

Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр
Российской академии наук»

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 6, 2018

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2018

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.; Х. ЙООСТЕН, доктор биологии, проф. (Германия); А. С. ИСАЕВ, академик РАН, д. б. н., проф.; 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. ШАЕВСКИЙ, 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>

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 597.5:591.147

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СТЕРОИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У КОСТИСТЫХ РЫБ

Н. Л. Рендаков

*Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
Петрозаводск, Россия*

Стероидные гормоны – важные регуляторы функций организма, связанных с размножением, стрессом и метаболизмом. В данном обзоре представлены сведения о путях биосинтеза стероидных гормонов у представителей класса костистых рыб в сравнении со стероидогенезом у млекопитающих (на примере человека), а также описана система стероидных рецепторов, при этом более подробно изложены сведения о рецепции кортикостероидов. Раскрытие минералокортикоидной регуляции у рыб представлено в историческом аспекте. Приведены сведения об участии кортикостероидов в осморегуляции костистых рыб, механизмы которой значительно отличаются от таковых у наземных позвоночных. Несмотря на большое сходство в путях биосинтеза стероидных гормонов у рыб и млекопитающих, имеется несколько существенных различий, а именно: 1) отсутствие у костистых рыб способности к биосинтезу альдостерона, 2) возможность синтеза стероидов, индуцирующих созревание (СИС), у костистых рыб и 3) различия в путях биосинтеза андрогенов.

К л ю ч е в ы е с л о в а: стероидные гормоны; глюкокортикоиды; минералокортикоиды; стероидогенез; осморегуляция; кортизол; альдостерон.

N. L. Rendakov. SOME ASPECTS OF STEROID REGULATION IN TELEOSTS

Steroid hormones are essential regulators of the organism functions connected with reproduction, stress and metabolism. The present review gives information on steroid hormones biosynthesis pathways in members of the class Teleostei in comparison with steroidogenesis in mammals (specifically humans), as well as on the system of steroid receptors, the corticosteroid reception being presented in more detail. Uncovering of the mineralocorticoid regulation in fish is described in retrospective. Generic knowledge is given on the involvement of corticosteroids in osmoregulation in teleosts, which differs significantly from that in tetrapods. Despite the high similarity in the pathways of steroid hormones biosynthesis in bony fishes and mammals, there are some essential differences, i. e. 1) the inability of teleosts to synthesize aldosterone, 2) the ability of teleosts to synthesize maturation inducing steroids (MIS), and 3) differences in androgen biosynthesis pathways.

Key words: steroid hormones; glucocorticoids; mineralocorticoids; steroidogenesis; osmoregulation; cortisol; aldosterone.

Общие сведения о стероидных гормонах

Стероидный гормон можно определить как вещество, являющееся производным тетрациклического углеводорода стерана (циклопентанпергидрофенантрена) и обладающее всеми необходимыми признаками гормона (синтезируется железистой тканью, секретируется в кровь, воздействует на ткани-мишени).

По физико-химическим свойствам стероиды относятся к липидам и могут относительно свободно перемещаться в пределах клеточных мембран и липидных капель. Транспорт стероидных молекул в водорастворимой фракции цитозоля и плазмы крови осуществляется специальными белками-переносчиками (альбумином, глобулином, связывающим половые гормоны (ГСПГ), и транскортином).

Несмотря на то что большая часть стероидных гормонов связана в организме с транспортными белками, принято считать, что влияние этих гормонов на клетки организма зависит от концентрации свободных (несвязанных) гормонов [Chun et al., 2014; Rove et al., 2014]. Эта концепция получила название «гипотезы свободных гормонов» (“free hormone hypothesis”). Гипотеза свободных гормонов подвергалась сомнению, поскольку было показано, что некоторые эффекты половых стероидов могут быть опосредованы эндоцитозом этих гормонов в связанном с белками виде [Adams, 2005; Hammes et al., 2005; Rosner, 2006; Willnow, Nykjaer, 2006].

Можно было бы ожидать, что стероидные гормоны, как и холестерин, из которого они происходят, должны прочно встраиваться в плазматические мембраны, однако для них показано свободное перемещение с одной стороны липидного бислоя на другой (чего не наблюдается в случае холестерина), а также быстрая диффузия сквозь мембранные барьеры [Oren et al., 2004]. В переносе стероидов у рыб участвует ГСПГ [Vobe et al., 2010], а транскортин (кортикостероид-связывающий глобулин, КСГ) у рыб практически не изучен.

У рыб, как и у человека, стероидные гормоны выполняют множество функций, связанных с эмбриональным развитием, детерминацией пола и половой дифференцировкой, метаболизмом (в особенности с обменом глюкозы и минеральных веществ), иммунными реакциями, осморегуляцией, суточными ритмами, спариванием, размножением и поведением

в целом [Hsu et al., 2006; Tokarz et al., 2015]. Отсутствие адекватной гормональной поддержки этих функций лежит в основе многих патологий [см. обзоры Chaby, 2016; Collomp et al., 2016].

Эффекты стероидов делят в настоящее время на две большие группы – геномные и негеномные [Delville, 1991; Paul, Purdy, 1992; Olsen, Sapp, 1995; Wehling, 1995; Jiang et al., 2014; Hammes, Davis, 2015]. В случае работы геномных механизмов, которые можно назвать классическими, гормоны регулируют транскрипцию генов-мишеней. Физиологические изменения при этом развиваются относительно медленно, в течение нескольких часов, и действие гормонов может подавляться ингибиторами транскрипции и трансляции. Негеномные эффекты стероидных гормонов не связаны с воздействием на генетический аппарат клетки, что позволяет им проявляться гораздо быстрее – в течение секунд или минут. При этом ингибиторы транскрипции и трансляции неспособны подавить эти эффекты [Brann et al., 1995; Falkenstein et al., 2000; Norman et al., 2004; Jiang et al., 2014]. Установлено, что стероидогенез может протекать и за пределами желез внутренней секреции, в частности, в головном мозге, коже и адипоцитах. Стероиды, способные оказывать быстрые негеномные эффекты на мозг и поведение, называют нейроактивными, а те из них, которые синтезируются в мозге *de novo*, – нейростероидами [Stoffel-Wagner, 2001; Dubrovsky, 2005; Follesa et al., 2006; Strous et al., 2006; Mensah-Nyagan et al., 2008; Viero, Dayanithi, 2008; Carta et al., 2012; Schiller et al., 2014].

Цель представленного обзора – обобщить современные данные о биосинтезе и рецепции стероидных гормонов, а также изложить сведения об участии кортизола в осморегуляции у представителей класса костистых рыб (Teleostei).

Особенности биосинтеза стероидных гормонов у костистых рыб

Исследования в области нейроэндокринологии, основоположниками которой являются прежде всего Джеффри Харрис [Harris, 1948, 1972], а также Нобелевские лауреаты Роже Гиймен [Guillemin, Rosenberg, 1955] и Эндрю Шалли [Schally et al., 1971], позволили выяснить, что регуляция многих метаболических и поведенческих реакций осуществляется посредством эндокринных «осей» [Raisman, 1997]. В эти оси

входят гипоталамус, гипофиз и периферические эндокринные железы.

У костистых рыб биосинтез стероидных гормонов регулируют две оси – «гипоталамус-гипофиз-интерреналовая ткань» и «гипоталамус-гипофиз-гонады» [Liley, Stacey, 1983; Nagahama, 1994; Liu et al., 2011; Löhr, Hammerschmidt, 2011; Tokarz et al., 2015; Ubuka, Parhar, 2018]. Стероидогенез происходит прежде всего в гонадах и интерреналовой ткани, а также в головном мозге [Alsop, Vijayan, 2009; Diotel et al., 2011; Beitel et al., 2014; Yu et al., 2014; Petersen et al., 2015]. Интерреналовая железистая ткань рыб функционально гомологична надпочечникам млекопитающих [Chai et al., 2003; Civinini, Gallo, 2007]. Она состоит из тяжей и конгломератов специализированных клеток в головной почке костистых рыб и может претерпевать периодическую перестройку и обновление структуры, что показано на примере колюшки трехиглой (*Gasterosteus aculeatus*) [Civinini, Gallo, 2007].

У рыб, как и у млекопитающих, все классы стероидных гормонов синтезируются из общего предшественника – холестерина [Miller, Auchus, 2011; Miller, 2013; Tokarz et al., 2015]. Вообще, холестерин может синтезироваться многими животными и растениями [Tarkowská, Strnad, 2016], однако интересно, что насекомые неспособны синтезировать холестерин *de novo* и должны потреблять экзогенные стероиды для его синтеза [Clark, Block, 1959; Huang et al., 2008].

Первый этап синтеза стероидов состоит в отщеплении боковой цепи от молекулы холестерина и превращении его в прегненолон. Эта реакция катализируется ферментом CYP11A1, относящимся к суперсемейству цитохромов P450 [Chung et al., 1986, 1997], и является скоростью-лимитирующей при синтезе всех стероидов [Hsu et al., 2006], однако ее скорость определяется не только активностью CYP11A1, но также и скоростью доставки холестерина от липидных капелек к внутренней мембране митохондрий [Shen et al., 2016]. Доступность холестерина для CYP11A1 зависит, в частности, от стероидогенного острого регуляторного белка (steroidogenic acute regulatory protein, StAR) [Bose et al., 2008; Levi et al., 2009; Miller, Bose, 2011]. StAR переносит гидрофобный холестерин через водную среду межмембранного пространства митохондрий и таким образом влияет на скорость-лимитирующий этап стероидогенеза [Nematollahi et al., 2012].

Прегненолон может иметь в организме самостоятельное значение, поскольку относится к нейростероидам [Marx et al., 2011], однако

чаще он является интермедиатом в синтезе других стероидов. Посредством ферментативных модификаций стероидного ядра, то есть при добавлении/удалении функциональных групп, из прегненолона могут быть синтезированы представители всех семейств стероидов позвоночных животных, а именно стероиды прегнанового (C₂₁-стероиды), андростанового (C₁₉-стероиды) и эстранового (C₁₈-стероиды) семейств [Tokarz et al., 2013b, 2015]. Следует обратить внимание, что структурная классификация стероидов по количеству углеродных атомов и строению молекулы не всегда соответствует функциональной классификации, что особенно отчетливо проявляется при попытках разграничить глюкокортикоиды и минералокортикоиды.

Сначала из прегненолона синтезируются прегнановые стероиды, которые могут рассматриваться как производные C₂₁-стероида прегнана (рис. 1). Из C₂₁-стероидов в дальнейшем могут быть синтезированы стероиды с меньшим числом углеродных атомов. К прегнановым стероидам относятся прогестины (гормоны яичников, например, прогестерон) и кортикостероиды (гормоны коры надпочечников).

Кортикостероиды, в свою очередь, подразделяют по функции на глюкокортикоиды и минералокортикоиды. Глюкокортикоиды регулируют главным образом углеводный и белковый обмен, минералокортикоиды – водно-солевой обмен. Это разделение во многом условно, так как природные глюкокортикоиды могут обладать и некоторой минералокортикоидной активностью. Кроме того, у рыб отсутствует альдостерон [Bern, 1967; Gilmour, 2005], являющийся основным минералокортикоидом человека и, по-видимому, других млекопитающих [Müller, 1995; Schiffer et al., 2015]. Вместо альдостерона минералокортикоидное действие у рыб осуществляется главным образом кортизолом через глюкокортикоидные рецепторы (GR) [Mommsen et al., 1999; McCormick et al., 2008; Takahashi, Sakamoto, 2013], а роль 11-дезоксикортикостерона (ДОК) как минералокортикоида, которую предполагали в некоторых работах [Gilmour, 2005; Sturm et al., 2005; Stolte et al., 2008; Bernier et al., 2009], представляется сомнительной [McCormick et al., 2008; Takahashi, Sakamoto, 2013; Tokarz et al., 2015].

В гонадах 17-гидроксипрегненолон и 17-гидроксипрогестерон могут метаболизироваться в половые гормоны, причем женские половые гормоны (C₁₈-стероиды) образуются из мужских (C₁₉-стероидов) с помощью фермента ароматазы, ароматизирующей А-кольцо стероидной молекулы. Основным женским половым гор-

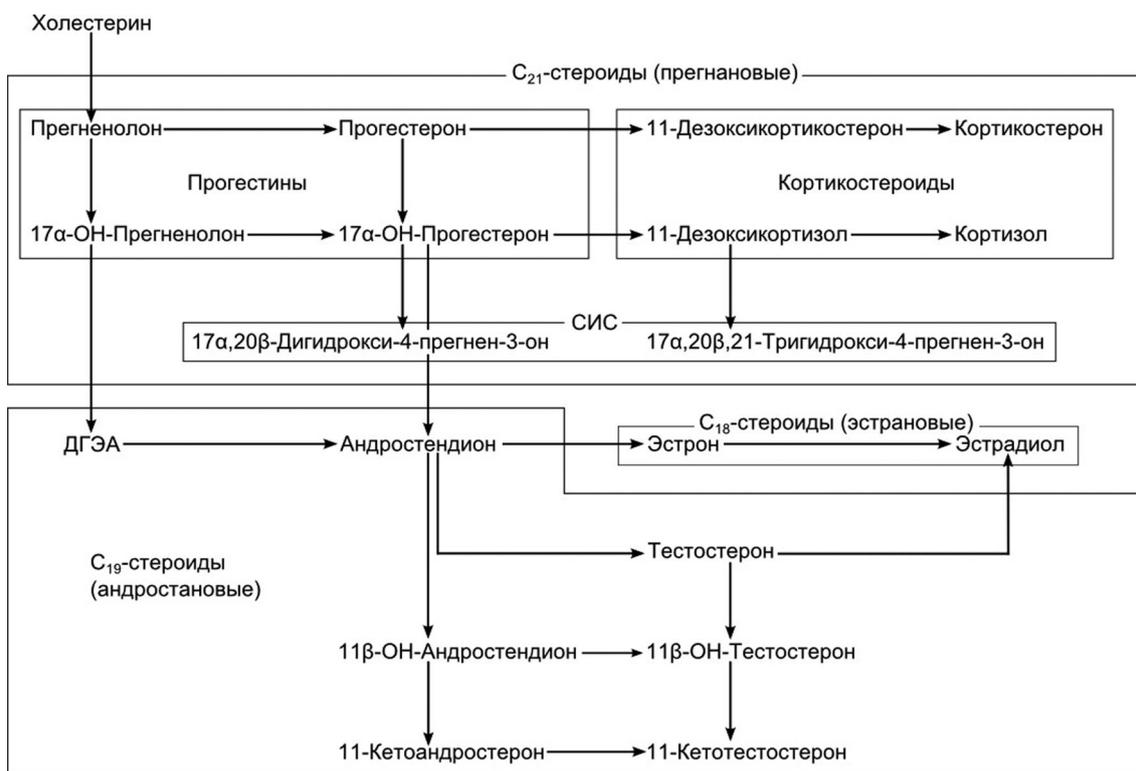


Рис. 1. Схема биосинтеза стероидных гормонов у костистых рыб

Fig. 1. Steroid hormones biosynthesis in teleosts

моном, или эстрогеном, как у млекопитающих, так и у рыб является эстрадиол. Основным андрогеном у рыб является 11-кетотестостерон, а не тестостерон и 5 α -дигидротестостерон, как у млекопитающих [Mindnich et al., 2005; Hsu et al., 2006]. Пути синтеза половых стероидов начинаются либо с дегидроэпиандростерона (ДГЭА), либо с андростендиона (рис. 1).

