, the inhibitory effect caused by the simultaneous action of these two stress factors, which was manifest in a number of the studied growth indices (shoot height and aboveground biomass) and the state of the photosynthetic apparatus (photosynthetic pigments content, rate of photosynthesis, leaf tissue water content) tended to build up. The approximately equal decrease in the values of the maximum quantum yield of the PS II photochemical activity (F_v/F_m) detected experimentally under temperature optimum and hypothermia is obviously connected with the weak dependence of light-dependent reactions on temperature.

Key words: *Triticum aestivum* L.; heavy metals; low positive temperature; photosynthesis.

Введение

Среди основных загрязнителей окружающей среды из группы тяжелых металлов наиболее широко распространенным является цинк [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989; Ильин, 2012]. Несмотря на то что этот металл относится к жизненно необходимым для растений микроэлементам, в высоких концентрациях он способен вызывать серьезные нарушения в их жизнедеятельности. Так, при увеличении содержания цинка в почве замедляются рост и развитие растений, снижается интенсивность фотосинтеза и дыхания, нарушается водный обмен, в результате заметно уменьшается продуктивность растений [Титов и др., 2007; Казнина и др., 2010; Vassilev et al., 2011]. В этой связи в настоящее время в целом ряде стран активно изучается влияние высоких концентраций этого металла на культурные виды растений, включая представителей семейства *Poaceae*, многие из которых относятся к ведущим сельскохозяйственным культурам. Однако следует подчеркнуть, что в большинстве случаев такого рода исследования проводятся при оптимальных или близких к ним температурах. Хотя в естественных условиях, особенно в северных регионах, в период активной вегетации нередко периодические (от нескольких часов до нескольких суток) понижения температуры до низких положительных и даже отрицательных значений, что вызывает у растений многочисленные изменения, затрагивающие так или иначе все их наиболее важные жизненные функции.

Учитывая это, задача настоящего исследования заключалась в сравнительном изучении воздействия высокой концентрации цинка в корнеобитаемой среде на основные физиологические процессы – рост и фотосинтез – у растений пшеницы при оптимальной и низкой положительной температурах.

Материалы и методы

Объектом исследования служили растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39, которые выращивали в камере искусственного климата в рулонах фильтровальной бумаги при температуре 22 °C, относительной влажности воздуха 60–70 %, ФАР 100 мкмоль/(м²·с), 14-часовом фотопериоде, на питательном растворе Хогланда – Арнона с добавлением микроэлементов, в том числе цинка в концентрации 2 мкМ (контрольный вариант). В опытном варианте к питательному раствору добавляли цинк в концентрации 1000 мкМ в форме сульфата (Zn²⁺, 22 °C). Спустя 7 сут часть растений этого варианта переносили на 1 или 3 сут в камеру с температурой 4 °C (Zn²⁺, 4°C), а другие оставляли в прежних условиях (22 °C). Влияние цинка на рост растений в условиях действия оптимальной и низкой температур оценивали по изменению (по отношению к контролю) высоты и биомассы побега. О воздействии металла на фотосинтетический аппарат (ФСА) судили на основе анализа содержания фотосинтетических пигментов, фотохимической активности фотосистемы II (ФС II), площади устьичной щели и интенсивности фотосинтеза.

Сухую биомассу растений измеряли после высушивания при 105 °С до постоянного сухого веса. Содержание пигментов определяли на спектрофотометре (СФ-2000), экстрагируя 80%-м ацетоном [Шлык, 1971]. Интенсивность фотосинтеза анализировали по выделению CO₂ на установке для исследования CO₂-газообмена и водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия). Максимальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) измеряли с помощью флуориметра MINI-PAM (Walz, Германия) на адаптированных к темноте листьях. Измерение размеров устьичной щели проводили на нижнем эпидермисе листа методом отпечатков с использованием светового микроскопа Микмед 2 (ЛОМО, Россия) и окуляр-микрометра [Жолкевич, Пильщикова, 1989].

Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных показателей от 3 до 10 растений, аналитическая повторность 3–4-кратная. Весь опыт повторяли дважды. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

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

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что цинк в концентрации 1000 мкМ оказывает ярко выраженное негативное воздействие на рост и фотосинтетический аппарат пшеницы, при этом при кратковременном (1 и 3 сут) понижении температуры до 4 °С изученные показатели уменьшались в большей степени, чем при оптимальной. В частности, если при 22 °С у растений в присутствии цинка высота побега и накопление надземной биомассы уменьшались по сравнению с контролем на 18–25 %, то при действии низкой температуры уже через

1 сут оба показателя снижались почти на 40 % (табл. 1). Важно отметить, что при оптимальной температуре отрицательное воздействие цинка на рост проростков несколько ослабевало к концу опыта, тогда как при температуре 4 °С ингибирующий эффект, обусловленный одновременным действием этих двух стресс-факторов в отношении изученных показателей, напротив, усиливался.

Из литературных данных следует, что отрицательное влияние высоких концентраций цинка на рост может быть обусловлено как его непосредственным воздействием на клеточное деление и растяжение, что характерно для тяжелых металлов, так и опосредованным влиянием на другие физиологические процессы, в частности фотосинтез и водный обмен [Казнина и др., 2009; Jain et al., 2010; Серегин и др., 2011]. При этом хорошо известно, что условия минерального питания и температура в значительной степени влияют на состояние фотосинтетического аппарата [Магомедова и др., 2008]. В наших исследованиях при температуре 22 °С ингибирование фотосинтеза под влиянием цинка составляло около 20 %, однако к концу эксперимента скорость этого процесса практически не отличалась от контроля. В условиях гипотермии уже через 1 сут наблюдалось резкое торможение скорости фотосинтеза (на 60 % по отношению к контролю), которое еще более усиливалось через 3 сут (рис.).

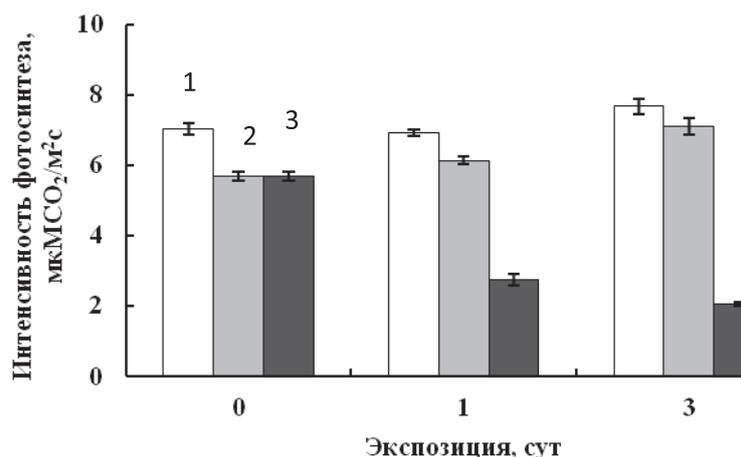
Снижение скорости фотосинтеза у растений сопровождалось уменьшением содержания фотосинтетических пигментов в обоих вариантах опыта, но было более явно выражено в варианте с низкой температурой (табл. 2). При этом если при температуре 22 °С содержание хлорофиллов уменьшалось в большей степени, чем каротиноидов, то при воздействии температуры 4 °С наблюдалось заметное понижение концентрации обеих форм пигментов.

В более ранних исследованиях нами было обнаружено, что ФСА злаков, в частности

Таблица 1. Влияние цинка (1000 мкМ) на рост растений пшеницы с. Московская 39 при оптимальной (22 °С) и пониженной (4 °С) температурах

Экспозиция, сут	Контроль, 22 °С	Zn ²⁺ , 22 °С	Zn ²⁺ , 4 °С
Высота побега, см			
0	18,1 ± 0,4	12,8 ± 0,5*	12,8 ± 0,5*
1	18,0 ± 0,5	14,3 ± 0,5*	12,0 ± 0,5*
3	23,5 ± 0,5	17,7 ± 0,5*	14,8 ± 0,4*
Сухая биомасса побега, мг			
0	14,5 ± 0,5	11,9 ± 0,7*	11,9 ± 0,7*
1	16,4 ± 0,6	12,2 ± 0,7*	10,3 ± 0,7*
3	19,4 ± 1,1	19,1 ± 1,2	15,3 ± 0,5*

Примечание. * Отличия от контроля достоверны при $p < 0,05$ (для табл. 1, 2, 3).