Большая часть генов стероидогенеза клонирована, а их экспрессия изучена, однако степень изученности сильно варьирует в зависимости от гена, вида и конкретных исследовательских задач. Например, гены таких цитохромов P450 как фермента, расщепляющего боковую цепь холестерина (*cyp11a1*), 17 α -гидроксилазы (*cyp17a*) и ароматазы (*cyp19a1*) наиболее изучены, поскольку соответствующие им белки являются тремя важными регуляторными участками стероидогенеза [Tokarz et al., 2015].

При сравнении пути биосинтеза стероидов у костистых рыб со стероидогенезом у человека [Miller, Auchus, 2011; Tokarz et al., 2015] обращает на себя внимание консерватизм основной части этого пути, однако имеются также и различия в трех важных направлениях (табл.). Различия следующие: 1) неспособность костистых рыб к биосинтезу альдостерона, 2) синтез стероидов, индуцирующих созревание, (СИС)

у костистых рыб и 3) расхождение путей биосинтеза андрогенов.

У костистых рыб кортикостерон обычно является конечным продуктом в пути биосинтеза (рис. 1), тогда как у человека этот гормон может служить интермедиатом в синтезе альдостерона. У млекопитающих альдостерон стимулирует реабсорбцию ионов натрия и хлора в почечных канальцах, что способствует удержанию воды в организме, кроме того, этот гормон активирует секрецию ионов калия, водорода и аммония, воздействуя на минералокортикоидный рецептор (MR) [Cooke et al., 1988; Tokarz et al., 2015]. Рецепторы MR были обнаружены у костистых рыб, но у них они активируются кортизолом [Sturm et al., 2005; Vernier et al., 2009; Pippal et al., 2011]. У костистых рыб альдостерон до сих пор не был обнаружен и, по-видимому, у них отсутствует [Bern, 1967; Gilmour, 2005]; не удалось обнаружить и фермент, синтезирующий этот гормон [Jiang et al., 1998; Baker, 2003; Gilmour, 2005; Bridgham, 2006; Scholz, Mayer, 2008]. Вопрос о том, какое вещество является естественным физиологическим лигандом рецепторов MR у костистых рыб, пока остается нерешенным [Gilmour, 2005; Prunet et al., 2006; McCormick et al., 2008; Löhr, Hammerschmidt, 2011; Baker, Katsu, 2017].

Различия в биосинтезе стероидных гормонов у костистых рыб и человека

Differences in steroid hormones biosynthesis between teleosts and human

	Костистые рыбы Teleosts	Человек Human
Кортикостероиды Corticosteroids	Альдостерон отсутствует Aldosterone is missing	Альдостерон имеется Aldosterone is present
Стероиды, индуцирующие созревание (СИС) Maturation inducing steroids (MIS)	Имеются Present	Отсутствуют Missing
Андрогены Androgens	11-Кетотестостерон 11-Ketotestosterone	Тестостерон, 5 α -дигидротестостерон Testosterone, 5 α -dihydrotestosterone

В эволюционном плане альдостерон впервые появляется у представителей надотряда двоякодышащих (Dipnoi), относящихся к надклассу лопастеперых (Sarcopterygii) [Joss et al., 1994; Rossier et al., 2016; Baker, Katsu, 2017]. Двоякодышащие рыбы являются предками надкласса четвероногих (наземных) позвоночных (Tetrapoda) [Woolston, 2013].

Уникальной чертой стероидогенеза костистых рыб является биосинтез стероидов, индуцирующих созревание, а именно 17 α ,20 β -дигидрокси-4-прегнен-3-она (17,20 β -P или DHP) и 17 α ,20 β ,21-тригидрокси-4-прегнен-3-она (20 β -S) ферментом HSD20B из 17 α -гидроксипрогестерона и 11-дезоксикортизола соответственно. 17,20 β -P действует как СИС в основном у лососеобразных, карпообразных, сомообразных и атериноподобных, тогда как 20 β -S является СИС у окунеобразных [Nagahama, Yamashita, 2008; Clelland, Peng, 2009; Tokarz et al., 2015]. Эти стероиды индуцируют у костистых рыб созревание яйцеклеток, у человека они отсутствуют. Кроме того, ген, отвечающий за синтез СИС, а именно *hsd20b*, к настоящему времени был обнаружен лишь у костистых рыб.

Имеются значительные различия в синтезе андрогенов у костистых рыб и человека. Лигандом андрогеновых рецепторов (AR) у костистых рыб является 11-кетотестостерон (11-КТ) [Kime, 1993; Borg, 1994; Lokman et al., 2002; Olsson et al., 2005; de Waal et al., 2008; Tokarz et al., 2015], тогда как у человека активными андрогенами служат тестостерон (Т), а также более активный гормон 5 α -дигидротестостерон (ДГТ) [Mooradian et al., 1987; Luu-The, Labrie, 2010; Luu-The, 2013]. Это различие связано с различием в путях биосинтеза. У костистых рыб 11-КТ синтезируется через 11 β -гидроксиандрогены. Эти метаболиты не встречаются у человека, поскольку путь синтеза андрогенов человека в основном задействует реакции восстановления в положениях 5 α и 3 α [Miller, Auchus, 2011].

Кроме того, у рыб и человека различаются характер экспрессии и субстратные предпочтения ферментов этого пути. Например, 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа 3-го типа у человека экспрессируется почти исключительно в яичках [Moeller, Adamski, 2009], тогда как ее ортолог у данио-рерио экспрессируется более широко [Mindnich et al., 2005]. Было показано, что *in vitro* оба фермента катализируют превращение андростендиона в тестостерон и 11-кетоандростендиона в 11-кетотестостерон, хотя последняя реакция не наблюдается у человека *in vivo*. Напротив, фермент HSD17B3 рыбки данио-рерио не способен превращать андростерон в андростандиол, то есть не осуществляет реакцию, которая осуществляется человеческим HSD17B3 [Mindnich et al., 2005]. Такое существенное различие в области биохимии андрогенов у костистых рыб и человека, как использование 11-КТ вместо Т и ДГТ, может быть подвергнуто сомнению, поскольку в плазме крови черного толстоголова (*Pimephales promelas*) был обнаружен ДГТ, который обладал андрогенной активностью [Margiotta-Casaluci, Sumpter, 2011; Margiotta-Casaluci et al., 2013]. Поскольку ДГТ был обнаружен только у вышеупомянутого вида рыб, то его роль у этого вида, а также в целом у костистых рыб требует дальнейшего изучения [Martyniuk et al., 2013].

У самцов рыб, проявляющих родительское поведение, происходит снижение уровня 11-КТ в плазме крови, когда период ухаживания за самкой сменяется стадией заботы о потомстве. Это характерно, например, для акантохромиса полиакантуса (*Acanthochromis polyacanthus*) [Pankhurst et al., 1999], северной рыбы-мичмана (*Porichthys notatus*) [Knapp et al., 1999] и колюшки трехиглой (*Gasterosteus aculeatus*) [Páll et al., 2002]. Интересно, что эта закономерность (снижение уровня андрогенов при переходе к заботе о потомстве) наблюдается и у других позвоночных – у птиц [Van Duyse et al., 2000] и у человека [Gettler et al., 2011]. Предполага-

ется, что снижение склонности к риску после рождения потомства является выгодной эволюционной стратегией [Stein et al., 2016].

Известно, что надкласс лучеперых рыб Actinopterygii (куда включается класс костистых, Teleostei) претерпел полногеномную дупликацию, которой не было у наземных позвоночных [Taylor et al., 2003; Meyer, Van de Peer, 2005; Tokarz et al., 2015]. Дублицированные гены могут иметь различную судьбу, например, их экспрессия может подавляться мутациями, они могут подвергаться неофункционализации, приобретая новые полезные функции, а также может наблюдаться сосуществование пары генов при дивергенции их регуляции и экспрессии [Hughes, 1994; Conant, Wolfe, 2008; Glasauer, Neuhauss, 2014]. Что касается генов стероидогенеза у костистых рыб, то невозможно сказать о какой-то общей судьбе дублицированных копий этих генов. Например, у рыбки данио-рерио многие дублицированные гены были потеряны или их экспрессия оказалась подавленной [Busby et al., 2010; Tokarz et al., 2013b], тогда как у других видов (например, у *Carassius auratus*, *Oncorhynchus mykiss*, *Fugu rubripes*) имеются множественные функциональные копии [Maglich, 2003; Pittman et al., 2013; Zhang et al., 2014]. Предполагается, что приобретение дифференциальной регуляции и экспрессии дублицированных генов в зависимости от типа ткани и стадии развития является общей характеристикой генов стероидогенеза у костистых рыб [Tokarz et al., 2015].

Рецепторы стероидных гормонов у костистых рыб

У рыб, как и у других позвоночных животных, рецепторы стероидных гормонов подразделяются на два типа: «классические» ядерные и мембранные, обуславливающие негеномные эффекты [Hammes, Levin, 2007; Thomas, 2012]. Для ядерных рецепторов многих видов костистых рыб хорошо изучены характер экспрессии и особенности связывания лигандов [Tokarz et al., 2015]. Как и в случае генов ферментов стероидогенеза, у многих костистых рыб наблюдается дубликация генов ядерных рецепторов стероидов. Кроме того, некоторые ядерные рецепторы имеют сплайс-варианты, что дополнительно усложняет и номенклатуру этих белков, и исследование их физиологической роли.

Выделяют пять типов ядерных рецепторов стероидных гормонов: прогестероновые (PR), глюкокортикоидные (GR), минералокортикоидные (MR), эстрогеновые (ER) и андрогеновые (AR).

Большой интерес представляет вопрос о кортикостероидной рецепции у рыб, поскольку в этой области имеются существенные различия в гормональной регуляции рыб и млекопитающих.

У млекопитающих стероидные гормоны коры надпочечников делятся на два класса – глюкокортикоиды и минералокортикоиды, причем каждый из классов имеет собственные рецепторы [Discouret, 1995]. Исследования кортикостероидов у рыб показали, что у этих животных глюкокортикоид кортизол обладает как глюко-, так и минералокортикоидной активностью [Bern, Madsen, 1992; Sturm et al., 2005]. Так, этот гормон является ключевым фактором адаптации к морской воде [Pickford et al., 1970; Foskett et al., 1983] и регулирует работу хлоридных клеток (ионоцитов) при адаптации к пресной воде [Flik, Perry, 1989; Laurent, Perry, 1990].

У млекопитающих кортизол тоже связывается как с GR, так и с MR и способен индуцировать транскрипционную активность через рецепторы обоих типов. Кроме того, MR обычно имеют в 10 раз более высокое сродство к кортизолу, чем GR; по этой причине данные рецепторы изначально обозначали как GR типа I и типа II соответственно [Krozowski, Funder, 1983; Reul et al., 2000]. Помимо кортизола MR могут активироваться также минералокортикоидом альдостероном. Однако, поскольку уровень кортизола в плазме крови значительно (в 100–1000 раз) выше, чем уровень альдостерона [Farman, 1999], предполагается, что в нормальных условиях MR должны быть постоянно заняты кортизолом. Специфическая реакция на альдостерон может осуществляться лишь некоторыми клетками, которые обладают механизмами, ограничивающими доступ кортизола к рецепторам. Например, в некоторых клетках MR локализованы с ферментом 11 β -гидроксистероиддегидрогеназой типа 2 (HSD11b2), которая селективно инактивирует кортизол и кортикостерон, но не альдостерон [Funder et al., 1988]. Существуют и другие механизмы инактивации кортизола [Cooke et al., 1988; Fuller et al., 2012]. Предполагается, что в тканях, в которых MR присутствуют без подобных механизмов, они действуют как высокоаффинные рецепторы кортизола [Greenwood et al., 2003; Tokarz et al., 2013a].

Роль кортизола в осморегуляции у костистых рыб

Считается, что все представители класса костистых рыб являются осмо- и ионорегуля-

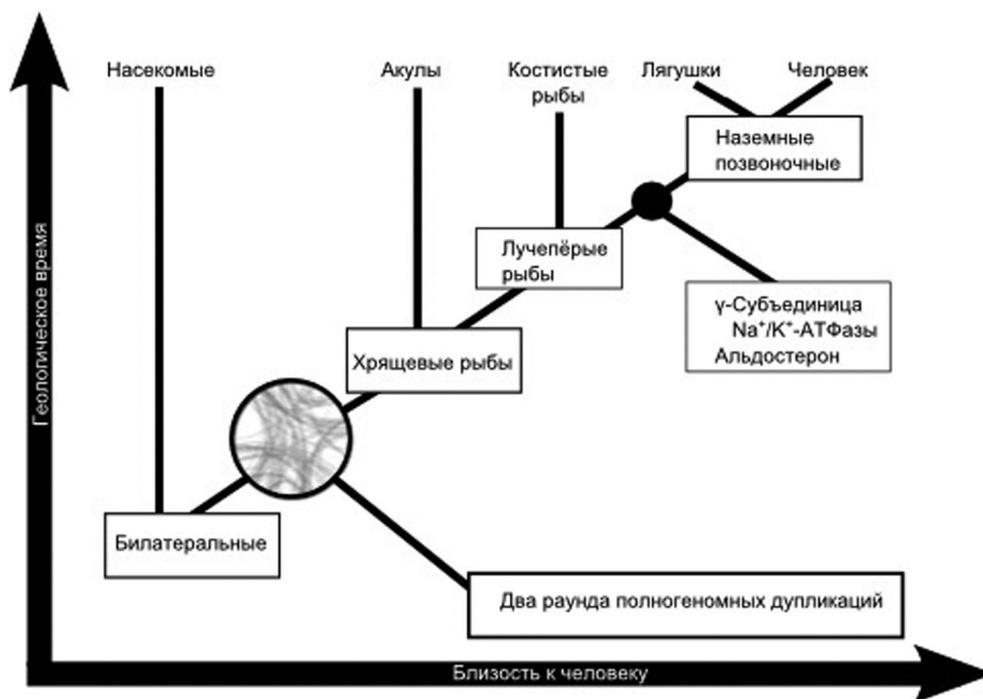


Рис. 2. Возникновение компонентов альдостероновой регуляции на геохронологической шкале [по: Rossier et al., 2015, в модификации]

Fig. 2. Emergence of components of the aldosterone regulation in geological time after [Rossier et al., 2015, with modifications]

торами, то есть они способны поддерживать отличие ионного состава и осмолярности внеклеточных жидкостей организма от ионного состава и осмолярности среды. Осмолярность плазмы крови костистых рыб поддерживается на уровне одной трети от таковой морской воды [McCormick, 2001]. У осмо- и ионоконформеров, к которым относятся морские миксины, целакантообразные и хрящевые рыбы, ионный состав и/или осмолярность плазмы крови близки к таковой морской воды [Judd, 2012; Moyes, Schulte, 2014].

Большинство (95 %) видов костистых рыб относятся к стеногалинным, т. е. способным жить либо в пресной воде, либо в морской, тогда как остальные виды являются эвригалинными и имеют возможность адаптироваться к большим изменениям солености [McCormick, 2001; Tokarz et al., 2015]. К эвригалинным видам относятся рыбы, населяющие устья рек, например, представители отряда карпозубообразные (Cyprinodontiformes), или мигрирующие между пресной и соленой водой в ходе своего естественного жизненного цикла, например, атлантический лосось и проходные виды осетровых.

В морской воде жабры костистых рыб активно экскретируют ионы, что необходимо для компенсации притока ионов из гипертоничес-

кой среды и связано со значительными энергетическими затратами. Пресноводные рыбы, напротив, поглощают соли из менее осмолярной водной среды. В обоих случаях большое количество энергии тратится на активное перемещение ионов, прежде всего на работу Na^+/K^+ -АТФазы [De Renzis, Bornancin, 1984].

Функциональная Na^+/K^+ -АТФаза состоит из двух основных субъединиц – α и β , которые нековалентно связаны в $\alpha\beta$ -гетеродимер, у наземных позвоночных этот комплекс дополняется γ -субъединицей [Richards, 2003; Geering, 2008; Rossier et al., 2015]. γ -Субъединица (FXD2) появилась на геохронологической шкале одновременно с альдостероном (рис. 2), который регулирует экспрессию Na^+/K^+ -АТФазы в почках наземных позвоночных [Rossier et al., 2015]. В жабрах микижи были открыты три различные изоформы $\alpha 1$ -субъединицы – $\alpha 1a$, $\alpha 1b$ и $\alpha 1c$ [Richards, 2003; Madsen et al., 2009]. Дальнейшие исследования показали, что экспрессия изоформы $\alpha 1a$ необходима для адаптации к морской воде, а изоформы $\alpha 1b$ – к пресной [Bystriansky et al., 2007; Tipsmark et al., 2011; Judd, 2012].

При акклимации к пресной воде кортизол повышает экспрессию пресноводной изоформы Na^+/K^+ -АТФазы (NKAa1a) [Bernier et al., 2009], что приводит к увеличению поглощения

ионов натрия [Kumai et al., 2012]. При акклимации к морской воде происходит усиление экскреции ионов натрия и хлора эпителием жабр; этот эффект обеспечивается совместным действием кортизола, соматотропина и инсулиноподобного фактора роста I [McCormick, 2001]. Обнаружено, что при этом кортизол индуцирует экспрессию морской изоформы Na^+/K^+ -АТФазы (NKAa1b) [Bernier et al., 2009]. В кишечнике кортизол индуцирует поглощение соли и воды [Veillette et al., 1995].

Минералокортикоидная функция кортизола у рыб была обнаружена более 20 лет назад. Так, у эвригаллиных видов, адаптирующихся к морской воде, кортизол повышает активность Na^+/K^+ -АТФазы, а также $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -котранспортера (NKCC) в жабрах [Wood, Marshall, 1994]. Участие кортизола и глюкокортикоидных рецепторов в осморегуляции подтвердилось исследованиями, демонстрирующими, что антагонист глюкокортикоидных рецепторов мифепристон (RU486) подавляет адаптацию рыб к изменению солености воды [Veillette et al., 1995]. Эти результаты не отменяли факта глюкокортикоидного действия кортизола, в частности, его роли в адаптациях к стрессовым воздействиям, что позволило Томасу Моммсену с соавторами утверждать, что кортизол выполняет у рыб и глюкокортикоидные, и минералокортикоидные функции [Mommensen et al., 1999]. В дальнейшем Стивен МакКормиком было установлено, что роль кортизола в осморегуляции является двойственной, поскольку у эвригаллиных видов он участвует в адаптации как к соленой, так и к пресной воде. Специфическую адаптацию в этих случаях обеспечивают другие гормоны, а именно гормон роста и пролактин, эффекты которых антагонистичны [McCormick, 2001]. Примерно в это время начинается цикл работ, пытающихся обосновать, что физиологическим лигандом MR у костистых рыб может являться 11-дезоксикортикостерон (ДОК) [Gilmour, 2005; Sturm et al., 2005; Prunet et al., 2006; Stolte et al., 2008; Bernier et al., 2009]. Однако эксперименты *in vivo* показали, что как ДОК, так и MR в осморегуляции рыб играют минимальную роль [McCormick et al., 2008; Takahashi, Sakamoto, 2013]. Вопрос о потенциальном лиганде рецептора MR у костистых рыб, а также о необходимости существования такого лиганда не решен до сих пор [Takahashi, Sakamoto, 2013; Tokarz et al., 2015; Baker, Katsu, 2017]. Показано, что экспрессия MR рыб значительно выше в мозге, чем в органах, участвующих в осморегуляции [Greenwood et al., 2003; Sturm et al., 2005; Arterbery et al., 2010]. Высказано предположение, что ре-

цепторы MR у рыб могут быть связаны с регуляцией поведения [Takahashi, Sakamoto, 2013].

В целом можно отметить, что механизмы, посредством которых кортизол воздействует на различные аспекты осморегуляции, сложны и, вероятно, зависят от вида рыб и от экологических условий [McCormick, 2001; Prunet et al., 2006; Kumai et al., 2012]. Стероидная регуляция водно-электролитного обмена осуществляется у костистых рыб кортизолом и GR, а не MR и его предположительным лигандом ДОК [Tokarz et al., 2015; Baker, Katsu, 2017].

Заключение

Приведенный обзор свидетельствует о том, что в разделе эндокринологии рыб, посвященном изучению стероидных гормонов, накоплено большое количество сведений как о самих гормонах и их функциях, так и о генах и ферментах, необходимых для биосинтеза этих соединений. Стероиды регулируют у позвоночных многие биологические процессы, среди которых эмбриональное развитие, половая дифференцировка, размножение, метаболизм, циркадные ритмы, иммунные и стрессовые реакции. Возможность регуляции водно-солевого обмена стероидными гормонами при изменении солености в значительной мере определяет адаптацию рыб и к другим факторам среды, например, к изменению температуры, гипоксии и воздействию поллютантов.

Помимо теоретического интереса изучение биохимии и физиологии стероидной регуляции у рыб имеет и большое практическое значение. Так, известно, что костистые рыбы, находясь в природных или искусственных условиях, довольно чувствительны к веществам, нарушающим эндокринные функции (endocrine disrupting compounds, EDC). Воздействие на организм рыб поллютантов стероидной природы, содержащихся в сточных водах, может приводить к различным эндокринным нарушениям, в частности, к феминизации мужских особей или маскулинизации женских [Björkblom et al., 2009]. Особенно важно, что, будучи объектом промысла, рыбы потребляются человеком, а это может привести к расстройствам эндокринной системы уже у человека [Vos et al., 2000; Liu et al., 2017]. Кроме того, изучение эндокринных нарушений у модельных видов рыб (например, *Danio rerio*, *Gasterosteus aculeatus*) помогает получить сведения о влиянии поллютантов на развитие патологий в организме человека. Все это делает исследования по эндокринологии рыб особенно актуальными.

Работа выполнена в рамках бюджетной темы № 0221-2017-0050 (№ г. р. АААА-А17-117031710039-3).

Литература

- Adams J. S. «Bound» to work: the free hormone hypothesis revisited // *Cell*. 2005. Vol. 122, no. 5. P. 647–649. doi: 10.1016/j.cell.2005.08.024
- Alsop D., Vijayan M. The zebrafish stress axis: Molecular fallout from the teleost-specific genome duplication event // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2009. Vol. 161, no. 1. P. 62–66. doi: 10.1016/j.ygcen.2008.09.011
- Arterbery A. S., Deitcher D. L., Bass A. H. Corticosteroid receptor expression in a teleost fish that displays alternative male reproductive tactics // *Gen Comp Endocrinol.* 2010. Vol. 165, no. 1. P. 83–90. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.06.004
- Baker M. E. Evolution of glucocorticoid and mineralocorticoid responses: go fish // *Endocrinol.* 2003. Vol. 144, no. 10. P. 4223–4225. doi: 10.1210/en.2003-0843
- Baker M. E., Katsu Y. 30 YEARS OF THE MINERALOCORTICOID RECEPTOR: Evolution of the mineralocorticoid receptor: sequence, structure and function // *J. Endocrinol.* 2017. Vol. 234, no. 1. P. T1–T16. doi: 10.1530/JOE-16-0661
- Beitel S. C., Doering J. A., Patterson S. E., Heckler M. Assessment of the sensitivity of three North American fish species to disruptors of steroidogenesis using in vitro tissue explants // *Aquat. Toxicol.* 2014. Vol. 152. P. 273–283. doi: 10.1016/j.aquatox.2014.04.013
- Bern H. A. Hormones and endocrine glands of fishes. Studies of fish endocrinology reveal major physiological and evolutionary problems // *Science*. 1967. Vol. 158, no. 3800. P. 455–462.
- Bern H. A., Madsen S. S. A selective survey of the endocrine system of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with emphasis on the hormonal regulation of ion balance // *Aquaculture*. 1992. Vol. 100, no. 1–3. P. 237–262. doi: 10.1016/0044-8486(92)90384-W
- Bernier N. J., Flik G., Klaren P. H. M. Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes // *Fish Physiology: Fish Neuroendocrinology* / Eds. N. J. Bernier, G. Van Der Kraak, A. P. Farrell, C. J. Brauner. London: Academic Press, 2009. P. 235–311. doi: 10.1016/S1546-5098(09)28006-X
- Björkblom C., Högfors E., Salste L., Bergelin E., Olsson P. E., Katsiadaki I., Wiklund T. Estrogenic and androgenic effects of municipal wastewater effluent on reproductive endpoint biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) // *Environ Toxicol Chem.* 2009. Vol. 28, no. 5. P. 1063–1071. doi: 10.1897/08-337.1
- Bobe J., Guiguen Y., Fostier A. Diversity and biological significance of sex hormone-binding globulin in fish, an evolutionary perspective // *Mol Cell Endocrinol.* 2010. Vol. 316, no. 1. P. 66–78. doi: 10.1016/j.mce.2009.09.017
- Borg B. Androgens in teleost fishes // *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 1994. Vol. 109, no. 3. P. 219–245. doi: 10.1016/0742-8413(94)00063-G
- Bose M., Whittal R. M., Miller W. L., Bose H. S. Steroidogenic activity of StAR requires contact with mitochondrial VDAC1 and phosphate carrier protein // *J Biol Chem.* 2008. Vol. 283, no. 14. P. 8837–8845. doi: 10.1074/jbc.M709221200
- Brann D. W., Hendry L. B., Mahesh V. B. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones // *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995. Vol. 52, no. 2. P. 113–133. doi: 10.1016/0960-0760(94)00160-N
- Bridgham J. T. Evolution of hormone-receptor complexity by molecular exploitation // *Sci.* 2006. Vol. 312, no. 5770. P. 97–101. doi: 10.1126/science.1123348
- Busby E. R., Roch G. J., Sherwood N. M. Endocrinology of zebrafish: a small fish with a large gene pool // *Fish Physiology: Zebrafish* / Eds. S. F. Perry, M. Ekker, A. P. Farrell, C. J. Brauner. Amsterdam: Academic Press, 2010. P. 173–247. doi: 10.1016/S1546-5098(10)02905-5
- Bystriansky J. S., Frick N. T., Richards J. G., Schulte P. M., Ballantyne J. S. Failure to up-regulate gill Na⁺,K⁺-ATPase α -subunit isoform α 1b may limit seawater tolerance of land-locked Arctic char (*Salvelinus alpinus*) // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2007. Vol. 148, no. 2. P. 332–338. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.05.007
- Carta M. G., Bhat K. M., Preti A. GABAergic neuroactive steroids: a new frontier in bipolar disorders? // *Behav Brain Funct.* 2012. Vol. 8. P. 61. doi: 10.1186/1744-9081-8-61
- Chaby L. E. Why are there lasting effects from exposure to stress during development? An analysis of current models of early stress // *Physiol Behav.* 2016. Vol. 164 (A). P. 164–181. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.05.032
- Chai C., Liu Y., Chan W.-K. Ff1b is required for the development of steroidogenic component of the zebrafish interrenal organ // *Dev Biol.* 2003. Vol. 260, no. 1. P. 226–244. doi: 10.1016/S0012-1606(03)00219-7
- Chun R. F., Peercy B. E., Orwoll E. S., Nielson C. M., Adams J. S., Hewison M. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited // *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014. Vol. 144 (A). P. 132–137. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.012
- Chung B. C., Matteson K. J., Voutilainen R., Mohandas T. K., Miller W. L. Human cholesterol side-chain cleavage enzyme, P450scc: cDNA cloning, assignment of the gene to chromosome 15, and expression in the placenta // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986. Vol. 83, no. 23. P. 8962–8966.
- Chung B. C., Guo I. C., Chou S. J. Transcriptional regulation of the CYP11A1 and ferredoxin genes // *Steroids.* 1997. Vol. 62, no. 1. P. 37–42. doi: 10.1016/S0039-128X(96)00156-0
- Civinini A., Gallo V. P. Degeneration and possible renewal processes related to the interrenal cells in the head kidney of the stickleback *Gasterosteus aculeatus* // *Tissue Cell.* 2007. Vol. 39, no. 2. P. 109–122. doi: 10.1016/j.tice.2007.02.002
- Clark A. J., Block K. The absence of sterol synthesis in insects // *J Biol Chem.* 1959. Vol. 234. P. 2578–2582.
- Clelland E., Peng C. Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development // *Mol Cell Endocrinol.* 2009. Vol. 312, no. 1–2. P. 42–52. doi: 10.1016/j.mce.2009.04.009