Влияние цинка (1000 мкМ) на интенсивность фотосинтеза у растений пшеницы с. Московская 39 при оптимальной (22 °С) и пониженной (4 °С) температурах. 1 – контроль, 2 – Zn²⁺, 22 °С, 3 – Zn²⁺, 4 °С

ячменя и овса, довольно устойчив к высоким концентрациям цинка в корнеобитаемой среде [Казнина, 2016]. При этом поддержание относительно высокой скорости фотосинтеза обеспечивается целым рядом адаптационных изменений в ФСА, среди которых одним из важных является сохранение высокого уровня каротиноидов. Поскольку каротиноиды выполняют в процессе фотосинтеза ряд важных функций, в том числе антиоксидантную, обеспечивая защиту клетки от повышения уровня активных форм кислорода, а также участвуют в стабилизации мембран хлоропластов, значительное уменьшение их содержания (почти на 50 %), отмеченное у растений при одновременном действии цинка и низкой температуры, не могло не сказаться отрицательно на скорости этого процесса.

Еще одной возможной причиной снижения интенсивности фотосинтеза в неблагоприятных условиях среды являются нарушения,

затрагивающие его световые реакции. Нами был измерен показатель F_v/F_m , который отражает потенциальную квантовую эффективность ФС II и используется в качестве надежного индикатора фотохимической активности ФСА [Гольцев и др., 2016]. Полученные результаты показали некоторое уменьшение под влиянием цинка значений F_v/F_m , причем примерно равное в условиях действия оптимальной и низкой температуры, что свидетельствует об определенных изменениях в ФС II, связанных с развитием стрессового состояния растений (табл. 2). Отсутствие различий по данному показателю между вариантами опыта с температурой 22 и 4 °С можно объяснить слабой зависимостью многих реакций световой фазы фотосинтеза от температуры.

Отметим также, что в неблагоприятных условиях внешней среды замедление скорости фотосинтеза у C₃-растений может быть связано с частичным или полным закрыванием

Таблица 2. Влияние цинка (1000 мкМ) на некоторые показатели ФСА растений пшеницы с. Московская 39 при оптимальной (22 °С) и пониженной (4 °С) температурах

Экспозиция, сут	Контроль, 22 °С	Zn ²⁺ , 22 °С	Zn ²⁺ , 4 °С
Содержание хлорофиллов (a+b), мг/г сырой массы			
0	1,794 ± 0,005	1,509 ± 0,013*	1,509 ± 0,013*
1	2,336 ± 0,014	1,759 ± 0,012*	1,375 ± 0,018*
3	1,841 ± 0,019	1,331 ± 0,003*	1,320 ± 0,025*
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы			
0	0,424 ± 0,004	0,295 ± 0,005*	0,295 ± 0,005*
1	0,416 ± 0,005	0,432 ± 0,002	0,221 ± 0,002*
3	0,341 ± 0,001	0,302 ± 0,001*	0,184 ± 0,006*
<i>F_v/F_m</i>			
0	0,790 ± 0,002	0,781 ± 0,001*	0,781 ± 0,001*
1	0,790 ± 0,002	0,780 ± 0,002*	0,778 ± 0,001*
3	0,787 ± 0,001	0,780 ± 0,002*	0,777 ± 0,001*

Таблица 3. Влияние цинка (1000 мкМ) на площадь устьичной щели и оводненность тканей листа у растений пшеницы с. Московская 39 при оптимальной (22 °С) и пониженной (4 °С) температурах

Экспозиция, сут	Контроль	Zn ²⁺ , 22 °С	Zn ²⁺ , 4 °С
Площадь устьичной щели, мкм ²			
0	576,7 ± 25,6	520,2 ± 32,7	520,2 ± 32,7
1	576,5 ± 26,6	426,2 ± 20,1*	488,1 ± 16,9*
3	568,5 ± 20,1	412,0 ± 11,0*	401,0 ± 17,2*
Оводненность тканей побега, %			
0	89,1 ± 0,2	88,5 ± 0,2	88,5 ± 0,2
1	90,0 ± 0,1	89,5 ± 0,2	88,7 ± 0,2*
3	90,6 ± 0,1	88,7 ± 0,2*	88,4 ± 0,2*