- Collomp K., Baillot A., Forget H., Coquerel A., Rieth N., Vibarel-Rebot N.* Altered diurnal pattern of steroid hormones in relation to various behaviors, external factors and pathologies: A review // *Physiol Behav.* 2016. Vol. 164 (A). P. 68–85. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.05.039
- Conant G. C., Wolfe K. H.* Turning a hobby into a job: How duplicated genes find new functions // *Nat Rev Genet.* 2008. Vol. 9, no. 12. P. 938–950. doi: 10.1038/nrg2482
- Cooke B. A., van der Molen H. J., King R. J. B. (eds.)* Hormones and their Actions. Amsterdam: Elsevier, 1988. 290 p.
- Delville Y.* Progesterone-facilitated sexual receptivity: a review of arguments supporting a nongenomic mechanism // *Neurosci Biobehav Rev.* 1991. Vol. 15, no. 3. P. 407–414. doi: 10.1016/S0149-7634(05)80033-8
- Diotel N., Do Rego J. L., Anglade I., Vaillant C., Pellegrini E., Gueguen M. M., Mironov S., Vaudry H., Kah O.* Activity and expression of steroidogenic enzymes in the brain of adult zebrafish // *Eur J Neurosci.* 2011. Vol. 34, no. 1. P. 45–56. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07731.x
- Dubrovsky B. O.* Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry.* 2005. Vol. 29, no. 2. P. 169–192. doi: 10.1016/j.pnpbp.2004.11.001
- Ducouret B.* Cloning of a teleost fish glucocorticoid receptor shows that it contains a deoxyribonucleic acid-binding domain different from that of mammals // *Endocrinol.* 1995. Vol. 136, no. 9. P. 3774–3783. doi: 10.1210/en.136.9.3774
- Van Duyse E., Pinxten R., Eens M.* Does testosterone affect the trade-off between investment in sexual/territorial behaviour and parental care in male great tits? // *Behaviour.* 2000. Vol. 137, no. 11. P. 1503–1515. doi: 10.1163/156853900502691
- Falkenstein E., Tillmann H. C., Christ M., Feuring M., Wehling M.* Multiple actions of steroid hormones – a focus on rapid, nongenomic effects // *Pharmacol Rev.* 2000. Vol. 52, no. 4. P. 513–556.
- Farman N.* Molecular and cellular determinants of mineralocorticoid selectivity // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1999. Vol. 8, no. 1. P. 45–51.
- Flik G., Perry S. F.* Cortisol stimulates whole body calcium uptake and the branchial calcium pump in freshwater rainbow trout // *J Endocrinol.* 1989. Vol. 120, no. 1. P. 75–82. doi: 10.1677/joe.0.1200075
- Follesa P., Biggio F., Talani G., Murru L., Serra M., Sanna E., Biggio G.* Neurosteroids, GABAA receptors, and ethanol dependence // *Psychopharmacol (Berl).* 2006. Vol. 186, no. 3. P. 267–280. doi: 10.1007/s00213-005-0126-0
- Foskett J. K., Bern H. A., Machen T. E., Conner M.* Chloride cells and the hormonal control of teleost fish osmoregulation // *J Exp Biol.* 1983. Vol. 106. P. 255–281.
- Fuller P. J., Fuller P. J., Yao Y., Yang J., Young M. J.* Mechanisms of ligand specificity of the mineralocorticoid receptor // *J Endocrinol.* 2012. Vol. 213, no. 1. P. 15–24. doi: 10.1530/JOE-11-0372
- Funder J., Pearce P. T., Smith R., Smith A. I.* Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated // *Sci.* 1988. Vol. 242, no. 4878. P. 583–585. doi: 10.1126/science.2845584
- Geering K.* Functional roles of Na, K-ATPase subunits // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008. Vol. 17, no. 5. P. 526–532. doi: 10.1097/MNH.0b013e3283036cbf
- Gettler L. T., McDade T. W., Feranil A. B., Kuza-wa C. W.* Longitudinal evidence that fatherhood decreases testosterone in human males // *Proc Natl Acad Sci.* 2011. Vol. 108, no. 39. P. 16194–16199. doi: 10.1073/pnas.1105403108
- Gilmour K. M.* Mineralocorticoid receptors and hormones: fishing for answers // *Endocrinol.* 2005. Vol. 146, no. 1. P. 44–46. doi: 10.1210/en.2004-1390
- Glasauer S. M. K., Neuhauss S. C. F.* Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences // *Mol Genet Genomics.* 2014. Vol. 289, no. 6. P. 1045–1060. doi: 10.1007/s00438-014-0889-2
- Greenwood A. K., Butler P. C., White R. B., DeMarco U., Pearce D., Fernald R. D.* Multiple corticosteroid receptors in a teleost fish: distinct sequences, expression patterns, and transcriptional activities // *Endocrinol.* 2003. Vol. 144, no. 10. P. 4226–4236. doi: 10.1210/en.2003-0566
- Guillemin R., Rosenberg B.* Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures // *Endocrinol.* 1955. Vol. 57, no. 5. P. 599–607. doi: 10.1210/endo-57-5-599
- Hammes A., Andreassen T. K., Spoelgen R., Raila J., Hubner N., Schulz H., Metzger J., Schweigert F. J., Luppa P. B., Nykjaer A., Willnow T. E.* Role of endocytosis in cellular uptake of sex steroids // *Cell.* 2005. Vol. 122, no. 5. P. 751–762. doi: 10.1016/j.cell.2005.06.032
- Hammes S. R., Davis P. J.* Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015. Vol. 29, no. 4. P. 581–593. doi: 10.1016/j.beem.2015.04.001
- Hammes S. R., Levin E. R.* Extranuclear steroid receptors: nature and actions // *Endocr. Rev.* 2007. Vol. 28, no. 7. P. 726–741. doi: 10.1210/er.2007-0022
- Harris G. W.* Neural control of the pituitary gland // *Physiol Rev.* 1948. Vol. 28, no. 2. P. 139–179. doi: 10.1152/physrev.1948.28.2.139
- Harris G. W.* Humours and hormones // *J Endocrinol.* 1972. Vol. 53, no. 2. P. 2–23.
- Hsu H.-J., Hsu N. C., Hu M. C., Chung B. C.* Steroidogenesis in zebrafish and mouse models // *Mol Cell Endocrinol.* 2006. Vol. 248, no. 1–2. P. 160–163. doi: 10.1016/j.mce.2005.10.011
- Huang X., Warren J. T., Gilbert L. I.* New players in the regulation of ecdysone biosynthesis // *J Genet Genomics.* 2008. Vol. 35, no. 1. P. 1–10. doi: 10.1016/S1673-8527(08)60001-6
- Hughes A. L.* The evolution of functionally novel proteins after gene duplication // *Proc R Soc B Biol Sci.* 1994. Vol. 256, no. 1346. P. 119–124. doi: 10.1098/rspb.1994.0058
- Jiang C.-L., Liu L., Tasker J. G.* Why do we need nongenomic glucocorticoid mechanisms? // *Front Neuroendocrinol.* 2014. Vol. 35, no. 1. P. 72–75. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.09.005
- Jiang J., Young G., Kobayashi T., Nagahama Y.* Eel (*Anguilla japonica*) testis 11 β -hydroxylase gene is expressed in interrenal tissue and its product lacks

- aldosterone synthesizing activity // *Mol Cell Endocrinol.* 1998. Vol. 146, no. 1–2. P. 207–211. doi: 10.1016/S0303-7207(98)00147-6
- Joss J. M. P., Arnold-Reed D. E., Balment R. J. The steroidogenic response to angiotensin II in the Australian lungfish, *Neoceratodus forsteri* // *J Comp Physiol B.* 1994. Vol. 164, no. 5. P. 378–382. doi: 10.1007/BF00302553
- Judd S. Na⁺/K⁺-ATPase isoform regulation in three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) during salinity acclimation // A Thesis Degree Master Sci. 2012. 91 p.
- Kime D. E. «Classical» and «non-classical» reproductive steroids in fish // *Rev Fish Biol Fish.* 1993. Vol. 3, no. 2. P. 160–180. doi: 10.1007/BF00045230
- Knapp R., Wingfield J. C., Bass A. H. Steroid hormones and paternal care in the plainfin midshipman fish (*Porichthys notatus*) // *Horm Behav.* 1999. Vol. 35, no. 1. P. 81–89. doi: 10.1006/hbeh.1998.1499
- Krozowski Z. S., Funder J. W. Renal mineralocorticoid receptors and hippocampal corticosterone-binding species have identical intrinsic steroid specificity // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1983. Vol. 80, no. 19. P. 6056–6060.
- Kumai Y., Nesan D., Vijayan M. M., Perry S. F. Cortisol regulates Na⁺ uptake in zebrafish, *Danio rerio*, larvae via the glucocorticoid receptor // *Mol Cell Endocrinol.* 2012. Vol. 364, no. 1–2. P. 113–125. doi: 10.1016/j.mce.2012.08.017
- Laurent P., Perry S. F. Effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in the freshwater trout, *Salmo gairdneri* // *Cell Tissue Res.* 1990. Vol. 259, no. 3. P. 429–442. doi: 10.1007/BF01740769
- Levi L., Pekarski I., Gutman E., Fortina P., Hyslop T., Biran J., Levavi-Sivan B., Lubzens E. Revealing genes associated with vitellogenesis in the liver of the zebrafish (*Danio rerio*) by transcriptome profiling // *BMC Genomics.* 2009. Vol. 10, no. 1. P. 141. doi: 10.1186/1471-2164-10-141
- Liley N. R., Stacey N. E. Hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish // *Fish Physiology: Reproduction: behavior and fertility control* / Eds. W. S. Hoar, D. J. Randall, E. M. Donaldson. New York: Academic Press, 1983. P. 1–63. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60301-5
- Liu C., Zhang X., Deng J., Hecker M., Al-Khedhairy A., Giesy J. P., Zhou B. Effects of prochloraz or propylthiouracil on the cross-talk between the HPG, HPA, and HPT axes in zebrafish // *Environ Sci Technol.* 2011. Vol. 45, no. 2. P. 769–775. doi: 10.1021/es102659p
- Liu S., Xu X. R., Qi Z. H., Chen H., Hao Q. W., Hu Y. X., Zhao J. L., Ying G. G. Steroid bioaccumulation profiles in typical freshwater aquaculture environments of South China and their human health risks via fish consumption // *Environ Pollut.* 2017. Vol. 228. P. 72–81. doi: 10.1016/j.envpol.2017.05.031
- Löhr H., Hammerschmidt M. Zebrafish in endocrine systems: recent advances and implications for human disease // *Annu Rev Physiol.* 2011. Vol. 73. P. 183–211. doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142320
- Lokman P. M., Harris B., Kusakabe M., Kime D. E., Schulz R. W., Adachi S., Young G. 11-Oxygenated androgens in female teleosts: prevalence, abundance, and life history implications // *Gen Comp Endocrinol.* 2002. Vol. 129, no. 1. P. 1–12. doi: 10.1016/S0016-6480(02)00562-2
- Luu-The V. Assessment of steroidogenesis and steroidogenic enzyme functions // *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013. Vol. 137. P. 176–182. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.05.017
- Luu-The V., Labrie F. The intracrine sex steroid biosynthesis pathways // *Neuroendocrinology: The Normal Neuroendocrine System* / Eds. L. Martini, G. Chrousos, F. Labrie, K. Pacak, D. W. Pfaff. Amsterdam: Elsevier, 2010. P. 177–192. doi: 10.1016/S0079-6123(08)81010-2
- Madsen S. S., Kiillerich P., Tipsmark C. K. Multiplicity of expression of Na⁺/K⁺-ATPase -subunit isoforms in the gill of Atlantic salmon (*Salmo salar*): cellular localization and absolute quantification in response to salinity change // *J Exp Biol.* 2009. Vol. 212, no. 1. P. 78–88. doi: 10.1242/jeb.024612
- Maglich J. M. The first completed genome sequence from a teleost fish (*Fugu rubripes*) adds significant diversity to the nuclear receptor superfamily // *Nucleic Acids Res.* 2003. Vol. 31, no. 14. P. 4051–4058. doi: 10.1093/nar/gkg444
- Margiotta-Casaluci L., Courant F., Antignac J. P., Le Bizec B., Sumpter J. P. Identification and quantification of 5 α -dihydrotestosterone in the teleost fathead minnow (*Pimephales promelas*) by gas chromatography – tandem mass spectrometry // *Gen Comp Endocrinol.* 2013. Vol. 191. P. 202–209. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.017
- Margiotta-Casaluci L., Sumpter J. P. 5 α -Dihydrotestosterone is a potent androgen in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) // *Gen Comp Endocrinol.* 2011. Vol. 171, no. 3. P. 309–318. doi: 10.1016/j.ygcen.2011.02.012
- Martyniuk C. J., Bissegger S., Langlois V. S. Current perspectives on the androgen 5 α -dihydrotestosterone (DHT) and 5 α -reductases in teleost fishes and amphibians // *Gen Comp Endocrinol.* 2013. Vol. 194. P. 264–274. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.09.019
- Marx C. E., Bradford D. W., Hamer R. M., Naylor J. C., Allen T. B., Lieberman J. A., Strauss J. L., Kilts J. D. Pregnenolone as a novel therapeutic candidate in schizophrenia: emerging preclinical and clinical evidence // *Neurosci.* 2011. Vol. 191. P. 78–90. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.06.076
- McCormick S. D. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish // *Am Zool.* 2001. Vol. 41, no. 4. P. 781–794. doi: 10.1668/0003-1569(2001)041[0781:ECOOIT]2.0.CO;2
- McCormick S. D., Regish A., O’Dea M. F., Shrimpton J. M. Are we missing a mineralocorticoid in teleost fish? Effects of cortisol, deoxycorticosterone and aldosterone on osmoregulation, gill Na⁺/K⁺-ATPase activity and isoform mRNA levels in Atlantic salmon // *Gen Comp Endocrinol.* 2008. Vol. 157, no. 1. P. 35–40. doi: 10.1016/j.ygcen.2008.03.024
- Mensah-Nyagan A. G., Saredi S., Schaeffer V., Kibaly C., Meyer L., Melcangi R. C., Patte-Mensah C. Assessment of neuroactive steroid formation in diabetic rat spinal cord using high-performance liquid chromatography and continuous flow scintillation detection // *Neurochem Int.* 2008. Vol. 52, no. 4–5. P. 554–559. doi: 10.1016/j.neuint.2007.06.010

- Meyer A., Van de Peer Y. From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD) // *BioEssays*. 2005. Vol. 27, no. 9. P. 937–945. doi: 10.1002/bies. 20293
- Miller W. L. Steroid hormone synthesis in mitochondria // *Mol Cell Endocrinol*. 2013. Vol. 379, no. 1–2. P. 62–73. doi: 10.1016/j.mce.2013.04.014
- Miller W. L., Auchus R. J. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders // *Endocr Rev*. 2011. Vol. 32, no. 1. P. 81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013
- Miller W. L., Bose H. S. Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking: Thematic Review Series: Genetics of Human Lipid Diseases // *J Lipid Res*. 2011. Vol. 52, no. 12. P. 2111–2135. doi: 10.1194/jlr.R016675
- Mindnich R., Haller F., Halbach F., Moeller G., Hrabě de Angelis M., Adamski J. Androgen metabolism via 17-hydroxysteroid dehydrogenase type 3 in mammalian and non-mammalian vertebrates: comparison of the human and the zebrafish enzyme // *J Mol Endocrinol*. 2005. Vol. 35, no. 2. P. 305–316. doi: 10.1677/jme.1.01853
- Moeller G., Adamski J. Integrated view on 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases // *Mol Cell Endocrinol*. 2009. Vol. 301, no. 1–2. P. 7–19. doi: 10.1016/j.mce.2008.10.040
- Mommsen T. P., Vijayan M. M., Moon T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation // *Rev Fish Biol Fish*. 1999. Vol. 9, no. 3. P. 211–268.
- Mooradian A. D., Morley J. E., Korenman S. G. Biological Actions of Androgens // *Endocr Rev*. 1987. Vol. 8, no. 1. P. 1–28. doi: 10.1023/A:1008924418720
- Moyes C. D., Schulte P. Ion and Water Balance // *Principles of Animal Physiology*. Edinburgh Gate: Pearson Education Limited, 2014. 2nd ed. P. 500–555.
- Müller J. Aldosterone: the minority hormone of the adrenal cortex // *Steroids*. 1995. Vol. 60, no. 1. P. 2–9. doi: 10.1016/0039-128X(94)00021-4
- Nagahama Y. Endocrine regulation of gametogenesis in fish // *Int J Dev Biol*. 1994. Vol. 38, no. 2. P. 217–229.
- Nagahama Y., Yamashita M. Regulation of oocyte maturation in fish // *Dev Growth Differ*. 2008. Vol. 50, Suppl 1. P. 195–219. doi: 10.1111/j.1440-169X.2008.01019.x
- Nematollahi M. A., van Pelt-Heerschap H., Atsma W., Komen J. High levels of corticosterone, and gene expression of star, cyp17a2, hsd3b, cyp21, hsd11b2 during acute stress in common carp with interrenal hyperplasia // *Gen Comp Endocrinol*. 2012. Vol. 176, no. 2. P. 252–258. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.01.023
- Norman A. W., Mizwicki M. T., Norman D. P. G. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model // *Nat Rev Drug Discov*. 2004. Vol. 3, no. 1. P. 27–41. doi: 10.1038/nrd1283
- Olsen R. W., Sapp D. W. Neuroactive steroid modulation of GABAA receptors // *Adv Biochem Psychopharmacol*. 1995. Vol. 48. P. 57–74.
- Olsson P.-E., Berg A. H., von Hofsten J., Grahn B., Hellqvist A., Larsson A., Karlsson J., Modig C., Borg B., Thomas P. Molecular cloning and characterization of a nuclear androgen receptor activated by 11-ketotestosterone // *Reprod Biol Endocrinol*. 2005. Vol. 3. P. 37. doi: 10.1186/1477-7827-3-37
- Oren I., Fleishman S. J., Kessel A., Ben-Tal N. Free diffusion of steroid hormones across biomembranes: a simplex search with implicit solvent model calculations // *Biophys J*. 2004. Vol. 87, no. 2. P. 768–779. doi: 10.1529/biophysj.103.035527
- Páll M. K., Mayer I., Borg B. Androgen and behavior in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. – Changes in 11-ketotestosterone levels during the nesting cycle // *Horm Behav*. 2002. Vol. 41, no. 4. P. 377–383. doi: 10.1006/hbeh.2002.1777
- Pankhurst N. W., Hilder P. I., Pankhurst P. M. Reproductive condition and behavior in relation to plasma levels of gonadal steroids in the spiny damselfish *Acanthochromis polyacanthus* // *Gen Comp Endocrinol*. 1999. Vol. 115, no. 1. P. 53–69. doi: 10.1006/gcen.1999.7285
- Paul S. M., Purdy R. H. Neuroactive steroids // *FASEB J*. 1992. Vol. 6, no. 6. P. 2311–2322. doi: 10.1096/fasebj.6.6.1347506
- Petersen L. H., Hala D., Carty D., Cantu M., Martinović D., Huggett D. B. Effects of progesterone and norethindrone on female fathead minnow (*Pimephales promelas*) steroidogenesis // *Environ Toxicol Chem*. 2015. Vol. 34, no. 2. P. 379–390. doi: 10.1002/etc.2816
- Pickford G. E., Pang P. K. T., Weinstein E., Torretti J., Hendler E., Epstein F. H. The response of the hypophysectomized cyprinodont, *Fundulus heteroclitus*, to replacement therapy with cortisol: Effects on blood serum and sodium-potassium activated adenosine triphosphatase in the gills, kidney, and intestinal mucosa // *Gen Comp Endocrinol*. 1970. Vol. 14, no. 3. P. 524–534. doi: 10.1016/0016-6480(70)90036-5
- Pippal J. B., Cheung C. M., Yao Y. Z., Brennan F. E., Fuller P. J. Characterization of the zebrafish (*Danio rerio*) mineralocorticoid receptor // *Mol Cell Endocrinol*. 2011. Vol. 332, no. 1–2. P. 58–66. doi: 10.1016/j.mce.2010.09.014
- Pittman K., Yúfera M., Pavlidis M., Geffen A. J., Koven W., Ribeiro L., Zambonino-Infante J. L., Tandler A. Fantastically plastic: fish larvae equipped for a new world // *Rev Aquac*. 2013. Vol. 5. P. 224–267. doi: 10.1111/raq.12034
- Prunet P., Sturm A., Milla S. Multiple corticosteroid receptors in fish: From old ideas to new concepts // *Gen Comp Endocrinol*. 2006. Vol. 147, no. 1. P. 17–23. doi: 10.1016/j.ygcen.2006.01.015
- Raisman G. An urge to explain the incomprehensible: Geoffrey Harris and the discovery of the neural control of the pituitary gland // *Annu Rev Neurosci*. 1997. Vol. 20, no. 1. P. 533–566. doi: 10.1146/annurev.neuro.20.1.533
- De Renzi G., Bornancin M. Ion transport and gill ATPases // *Gills: Ion and Water Transfer* / Eds. W. S. Hoar, D. J. Randall. Orlando: Academic Press, Inc. 1984. P. 65–104. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60182-X
- Reul J. M. H. M., Gesing A., Droste S., Stec I. S. M., Weber A., Bachmann C., Bilanz-Bleuel A., Holsboer F., Linthorst A. C. E. The brain mineralocorticoid receptor: greedy for ligand, mysterious in function // *Eur J*