устьиц, что является важным механизмом их адаптации, обеспечивающим сохранение оводненности клеток и тканей за счет снижения интенсивности транспирации. В присутствии тяжелых металлов, в том числе цинка, закрывание устьиц может быть результатом нарушений в устьичном аппарате, в частности, вследствие изменения проницаемости мембран замыкающих клеток или резкого увеличения уровня АБК [Barceló et al., 1988; Караваев и др., 2001; Khudsar et al., 2004]. Кроме того, в наших опытах у растений под влиянием цинка вне зависимости от температуры отмечено уменьшение (почти на 30 % по сравнению с контролем) площади устьичной щели (табл. 3), которое, очевидно, является защитно-приспособительной реакцией растений, направленной на сохранение необходимого уровня воды в тканях. Видимо, поэтому при оптимальной температуре снижение оводненности тканей листа под влиянием цинка наблюдалось только к концу опыта, а при температуре 4 °С – уже через сутки от начала воздействия (табл. 3).

Заключение

Результаты проведенных исследований показали, что при действии цинка в высокой концентрации (1000 мкМ) у пшеницы как при оптимальной (22 °С), так и при низкой (4 °С) температуре уменьшается содержание фотосинтетических пигментов, снижается активность ФС II, а также происходит частичное закрывание устьиц и уменьшение площади устьичной щели, что наряду с другими возможными изменениями приводит к замедлению скорости фотосинтеза и торможению роста растений. Однако при температуре 22 °С указанные изменения носят обратимый характер, и к концу эксперимента (3 сут) скорость фотосинтеза и накопление биомассы побегов достигают уровня, характерного для растений контрольного варианта. В условиях гипотермии негативный эффект цинка на рост и фотосинтез

растений заметно усиливается, что, по крайней мере отчасти, связано с более существенным снижением содержания фотосинтетических пигментов, а также с уменьшением оводненности тканей листа.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0032).

Литература

- Гольцев В. Н., Каладжи Х. М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С. И. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология растений. 2016. Т. 63, № 6. С. 881–907.
- Жолкевич В. Н., Пильщикова Н. В. Методы изучения транспирации и состояния устьиц // Водный обмен растений. М.: Наука, 1989. С. 152–167.
- Ильин В. Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва – растение. Новосибирск: СО РАН, 2012. 220 с.
- Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях: Пер. с англ. М.: Мир, 1989. 440 с.
- Казнина Н. М. Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства *Росеае* к тяжелым металлам: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2016. 48 с.
- Казнина Н. М., Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Таланов А. В. Устойчивость щетинника зеленого к повышенным концентрациям цинка // Изв. РАН. Сер. биол. 2009. № 6. С. 677–684.
- Казнина Н. М., Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Батова Ю. В. Влияние цинка на продуктивность ярового ячменя в вегетационном опыте // Агробиология. 2010. № 8. С. 72–76.
- Караваев В. А., Баулин А. М., Гордиенко Т. В., Довыдьков С. А., Тихонов А. Н. Изменение фотосинтетического аппарата в листьях бобов в зависимости от содержания тяжелых металлов в среде выращивания // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 1. С. 47–54.
- Магомедова М. Х.-М., Мамаев А. Т., Алиева М. Ю. Влияние условий минерального питания

на флуоресценцию, фотосинтетическую активность и ростовые параметры растений // Юг России: экология, развитие. 2008. № 2. С. 52–56.

Серегин И. В., Кожевникова А. Д., Грачева В. В., Быстрова Е. И., Иванов В. Б. Распределение цинка по тканям корня проростков кукурузы и его действие на рост // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 1. С. 85–94.

Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдinen Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 170 с.

Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биологические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–170.

Barceló J., Vázquez M. D., Poschenrieder C. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated

bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) // *New Phytol.* 1988. Vol. 108. P. 37–49.

Jain R., Strivastava S., Solomon S., Strivastava A. K., Chandra A. Impact of excess zinc on the growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and antioxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.) // *Acta Physiol. Plant.* 2010. Vol. 32. P. 979–986.

Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R. K. Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* // *Biol. Plant.* 2004. Vol. 48. P. 255–260.

Vassilev A., Nikolova A., Koleva L., Lidon F. Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants // *J. Physiol.* 2011. Vol. 3, no. 6. P. 58–62.

Поступила в редакцию 28.06.2017

References

Gol'tsev V. N., Kaladzhi X. M., Paunov M., Baba V., Khorachek T., Moiski Ya., Kotsel Kh., Allakhverdiev S. I. Ispol'zovanie peremennoi fluorestsentsii khlorofilla dlya otsenki fiziologicheskogo sostoyaniya fotosinteticheskogo apparata rastenii [The use of variable chlorophyll fluorescence for assessing the state of photosynthetic apparatus of plants]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2016. Vol. 63, no. 6. P. 881–907

Il'in V. B. Tyazhelye metally i nemetally v sisteme pochva – rastenie [Heavy metals and nonmetals in a soil – plant system]. Novosibirsk: Publ. SB RAN, 2012. 220 p.

Kabata-Pendias A., Pendias H. Mikroelementy v pochvakh i rasteniyakh [Microelements in soils and plants]. Moscow: Mir, 1989. 440 p.

Karavaev V. A., Baulin A. M., Gordienko T. V., Dovydkov S. A., Tikhonov A. N. Izmenenie fotosinteticheskogo apparata list'ev bobov v zavisimosti ot sodержaniya tyazhelykh metalloov v srede vyrashchivaniya [Changes in photosynthetic apparatus of bean leaves depending on heavy metals content in growth medium]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2001. Vol. 48, no. 1. P. 47–54.

Kaznina N. M. Fiziologo-biokhicheskie i molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy ustoychivosti rastenii semeistva Poaceae k tyazhelym metallam [Physiological, biochemical, and molecular-genetic mechanisms of the Poaceae family tolerance to heavy metals]: DSc (Dr. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2016. 48 p.

Kaznina N. M., Titov A. F., Laidinen G. F., Batova Ya. V. Vliyanie tsinka na produktivnost' yarovogo yachmenya v vegetatsionnom opyte [Effect of zinc on the yield of spring barley in a pot experiment]. *Agrokhi-miya* [Agric. Chem.]. 2010. No. 8. P. 72–76.

Kaznina N. M., Titov A. F., Laidinen G. F., Talanov A. V. Ustoychivost' shchetinnika zelenogo k povyshennym koncentratsiyam tsinka [*Setaria viridis* tolerance to high zinc concentrations]. *Izv. RAN. Ser. Biol.* [Biol. Bull.]. 2009. No. 6. P. 677–684.

Magomedova M. Kh.-M., Mamaev A. T., Alieva M. Ya. Vliyanie uslovii mineral'nogo pitaniya na fluorestsentsiyu, fotosinteticheskuyu aktivnost' i rostovye parametry rastenii [Impact of mineral nutrition on fluore-

science, photosynthetic activity, and growth parameters of plants]. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye* [The South of Russia: Ecology, Development]. 2008. No. 2. P. 52–56.

Seregin I. V., Kozhevnikova A. D., Gracheva V. V., Byстрова E. I., Ivanov V. B. Raspredelenie tsinka po tkanyam kornya prorostkov kukuruzy i ego deistvie na rost [Zinc distribution in root tissues of maize seedlings and its impact on growth]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2011. Vol. 58, no. 1. P. 85–94.

Shlyk A. A. Opredelenie khlorofillov i karotinoidov v ekstraktakh zelenykh list'ev [Determination of chlorophylls and carotenoids in green leaves extracts]. *Biologicheskie metody v fiziologii rastenii* [Biol. Methods Plant Physiol.]. Moscow: Nauka, 1971. P. 154–170.

Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. M., Laidinen G. F. Ustoychivost' rastenii k tyazhelym metallam [Plants tolerance to heavy metals]. Petrozavodsk: KarRC of RAS. 2007. 170 p.