- Pharmacol. 2000. Vol. 405, no. 1–3. P. 235–249. doi: 10.1016/S0014-2999(00)00677-4
- Richards J. G. Na⁺/K⁺-ATPase-isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer // J Exp Biol. 2003. Vol. 206, no. 24. P. 4475–4486. doi: 10.1242/jeb.00701
- Rosner W. Sex steroids and the free hormone hypothesis // Cell. 2006. Vol. 124, no. 3. P. 455–456. doi: 10.1016/j.cell.2006.01.026
- Rossier B. C., Baker M. E., Studer R. A. Epithelial sodium transport and its control by aldosterone: the story of our internal environment revisited // Physiol. Rev. 2015. Vol. 95, no. 1. P. 297–340. doi: 10.1152/physrev.00011.2014
- Rossier N. M., Chew G., Zhang K., Riva F., Fent K. Activity of binary mixtures of drospirenone with progesterone and 17 α -ethinylestradiol *in vitro* and *in vivo* // Aquat. Toxicol. 2016. Vol. 174. P. 109–122. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.02.005
- Rove K. O., Crawford E. D., Perachino M., Morote J., Klotz L., Lange P. H., Andriole G. L., Matsumoto A. M., Taneja S. S., Eisenberger M. A., Reis L. O. Maximal testosterone suppression in prostate cancer – free vs total testosterone // Urology. 2014. Vol. 83, no. 6. P. 1217–1222. doi: 10.1016/j.urology.2014.02.001
- Schally A. V., Arimura A., Kastin A. J., Matsuo H., Baba Y., Redding T. W., Nair R. M. G., Debeljuk L., White W. F. Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones // Sci. 1971. Vol. 173, no. 4001. P. 1036–1038. doi: 10.1126/science.173.4001.1036
- Schiffer L., Anderko S., Hannemann F., Eiden-Plach A., Bernhardt R. The CYP11B subfamily // J Steroid Biochem Mol Biol. 2015. Vol. 151. P. 38–51. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.10.011
- Schiller C. E., Schmidt P. J., Rubinow D. R. Allopregnanolone as a mediator of affective switching in reproductive mood disorders // Psychopharmacol (Berl). 2014. Vol. 231, no. 17. P. 3557–3567. doi: 10.1007/s00213-014-3599-x
- Scholz S., Mayer I. Molecular biomarkers of endocrine disruption in small model fish // Mol Cell Endocrinol. 2008. Vol. 293, no. 1–2. P. 57–70. doi: 10.1016/j.mce.2008.06.008
- Shen W.-J., Azhar S., Kraemer F. B. Lipid droplets and steroidogenic cells // Exp Cell Res. 2016. Vol. 340, no. 2. P. 209–214. doi: 10.1016/j.yexcr.2015.11.024
- Stein L. R., Trapp R. M., Bell A. M. Do reproduction and parenting influence personality traits? Insights from threespine stickleback // Anim Behav. 2016. Vol. 112. P. 247–254. doi: 10.1016/j.anbehav.2015.12.002
- Stoffel-Wagner B. Neurosteroid metabolism in the human brain // Eur J Endocrinol. 2001. Vol. 145, no. 6. P. 669–679. doi: 10.1530/eje.0.1450669
- Stolte E. H., de Mazon A. F., Leon-Koosterziel K. M., Jesiak M., Bury N. R., Sturm A., Savelkoul H. F., Verburg van Kemenade B. M. L., Flik G. Corticosteroid receptors involved in stress regulation in common carp, *Cyprinus carpio* // J Endocrinol. 2008. Vol. 198, no. 2. P. 403–417. doi: 10.1677/JOE-08-0100
- Strous R. D., Maayan R., Weizman A. The relevance of neurosteroids to clinical psychiatry: from the laboratory to the bedside // Eur Neuropsychopharmacol. 2006. Vol. 16, no. 3. P. 155–169. doi: 10.1016/j.euroneuro.2005.09.005
- Sturm A., Bury N., Dengreville L., Fagart J., Flouriot G., Rafestin-Oblin M. E., Prunet P. 11-Deoxycorticosterone is a potent agonist of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) mineralocorticoid receptor // Endocrinology. 2005. Vol. 146, no. 1. P. 47–55. doi: 10.1210/en.2004-0128
- Takahashi H., Sakamoto T. The role of 'mineralocorticoids' in teleost fish: Relative importance of glucocorticoid signaling in the osmoregulation and 'central' actions of mineralocorticoid receptor // Gen Comp Endocrinol. 2013. Vol. 181. P. 223–228. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.11.016
- Tarkowská D., Strnad M. Plant ecdysteroids: plant sterols with intriguing distributions, biological effects and relations to plant hormones // Planta. 2016. Vol. 244, no. 3. P. 545–555. doi: 10.1007/s00425-016-2561-z
- Taylor J. S., Braasch I., Frickey T., Meyer A., Van de Peer Y. Genome duplication, a trait shared by 22000 species of ray-finned fish // Genome Res. 2003. Vol. 13, no. 3. P. 382–390. doi: 10.1101/gr.640303
- Thomas P. Rapid steroid hormone actions initiated at the cell surface and the receptors that mediate them with an emphasis on recent progress in fish models // Gen Comp Endocrinol. 2012. Vol. 175, no. 3. P. 367–383. doi: 10.1016/j.ygcen.2011.11.032
- Tipsmark C. K., Breves J. P., Seale A. P., Lerner D. T., Hirano T., Grau E. G. Switching of Na⁺, K⁺-ATPase isoforms by salinity and prolactin in the gill of a cichlid fish // J Endocrinol. 2011. Vol. 209, no. 2. P. 237–244. doi: 10.1530/JOE-10-0495
- Tokarz J., Norton W., Möller G., Hrabé de Angelis M., Adamski J. Zebrafish 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is important for glucocorticoid catabolism in stress response // PLoS One. 2013a. Vol. 8, no. 1. P. e54851. doi: 10.1371/journal.pone.0054851
- Tokarz J., Möller G., Hrabé de Angelis M., Adamski J. Zebrafish and steroids: what do we know and what do we need to know? // J Steroid Biochem Mol Biol. 2013b. Vol. 137. P. 165–173. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.01.003
- Tokarz J., Möller G., Hrabé de Angelis M., Adamski J. Steroids in teleost fishes: A functional point of view // Steroids. 2015. Vol. 103. P. 123–144. doi: 10.1016/j.steroids.2015.06.011
- Ubuka T., Parhar I. Dual actions of mammalian and piscine gonadotropin-inhibitory hormones, RFamide-related peptides and LPXRFamide peptides, in the hypothalamic-pituitary – gonadal axis // Front Endocrinol (Lausanne). 2018. Vol. 8. P. 377. doi: 10.3389/fendo.2017.00377
- Veillette P. A., Sundell K., Specker J. L. Cortisol mediates the increase in intestinal fluid absorption in Atlantic salmon during parr-smolt transformation // Gen Comp Endocrinol. 1995. Vol. 97, no. 2. P. 250–258. doi: 10.1006/gcen.1995.1024
- Viero C., Dayanithi G. Neurosteroids are excitatory in supraoptic neurons but inhibitory in the peripheral nervous system: it is all about oxytocin and progesterone receptors // Prog Brain Res. 2008. Vol. 170. P. 177–192. doi: 10.1016/S0079-6123(08)00416-0
- Vos J. G., Dybing E., Greim H. A., Ladefoged O., Lambré C., Tarazona J. V., Brandt I., Vethaak A. D.

Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation // *Crit Rev Toxicol*. 2000. Vol. 30, no. 1. P. 71–133. doi: 10.1080/10408440091159176

de Waal P. P., Wang D. S., Nijenhuis W. A., Schulz R. W., Bogerd J. Functional characterization and expression analysis of the androgen receptor in zebrafish (*Danio rerio*) testis // *Reproduction*. 2008. Vol. 136, no. 2. P. 225–234. doi: 10.1530/REP-08-0055

Wehling M. Looking beyond the dogma of genomic steroid action: insights and facts of the 1990s // *J Mol Med (Berl)*. 1995. Vol. 73, no. 9. P. 439–447. doi: 10.1007/BF00202262

Willnow T. E., Nykjaer A. Response: Cellular Uptake of Sex Steroid Hormones // *Cell*. 2006. Vol. 124, no. 3. P. 456–457. doi: 10.1016/j.cell.2006.01.027

Wood C. M., Marshall W. S. Ion balance, acid-base regulation, and chloride cell function in the common

killifish, *Fundulus heteroclitus* – a euryhaline estuarine teleost // *Estuaries*. 1994. Vol. 17, no. 1. P. 34–52. doi: 10.2307/1352333

Woolston C. ‘Living fossil’ genome unlocked // *Nature*. 2013. Vol. 496, no. 7445. P. 283–283. doi: 10.1038/496283a

Yu X., Wu L., Xie L., Yang S., Charkraborty T., Shi H., Wang D., Zhou L. Characterization of two paralogous StAR genes in a teleost, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // *Mol Cell Endocrinol*. 2014. Vol. 392, no. 1–2. P. 152–162. doi: 10.1016/j.mce.2014.05.013

Zhang Y., Zhang S., Lu H., Zhang L., Zhang W. Genes encoding aromatases in teleosts: Evolution and expression regulation // *Gen Comp Endocrinol*. 2014. Vol. 205. P. 151–158. doi: 10.1016/j.ygcen.2014.05.008

Поступила в редакцию 12.02.2018

References

Adams J. S. “Bound” to work: the free hormone hypothesis revisited. *Cell*. 2005. Vol. 122, no. 5. P. 647–649. doi: 10.1016/j.cell.2005.08.024

Alsop D., Vijayan M. The zebrafish stress axis: Molecular fallout from the teleost-specific genome duplication event. *Gen Comp Endocrinol*. 2009. Vol. 161, no. 1. P. 62–66. doi: 10.1016/j.ygcen.2008.09.011

Arterbery A. S., Deitcher D. L., Bass A. H. Corticosteroid receptor expression in a teleost fish that displays alternative male reproductive tactics. *Gen Comp Endocrinol*. 2010. Vol. 165, no. 1. P. 83–90. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.06.004

Baker M. E. Evolution of glucocorticoid and mineralocorticoid responses: go fish. *Endocrinol*. 2003. Vol. 144, no. 10. P. 4223–4225. doi: 10.1210/en.2003-0843

Baker M. E., Katsu Y. 30 years of the mineralocorticoid receptor: Evolution of the mineralocorticoid receptor: sequence, structure and function. *J Endocrinol*. 2017. Vol. 234, no. 1. P. T1 – T16. doi: 10.1530/JOE-16-0661

Beitel S. C., Doering J. A., Patterson S. E., Heckler M. Assessment of the sensitivity of three North American fish species to disruptors of steroidogenesis using in vitro tissue explants. *Aquat Toxicol*. 2014. Vol. 152. P. 273–283. doi: 10.1016/j.aquatox.2014.04.013

Bern H. A. Hormones and endocrine glands of fishes. Studies of fish endocrinology reveal major physiologic and evolutionary problems. *Sci*. 1967. Vol. 158, no. 3800. P. 455–462.

Bern H. A., Madsen S. S. A selective survey of the endocrine system of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with emphasis on the hormonal regulation of ion balance. *Aquaculture*. 1992. Vol. 100, no. 1–3. P. 237–262. doi: 10.1016/0044-8486(92)90384-W

Bernier N. J., Flik G., Klaren P. H. M. Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes. *Fish Physiology: Fish Neuroendocrinology*. London: Academic Press, 2009. P. 235–311. doi: 10.1016/S1546-5098(09)28006-X

Björkblom C., Högfors E., Salste L., Bergelin E., Olsson P. E., Katsiadaki I., Wiklund T. Estrogenic and androgenic effects of municipal wastewater effluent on reproductive endpoint biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Environ Toxicol Chem*. 2009. Vol. 28, no. 5. P. 1063–1071. doi: 10.1897/08-337.1

Bobbe J., Guiguen Y., Fostier A. Diversity and biological significance of sex hormone-binding globulin in fish, an evolutionary perspective. *Mol Cell Endocrinol*. 2010. Vol. 316, no. 1. P. 66–78. doi: 10.1016/j.mce.2009.09.017

Borg B. Androgens in teleost fishes. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*. 1994. Vol. 109, no. 3. P. 219–245. doi: 10.1016/0742-8413(94)00063-G

Bose M., Whittal R. M., Miller W. L., Bose H. S. Steroidogenic activity of StAR requires contact with mitochondrial VDAC1 and phosphate carrier protein. *J Biol Chem*. 2008. Vol. 283, no. 14. P. 8837–8845. doi: 10.1074/jbc.M709221200

Brann D. W., Hendry L. B., Mahesh V. B. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1995. Vol. 52, no. 2. P. 113–133. doi: 10.1016/0960-0760(94)00160-N

Bridgham J. T. Evolution of hormone-receptor complexity by molecular exploitation. *Sci*. 2006. Vol. 312, no. 5770. P. 97–101. doi: 10.1126/science.1123348

Busby E. R., Roch G. J., Sherwood N. M. Endocrinology of zebrafish: a small fish with a large gene pool. *Fish Physiology: Zebrafish*. Amsterdam: Academic Press, 2010. P. 173–247. doi: 10.1016/S1546-5098(10)02905-5

Bystriansky J. S., Frick N. T., Richards J. G., Schulte P. M., Ballantyne J. S. Failure to up-regulate gill Na⁺,K⁺-ATPase α -subunit isoform α 1b may limit seawater tolerance of land-locked Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2007. Vol. 148, no. 2. P. 332–338. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.05.007

Carta M. G., Bhat K. M., Preti A. GABAergic neuroactive steroids: a new frontier in bipolar disorders? *Behav Brain Funct*. 2012. Vol. 8. P. 61. doi: 10.1186/1744-9081-8-61