Zholkevich V. N., Pil'shikova N. V. Metody izucheniya transpiratsii i sostoyaniya ust'its [Methods of studying transpiration and stomata]. *Vodnyi obmen rastenii* [Water Exch. Plants]. Moscow: Nauka, 1989. P. 152–167.

Barceló J., Vázquez M. D., Poschenrieder C. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Phytol.* 1988. Vol. 108. P. 37–49.

Jain R., Strivastava S., Solomon S., Strivastava A. K., Chandra A. Impact of excess zinc on the growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and antioxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). *Acta Physiol. Plant.* 2010. Vol. 32. P. 979–986.

Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R. K. Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua*. *Biol. Plant.* 2004. Vol. 48. P. 255–260.

Vassilev A., Nikolova A., Koleva L., Lidon F. Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. *J. Physiol.* 2011. Vol. 3, no. 6. P. 58–62.

Received June 28, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Казнина Наталья Мстиславовна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: kaznina@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706

Батова Юлия Валерьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: batova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706

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

Лайдинен Галина Федоровна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: laidinen@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706

CONTRIBUTORS:

Kaznina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: kaznina@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762706

Batova, Yulia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: batova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762706

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

Laidinen, Galina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: laidinen@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762706

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

(требования к работам, представляемым к публикации
в «Трудах Карельского научного центра Российской академии наук»)

«Труды Карельского научного центра Российской академии наук» (далее – Труды КарНЦ РАН) публикуют результаты завершённых 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 учётом научной значимости и актуальности представленных материалов. Редакционные серии и отдельных выпусков Трудов КарНЦ РАН оставляют за собой право возвращать без регистрации рукописи, не отвечающие настоящим правилам.

При получении редакцией рукопись регистрируется (в случае выполнения авторами основных правил её 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 редколлегией 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.

Объём 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. Объём рисунков не должен превышать 1/4 объёма статьи. Рукописи большего объёма (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 русском и английском языках (на отдельных листах); рисунки (на отдельных листах); подписи к рисункам на русском и английском языках (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 в 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 вкладышах (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. Заголовки таблиц, заголовки и содержание столбцов, строк, а также примечания приводятся на русском и английском языках. 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, двуязычные таблицы и подписи к рисункам, 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 приводятся на русском и английском языках, 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, детали на рисунках следует обозначать цифрами или буквами, значение которых также приводится в 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 groenlandicis* (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 общепотребительных.

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

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Институт 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

Keywords: *Cucumis sativus* L.; temperature drop; resistance.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ

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

Table 2. Ultrastructure of leaf mesophyll cells after the exposure of wheat seedlings or roots to 10 min of chilling at 2 °C

Показатель Index	Контроль Control	Охлаждение проростков Seedling chilling	Охлаждение корней Root chilling
Площадь среза хлоропласта, мкм ² Chloroplast cross-sectional area, μm ²	10,0 ± 0,7	13,5 ± 1,1	12,7 ± 0,5
Площадь среза митохондрии, мкм ² Mitochondria cross-sectional area, μm ²	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,03	0,6 ± 0,04
Площадь среза пероксисомы, мкм ² Peroxisome cross-sectional area, μm ²	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Число хлоропластов на срезе клетки, шт. Number of chloroplasts in cell cross-section	9 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число митохондрий на срезе клетки, шт. Number of mitochondria in cell cross-section	8 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число пероксисом на срезе клетки, шт. Number of peroxisomes in cell cross-section	2 ± 0,3	2 ± 0,3	3 ± 0,4

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

Note. Here and in Tab. 3 all ultrastructure parameters were measured 24 h after chilling.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ПОДПИСИ К РИСУНКУ

Рис. 1. Северный точильщик (*Hadrobregmus confuses* Kraaz.)

Fig. 1. Woodboring beetle *Hadrobregmus confuses* Kraaz.

Рис. 5. Результаты изучения кристаллитов и демпферных зон в образце кварца из Дульдурги:

(а) – электронная микрофотография кварца; (б) – картина микродифракции, полученная для участка 1 в области кристаллитов; (в) – картина микродифракции, отвечающая участку 2 в области демпферных зон

Fig. 5. Results of the study of crystallites and damping zones in a quartz sample from Duldurga:

(а) – electron microphotograph of the quartz sample; (б) – microdiffraction image of site 1 in the crystallite area; (в) – microdiffraction image corresponding to site 2 in the damping area

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. Mezhhvidovaya konkurentsya i sosushhestvovanie ehkologicheskikh gomologov u paraziticheskikh pereponchatokrylykh [Interspecific competition and coexistence ecological homologues in parasitic Hymenoptera]. Zhurn. obshh. biol. [Biol. Bull. Reviews]. 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

Марьинских 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 mezhhvidovykh 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 vozdeystviyu [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'shому 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).

Demografija. 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

I. A. Nilova, L. V. Topchieva, A. F. Titov. MAIN STAGES OF PLANT CELLULAR RESPONSE TO HEAT STRESS	3
L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya, E. V. Borvinskaya. 1. ORGANIC ANION TRANSPORTERS. MOLECULAR DIVERSITY, STRUCTURE, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION SYSTEM IN ANIMALS (A REVIEW)	28
L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya, E. V. Borvinskaya. 2. ORGANIC ANION TRANSPORTERS OF THE SLCO FAMILY. PROPERTIES, STRUCTURE, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION SYSTEM IN ANIMALS (A REVIEW)	43

ORIGINAL PAPERS

R. A. Zaprudnova. ERYTHROCYTE CATIONS IN THE ADAPTATION PROCESS IN PERCH <i>PERCA FLUVIATILIS</i> L. (PERCIDAE)	57
L. A. Lysenko, N. P. Kantserova, M. Yu. Krupnova, D. A. Efremov, N. N. Nemova. ON THE PROBLEM OF REPRODUCTIVE PRODUCTS HETEROGENEITY IN SALMONID FISH: PINK SALMON (<i>ONCORHYNCHUS GORBUSCHA</i>) EGGS CASE-STUDY	63
M. A. Ruch'ev, D. A. Efremov, M. I. Skorobogatov, A. E. Veselov. COMPARATIVE RESEARCH ON LOCOMOTOR COMPONENTS OF RHEOTACTIC RESPONSE IN JUVENILE ATLANTIC SALMON (<i>SALMO SALAR</i> L.) AND BROWN TROUT (<i>SALMO TRUTTA</i> L.)	72
V. N. Lebedev, G. A. Vorobeikov. PRODUCTIVITY OF <i>BRASSICACEAE</i> PLANTS INOCULATED WITH BACTERIAL PREPARATIONS	80
V. V. Lavrova, E. M. Matveeva. DEVELOPMENT OF THE PHYTOPARASITIC NEMATODE <i>GLOBODERA ROSTOCHIENSIS</i> WOLL. IN THE ROOTS OF THE WILD TUBER-BEARING POTATO <i>SOLANUM COMMERSONII</i> DUN.	87
E. M. Matveeva, A. A. Sushchuk, D. S. Kalinkina, V. V. Lavrova. SOIL NEMATODE COMMUNITIES AT THE INITIAL STAGE OF AGROCENOSIS FORMATION AND IN LONG CULTIVATED POTATO FIELDS	96
Yu. V. Venzhik, A. F. Titov, V. V. Talanova. RESPONSE OF WHEAT PLANTS TO THE COMBINED IMPACT OF LOW TEMPERATURE AND CADMIUM	108

SHORT COMMUNICATIONS

N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, G. F. Laidinen, A. F. Titov. THE EFFECT OF ZINC ON THE GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WHEAT UNDER OPTIMAL AND HYPOTHERMIC CONDITIONS.	118
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	125

Научное издание

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 12, 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 18.12.2017. Дата выхода 31.12.2017. Формат 60x84¹/₈.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 15,0. Усл. печ. л. 15,3.
Тираж 100 экз. Заказ 467. Цена свободная

Учредители: Карельский научный центр РАН; Институт биологии КарНЦ РАН;
Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН; Институт геологии КарНЦ РАН; Институт леса КарНЦ РАН;
Институт прикладных математических исследований КарНЦ РАН

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