- Chaby L. E. Why are there lasting effects from exposure to stress during development? An analysis of current models of early stress. *Physiol Behav.* 2016. Vol. 164 (A). P. 164–181. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.05.032
- Chai C., Liu Y., Chan W.-K. Ff1b is required for the development of steroidogenic component of the zebrafish interrenal organ. *Dev Biol.* 2003. Vol. 260, no. 1. P. 226–244. doi: 10.1016/S0012-1606(03)00219-7
- Chun R. F., Peercy B. E., Orwoll E. S., Nielson C. M., Adams J. S., Hewison M. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014. Vol. 144 (A). P. 132–137. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.012
- Chung B. C., Matteson K. J., Voutilainen R., Mohandas T. K., Miller W. L. Human cholesterol side-chain cleavage enzyme, P450scc: cDNA cloning, assignment of the gene to chromosome 15, and expression in the placenta. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986. Vol. 83, no. 23. P. 8962–8966.
- Chung B. C., Guo I. C., Chou S. J. Transcriptional regulation of the CYP11A1 and ferredoxin genes. *Steroids.* 1997. Vol. 62, no. 1. P. 37–42. doi: 10.1016/S0039-128X(96)00156-0
- Civinini A., Gallo V. P. Degeneration and possible renewal processes related to the interrenal cells in the head kidney of the stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Tissue Cell.* 2007. Vol. 39, no. 2. P. 109–122. doi: 10.1016/j.tice.2007.02.002
- Clark A. J., Block K. The absence of sterol synthesis in insects. *J Biol Chem.* 1959. Vol. 234. P. 2578–2582.
- Clelland E., Peng C. Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development. *Mol Cell Endocrinol.* 2009. Vol. 312, no. 1–2. P. 42–52. doi: 10.1016/j.mce.2009.04.009
- Collomp K., Baillot A., Forget H., Coquerel A., Rieth N., Vibarel-Rebot N. Altered diurnal pattern of steroid hormones in relation to various behaviors, external factors and pathologies: A review. *Physiol Behav.* 2016. Vol. 164 (A). P. 68–85. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.05.039
- Conant G. C., Wolfe K. H. Turning a hobby into a job: How duplicated genes find new functions. *Nat Rev Genet.* 2008. Vol. 9, no. 12. P. 938–950. doi: 10.1038/nrg2482
- Cooke B. A., van der Molen H. J., King R. J. B. (eds.) Hormones and their Actions. Amsterdam: Elsevier, 1988. 290 p.
- Delville Y. Progesterone-facilitated sexual receptivity: a review of arguments supporting a nongenomic mechanism. *Neurosci Biobehav Rev.* 1991. Vol. 15, no. 3. P. 407–414. doi: 10.1016/S0149-7634(05)80033-8
- Diotel N., Do Rego J. L., Anglade I., Vaillant C., Pellegrini E., Gueguen M. M., Mironov S., Vaudry H., Kah O. Activity and expression of steroidogenic enzymes in the brain of adult zebrafish. *Eur J Neurosci.* 2011. Vol. 34, no. 1. P. 45–56. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07731.x
- Dubrovsky B. O. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2005. Vol. 29, no. 2. P. 169–192. doi: 10.1016/j.pnpbp.2004.11.001
- Ducouret B. Cloning of a teleost fish glucocorticoid receptor shows that it contains a deoxyribonucleic acid-binding domain different from that of mammals. *Endocrinology.* 1995. Vol. 136, no. 9. P. 3774–3783. doi: 10.1210/en.136.9.3774
- Van Duyse E., Pinxten R., Eens M. Does testosterone affect the trade-off between investment in sexual/territorial behaviour and parental care in male great tits? *Behaviour.* 2000. Vol. 137, no. 11. P. 1503–1515. doi: 10.1163/156853900502691
- Falkenstein E., Tillmann H. C., Christ M., Feuring M., Wehling M. Multiple actions of steroid hormones – a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev.* 2000. Vol. 52, no. 4. P. 513–556.
- Farman N. Molecular and cellular determinants of mineralocorticoid selectivity. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1999. Vol. 8, no. 1. P. 45–51.
- Flik G., Perry S. F. Cortisol stimulates whole body calcium uptake and the branchial calcium pump in freshwater rainbow trout. *J Endocrinol.* 1989. Vol. 120, no. 1. P. 75–82. doi: 10.1677/joe.0.1200075
- Follesa P., Biggio F., Talani G., Murru L., Serra M., Sanna E., Biggio G. Neurosteroids, GABAA receptors, and ethanol dependence. *Psychopharmacol (Berl).* 2006. Vol. 186, no. 3. P. 267–280. doi: 10.1007/s00213-005-0126-0
- Foskett J. K., Bern H. A., Machen T. E., Conner M. Chloride cells and the hormonal control of teleost fish osmoregulation. *J Exp Biol.* 1983. Vol. 106. P. 255–281.
- Fuller P. J., Fuller P. J., Yao Y., Yang J., Young M. J. Mechanisms of ligand specificity of the mineralocorticoid receptor. *J Endocrinol.* 2012. Vol. 213, no. 1. P. 15–24. doi: 10.1530/JOE-11-0372
- Funder J., Pearce P. T., Smith R., Smith A. I. Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. *Sci.* 1988. Vol. 242, no. 4878. P. 583–585. doi: 10.1126/science.2845584
- Geering K. Functional roles of Na, K-ATPase subunits. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008. Vol. 17, no. 5. P. 526–532. doi: 10.1097/MNH.0b013e3283036cbf
- Gettler L. T., McDade T. W., Feranil A. B., Kuzawa C. W. Longitudinal evidence that fatherhood decreases testosterone in human males. *Proc Natl Acad Sci.* 2011. Vol. 108, no. 39. P. 16194–16199. doi: 10.1073/pnas.1105403108
- Gilmour K. M. Mineralocorticoid receptors and hormones: fishing for answers. *Endocrinology.* 2005. Vol. 146, no. 1. P. 44–46. doi: 10.1210/en.2004-1390
- Glasauer S. M. K., Neuhauss S. C. F. Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences. *Mol Genet Genomics.* 2014. Vol. 289, no. 6. P. 1045–1060. doi: 10.1007/s00438-014-0889-2
- Greenwood A. K., Butler P. C., White R. B., DeMarco U., Pearce D., Fernald R. D. Multiple corticosteroid receptors in a teleost fish: distinct sequences, expression patterns, and transcriptional activities. *Endocrinology.* 2003. Vol. 144, no. 10. P. 4226–4236. doi: 10.1210/en.2003-0566
- Guillemin R., Rosenberg B. Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures. *Endocrinology.* 1955. Vol. 57, no. 5. P. 599–607. doi: 10.1210/endo-57-5-599
- Hammes A., Andreassen T. K., Spoelgen R., Raila J., Hubner N., Schulz H., Metzger J., Schweigert F. J., Lippa P. B., Nykjaer A., Willnow T. E.

- Role of endocytosis in cellular uptake of sex steroids. *Cell*. 2005. Vol. 122, no. 5. P. 751–762. doi: 10.1016/j.cell.2005.06.032
- Hammes S. R., Davis P. J. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2015. Vol. 29, no. 4. P. 581–593. doi: 10.1016/j.beem.2015.04.001
- Hammes S. R., Levin E. R. Extranuclear steroid receptors: nature and actions. *Endocrinol Rev*. 2007. Vol. 28, no. 7. P. 726–741. doi: 10.1210/er.2007-0022
- Harris G. W. Neural control of the pituitary gland. *Physiol Rev*. 1948. Vol. 28, no. 2. P. 139–179. doi: 10.1152/physrev.1948.28.2.139
- Harris G. W. Humours and hormones. *J Endocrinol*. 1972. Vol. 53, no. 2. P. 2–23.
- Hsu H.-J., Hsu N. C., Hu M. C., Chung B. C. Steroidogenesis in zebrafish and mouse models. *Mol Cell Endocrinol*. 2006. Vol. 248, no. 1–2. P. 160–163. doi: 10.1016/j.mce.2005.10.011
- Huang X., Warren J. T., Gilbert L. I. New players in the regulation of ecdysone biosynthesis. *J Genet Genomics*. 2008. Vol. 35, no. 1. P. 1–10. doi: 10.1016/S1673-8527(08)60001-6
- Hughes A. L. The evolution of functionally novel proteins after gene duplication. *Proc R Soc B Biol Sci*. 1994. Vol. 256, no. 1346. P. 119–124. doi: 10.1098/rspb.1994.0058
- Jiang C.-L., Liu L., Tasker J. G. Why do we need nongenomic glucocorticoid mechanisms? *Front Neuroendocrinol*. 2014. Vol. 35, no. 1. P. 72–75. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.09.005
- Jiang J., Young G., Kobayashi T., Nagahama Y. Eel (*Anguilla japonica*) testis 11 β -hydroxylase gene is expressed in interrenal tissue and its product lacks aldosterone synthesizing activity *Mol Cell Endocrinol*. 1998. Vol. 146, no. 1–2. P. 207–211. doi: 10.1016/S0303-7207(98)00147-6
- Joss J. M. P., Arnold-Reed D. E., Balment R. J. The steroidogenic response to angiotensin II in the Australian lungfish, *Neoceratodus forsteri*. *J Comp Physiol B*. 1994. Vol. 164, no. 5. P. 378–382. doi: 10.1007/BF00302553
- Judd S. Na⁺/K⁺-ATPase isoform regulation in three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) during salinity acclimation. *A Thesis Degree Master Sci*. 2012. 91 p.
- Kime D. E. “Classical” and “non-classical” reproductive steroids in fish. *Rev Fish Biol Fish*. 1993. Vol. 3, no. 2. P. 160–180. doi: 10.1007/BF00045230
- Knapp R., Wingfield J. C., Bass A. H. Steroid hormones and paternal care in the plainfin midshipman fish (*Porichthys notatus*). *Horm Behav*. 1999. Vol. 35, no. 1. P. 81–89. doi: 10.1006/hbeh.1998.1499
- Krozowski Z. S., Funder J. W. Renal mineralocorticoid receptors and hippocampal corticosterone-binding species have identical intrinsic steroid specificity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983. Vol. 80, no. 19. P. 6056–6060.
- Kumai Y., Nesan D., Vijayan M. M., Perry S. F. Cortisol regulates Na⁺ uptake in zebrafish, *Danio rerio*, larvae via the glucocorticoid receptor. *Mol Cell Endocrinol*. 2012. Vol. 364, no. 1–2. P. 113–125. doi: 10.1016/j.mce.2012.08.017
- Laurent P., Perry S. F. Effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in the freshwater trout, *Salmo gairdneri*. *Cell Tissue Res*. 1990. Vol. 259, no. 3. P. 429–442. doi: 10.1007/BF01740769
- Levi L., Pekarski I., Gutman E., Fortina P., Hyslop T., Biran J., Levavi-Sivan B., Lubzens E. Revealing genes associated with vitellogenesis in the liver of the zebrafish (*Danio rerio*) by transcriptome profiling. *BMC Genomics*. 2009. Vol. 10, no. 1. 141 p. doi: 10.1186/1471-2164-10-141
- Liley N. R., Stacey N. E. Hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. *Fish Physiology: Reproduction: behavior and fertility control*. New York: Academic Press, 1983. P. 1–63. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60301-5
- Liu C., Zhang X., Deng J., Hecker M., Al-Khedhairy A., Giesy J. P., Zhou B. Effects of prochloraz or propylthiouracil on the cross-talk between the HPG, HPA, and HPT axes in zebrafish. *Environ Sci Technol*. 2011. Vol. 45, no. 2. P. 769–775. doi: 10.1021/es102659p
- Liu S., Xu X. R., Qi Z. H., Chen H., Hao Q. W., Hu Y. X., Zhao J. L., Ying G. G. Steroid bioaccumulation profiles in typical freshwater aquaculture environments of South China and their human health risks via fish consumption. *Environ Pollut*. 2017. Vol. 228. P. 72–81. doi: 10.1016/j.envpol.2017.05.031
- Löhr H., Hammerschmidt M. Zebrafish in endocrine systems: recent advances and implications for human disease. *Annu Rev Physiol*. 2011. Vol. 73. P. 183–211. doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142320
- Lokman P. M., Harris B., Kusakabe M., Kime D. E., Schulz R. W., Adachi S., Young G. 11-Oxygenated androgens in female teleosts: prevalence, abundance, and life history implications. *Gen Comp Endocrinol*. 2002. Vol. 129, no. 1. P. 1–12. doi: 10.1016/S0016-6480(02)00562-2
- Luu-The V. Assessment of steroidogenesis and steroidogenic enzyme functions. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013. Vol. 137. P. 176–182. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.05.017
- Luu-The V., Labrie F. The intracrine sex steroid biosynthesis pathways. *Neuroendocrinology: The Normal Neuroendocrine System*. Amsterdam: Elsevier, 2010. P. 177–192. doi: 10.1016/S0079-6123(08)81010-2
- Madsen S. S., Kiellerich P., Tipsmark C. K. Multiplicity of expression of Na⁺,K⁺-ATPase α -subunit isoforms in the gill of Atlantic salmon (*Salmo salar*): cellular localization and absolute quantification in response to salinity change. *J Exp Biol*. 2009. Vol. 212, no. 1. P. 78–88. doi: 10.1242/jeb.024612
- Maglich J. M. The first completed genome sequence from a teleost fish (*Fugu rubripes*) adds significant diversity to the nuclear receptor superfamily. *Nucleic Acids Res*. 2003. Vol. 31, no. 14. P. 4051–4058. doi: 10.1093/nar/gkg444
- Margiotta-Casaluci L., Courant F., Antignac J. P., Le Bizec B., Sumpter J. P. Identification and quantification of 5 α -dihydrotestosterone in the teleost fathead minnow (*Pimephales promelas*) by gas chromatography – tandem mass spectrometry. *Gen Comp Endocrinol*. 2013. Vol. 191. P. 202–209. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.017
- Margiotta-Casaluci L., Sumpter J. P. 5 α -Dihydrotestosterone is a potent androgen in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Gen Comp Endocri-*

- mol. 2011. Vol. 171, no. 3. P. 309–318. doi: 10.1016/j.ygcen.2011.02.012
- Martyniuk C. J., Bissegger S., Langlois V. S. Current perspectives on the androgen 5 alpha-dihydrotestosterone (DHT) and 5 alpha-reductases in teleost fishes and amphibians. *Gen Comp Endocrinol.* 2013. Vol. 194. P. 264–274. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.09.019
- Marx C. E., Bradford D. W., Hamer R. M., Naylor J. C., Allen T. B., Lieberman J. A., Strauss J. L., Kiltz J. D. Pregnenolone as a novel therapeutic candidate in schizophrenia: emerging preclinical and clinical evidence. *Neuroscience.* 2011. Vol. 191. P. 78–90. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.06.076
- McCormick S. D. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *Am Zool.* 2001. Vol. 41, no. 4. P. 781–794. doi: 10.1668/0003-1569(2001)041[0781:ECOOIT]2.0.CO;2
- McCormick S. D., Regish A., O'Dea M. F., Shrimpton J. M. Are we missing a mineralocorticoid in teleost fish? Effects of cortisol, deoxycorticosterone and aldosterone on osmoregulation, gill Na⁺,K⁺-ATPase activity and isoform mRNA levels in Atlantic salmon. *Gen Comp Endocrinol.* 2008. Vol. 157, no. 1. P. 35–40. doi: 10.1016/j.ygcen.2008.03.024
- Mensah-Nyagan A. G., Saredi S., Schaeffer V., Kibaly C., Meyer L., Melcangi R. C., Patte-Mensah C. Assessment of neuroactive steroid formation in diabetic rat spinal cord using high-performance liquid chromatography and continuous flow scintillation detection. *Neurochem Int.* 2008. Vol. 52, no. 4–5. P. 554–559. doi: 10.1016/j.neuint.2007.06.010
- Meyer A., Van de Peer Y. From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD). *BioEssays.* 2005. Vol. 27, no. 9. P. 937–945. doi: 10.1002/bies.20293
- Miller W. L. Steroid hormone synthesis in mitochondria. *Mol Cell Endocrinol.* 2013. Vol. 379, no. 1–2. P. 62–73. doi: 10.1016/j.mce.2013.04.014
- Miller W. L., Auchus R. J. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev.* 2011. Vol. 32, no. 1. P. 81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013
- Miller W. L., Bose H. S. Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking: Thematic Review Series: Genetics of Human Lipid Diseases. *J Lipid Res.* 2011. Vol. 52, no. 12. P. 2111–2135. doi: 10.1194/jlr.R016675
- Mindnich R., Haller F., Halbach F., Moeller G., Hrabé de Angelis M., Adamski J. Androgen metabolism via 17-hydroxysteroid dehydrogenase type 3 in mammalian and non-mammalian vertebrates: comparison of the human and the zebrafish enzyme. *J Mol Endocrinol.* 2005. Vol. 35, no. 2. P. 305–316. doi: 10.1677/jme.1.01853
- Moeller G., Adamski J. Integrated view on 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol.* 2009. Vol. 301, no. 1–2. P. 7–19. doi: 10.1016/j.mce.2008.10.040
- Mommsen T. P., Vijayan M. M., Moon T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fish.* 1999. Vol. 9, no. 3. P. 211–268.
- Mooradian A. D., Morley J. E., Korenman S. G. Biological Actions of Androgens. *Endocr Rev.* 1987. Vol. 8, no. 1. P. 1–28. doi: 10.1023/A:1008924418720
- Moyes C. D., Schulte P. Ion and Water Balance. *Principles of Animal Physiology.* Edinburgh Gate. Pearson Education Limited, 2014. 2nd ed. P. 500–555.
- Müller J. Aldosterone: the minority hormone of the adrenal cortex. *Steroids.* 1995. Vol. 60, no. 1. P. 2–9. doi: 10.1016/0039-128X(94)00021-4
- Nagahama Y. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int J Dev Biol.* 1994. Vol. 38, no. 2. P. 217–229.
- Nagahama Y., Yamashita M. Regulation of oocyte maturation in fish. *Dev. Growth Differ.* 2008. Vol. 50, Suppl 1. P. S195 – S219. doi: 10.1111/j.1440-169X.2008.01019.x
- Nematollahi M. A., van Pelt-Heerschap H., Atsma W., Komen J. High levels of corticosterone, and gene expression of star, cyp17a2, hsd3b, cyp21, hsd11b2 during acute stress in common carp with interrenal hyperplasia. *Gen Comp Endocrinol.* 2012. Vol. 176, no. 2. P. 252–258. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.01.023
- Norman A. W., Mizwicki M. T., Norman D. P. G. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nat Rev Drug Discov.* 2004. Vol. 3, no. 1. P. 27–41. doi: 10.1038/nrd1283
- Olsen R. W., Sapp D. W. Neuroactive steroid modulation of GABAA receptors. *Adv Biochem Psychopharmacol.* 1995. Vol. 48. P. 57–74.
- Olsson P.-E., Berg A. H., von Hofsten J., Grahn B., Hellqvist A., Larsson A., Karlsson J., Modig C., Borg B., Thomas P. Molecular cloning and characterization of a nuclear androgen receptor activated by 11-ketotestosterone. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005. Vol. 3. P. 37. doi: 10.1186/1477-7827-3-37
- Oren I., Fleishman S. J., Kessel A., Ben-Tal N. Free diffusion of steroid hormones across biomembranes: a simplex search with implicit solvent model calculations. *Biophys J.* 2004. Vol. 87, no. 2. P. 768–779. doi: 10.1529/biophysj.103.035527
- Páll M. K., Mayer I., Borg B. Androgen and behavior in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. – Changes in 11-ketotestosterone levels during the nesting cycle. *Horm Behav.* 2002. Vol. 41, no. 4. P. 377–383. doi: 10.1006/hbeh.2002.1777
- Pankhurst N. W., Hilder P. I., Pankhurst P. M. Reproductive condition and behavior in relation to plasma levels of gonadal steroids in the spiny damselfish *Acanthochromis polyacanthus*. *Gen Comp Endocrinol.* 1999. Vol. 115, no. 1. P. 53–69. doi: 10.1006/gcen.1999.7285
- Paul S. M., Purdy R. H. Neuroactive steroids. *FASEB J.* 1992. Vol. 6, no. 6. P. 2311–22. doi: 10.1096/fasebj.6.6.1347506
- Petersen L. H., Hala D., Carty D., Cantu M., Martinović D., Huggett D. B. Effects of progesterone and norethindrone on female fathead minnow (*Pimephales promelas*) steroidogenesis. *Environ Toxicol Chem.* 2015. Vol. 34, no. 2. P. 379–390. doi: 10.1002/etc.2816
- Pickford G. E., Pang P. K. T., Weinstein E., Torretti J., Hendler E., Epstein F. H. The response of the hypophysectomized cyprinodont, *Fundulus heteroclitus*, to replacement therapy with cortisol: Effects on blood serum and sodium-potassium activated adenosine triphosphatase in the gills, kidney, and intestinal mucosa. *Gen Comp Endocrinol.* 1970. Vol. 14, no. 3. P. 524–534. doi: 10.1016/0016-6480(70)90036-5

- Pippal J. B., Cheung C. M., Yao Y. Z., Brennan F. E., Fuller P. J. Characterization of the zebrafish (*Danio rerio*) mineralocorticoid receptor. *Mol Cell Endocrinol.* 2011. Vol. 332, no. 1–2. P. 58–66. doi: 10.1016/j.mce.2010.09.014
- Pittman K., Yúfera M., Pavlidis M., Geffen A. J., Koven W., Ribeiro L., Zambonino-Infante J. L., Tandler A. Fantastically plastic: fish larvae equipped for a new world. *Rev Aquac.* 2013. Vol. 5. P. 224–267. doi: 10.1111/raq.12034
- Prunet P., Sturm A., Milla S. Multiple corticosteroid receptors in fish: From old ideas to new concepts. *Gen Comp Endocrinol.* 2006. Vol. 147, no. 1. P. 17–23. doi: 10.1016/j.ygcen.2006.01.015
- Raisman G. An urge to explain the incomprehensible: Geoffrey Harris and the discovery of the neural control of the pituitary gland. *Annu Rev Neurosci.* 1997. Vol. 20, no. 1. P. 533–566. doi: 10.1146/annurev.neuro.20.1.533
- De Renzis G., Bornancin M. Ion transport and gill ATPases. *Gills: Ion and Water Transfer.* Orlando: Academic Press, Inc. 1984. P. 65–104. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60182-X
- Reul J. M. H. M., Gesing A., Droste S., Stec I. S. M., Weber A., Bachmann C., Bilanz-Bleuel A., Holsboer F., Linthorst A. C. E. The brain mineralocorticoid receptor: greedy for ligand, mysterious in function. *Eur J Pharmacol.* 2000. Vol. 405, no. 1–3. P. 235–249. doi: 10.1016/S0014-2999(00)00677-4
- Richards J. G. Na⁺/K⁺-ATPase-isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer. *J Exp Biol.* 2003. Vol. 206, no. 24. P. 4475–4486. doi: 10.1242/jeb.00701
- Rosner W. Sex steroids and the free hormone hypothesis. *Cell.* 2006. Vol. 124, no. 3. P. 455–456. doi: 10.1016/j.cell.2006.01.026
- Rossier B. C., Baker M. E., Studer R. A. Epithelial sodium transport and its control by aldosterone: the story of our internal environment revisited. *Physiol Rev.* 2015. Vol. 95, no. 1. P. 297–340. doi: 10.1152/physrev.00011.2014
- Rossier N. M., Chew G., Zhang K., Riva F., Fent K. Activity of binary mixtures of drospirenone with progesterone and 17 α -ethinylestradiol *in vitro* and *in vivo*. *Aquat Toxicol.* 2016. Vol. 174. P. 109–122. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.02.005
- Rove K. O., Crawford E. D., Perachino M., Morote J., Klotz L., Lange P. H., Andriole G. L., Matsmoto A. M., Taneja S. S., Eisenberger M. A., Reis L. O. Maximal testosterone suppression in prostate cancer-free vs total testosterone. *Urology.* 2014. Vol. 83, no. 6. P. 1217–1222. doi: 10.1016/j.urology.2014.02.001
- Schally A. V., Arimura A., Kastin A. J., Matsuo H., Baba Y., Redding T. W., Nair R. M. G., Debeljuk L., White W. F. Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Sci.* 1971. Vol. 173, no. 4001. P. 1036–1038. doi: 10.1126/science.173.4001.1036
- Schiffer L., Anderko S., Hannemann F., Eiden-Plach A., Bernhardt R. The CYP11B subfamily. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015. Vol. 151. P. 38–51. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.10.011
- Schiller C. E., Schmidt P. J., Rubinow D. R. Allopregnanolone as a mediator of affective switching in reproductive mood disorders. *Psychopharmacol (Berl).* 2014. Vol. 231, no. 17. P. 3557–3567. doi: 10.1007/s00213-014-3599-x
- Scholz S., Mayer I. Molecular biomarkers of endocrine disruption in small model fish. *Mol Cell Endocrinol.* 2008. Vol. 293, no. 1–2. P. 57–70. doi: 10.1016/j.mce.2008.06.008
- Shen W.-J., Azhar S., Kraemer F. B. Lipid droplets and steroidogenic cells. *Exp Cell Res.* 2016. Vol. 340, no. 2. P. 209–214. doi: 10.1016/j.yexcr.2015.11.024
- Stein L. R., Trapp R. M., Bell A. M. Do reproduction and parenting influence personality traits? Insights from threespine stickleback. *Anim Behav.* 2016. Vol. 112. P. 247–254. doi: 10.1016/j.anbehav.2015.12.002
- Stoffel-Wagner B. Neurosteroid metabolism in the human brain. *Eur J Endocrinol.* 2001. Vol. 145, no. 6. P. 669–679. doi: 10.1530/eje.0.1450669
- Stolte E. H., de Mazon A. F., Leon-Koosterziel K. M., Jesiak M., Bury N. R., Sturm A., Savelkoul H. F., Verburg van Kemenade B. M. L., Flik G. Corticosteroid receptors involved in stress regulation in common carp, *Cyprinus carpio*. *J Endocrinol.* 2008. Vol. 198, no. 2. P. 403–417. doi: 10.1677/JOE-08-0100
- Strous R. D., Maayan R., Weizman A. The relevance of neurosteroids to clinical psychiatry: from the laboratory to the bedside. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006. Vol. 16, no. 3. P. 155–169. doi: 10.1016/j.euroneuro.2005.09.005
- Sturm A., Bury N., Dengreville L., Fagart J., Flouriot G., Rafestin-Oblin M. E., Prunet P. 11-Deoxycorticosterone is a potent agonist of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) mineralocorticoid receptor. *Endocrinology.* 2005. Vol. 146, no. 1. P. 47–55. doi: 10.1210/en.2004-0128
- Takahashi H., Sakamoto T. The role of ‘mineralocorticoids’ in teleost fish: Relative importance of glucocorticoid signaling in the osmoregulation and ‘central’ actions of mineralocorticoid receptor. *Gen Comp Endocrinol.* 2013. Vol. 181. P. 223–228. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.11.016
- Tarkowská D., Strnad M. Plant ecdysteroids: plant sterols with intriguing distributions, biological effects and relations to plant hormones. *Planta.* 2016. Vol. 244, no. 3. P. 545–555. doi: 10.1007/s00425-016-2561-z
- Taylor J. S., Braasch I., Frickey T., Meyer A., Van de Peer Y. Genome duplication, a trait shared by 22000 species of ray-finned fish. *Genome Res.* 2003. Vol. 13, no. 3. P. 382–390. doi: 10.1101/gr.640303
- Thomas P. Rapid steroid hormone actions initiated at the cell surface and the receptors that mediate them with an emphasis on recent progress in fish models. *Gen Comp Endocrinol.* 2012. Vol. 175, no. 3. P. 367–383. doi: 10.1016/j.ygcen.2011.11.032
- Tipsmark C. K., Breves J. P., Seale A. P., Lerner D. T., Hirano T., Grau E. G. Switching of Na⁺, K⁺-ATPase isoforms by salinity and prolactin in the gill of a cichlid fish. *J Endocrinol.* 2011. Vol. 209, no. 2. P. 237–244. doi: 10.1530/JOE-10-0495
- Tokarz J., Norton W., Möller G., Hrabé de Angelis M., Adamski J. Zebrafish 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is important for glucocorticoid catabolism in stress response. *PLoS One.* 2013a. Vol. 8, no. 1. P. e54851. doi: 10.1371/journal.pone.0054851

Tokarz J., Möller G., Hrabé de Angelis M., Adam-ski J. Zebrafish and steroids: what do we know and what do we need to know? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013b. Vol. 137. P. 165–173. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.01.003

Tokarz J., Möller G., Hrabě de Angelis M., Adam-ski J. Steroids in teleost fishes: A functional point of view. *Steroids*. 2015. Vol. 103. P. 123–144. doi: 10.1016/j.steroids.2015.06.011

Ubuka T., Parhar I. Dual actions of mamma-lian and piscine gonadotropin-inhibitory hormones, RFamide-related peptides and LPXRFamide peptides, in the hypothalamic-pituitary – gonadal axis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018. Vol. 8. P. 377. doi: 10.3389/fendo.2017.00377

Veillette P. A., Sundell K., Specker J. L. Cortisol mediates the increase in intestinal fluid absorption in Atlantic salmon during parr-smolt transformation. *Gen Comp Endocrinol*. 1995. Vol. 97, no. 2. P. 250–258. doi: 10.1006/gcen.1995.1024

Viero C., Dayanithi G. Neurosteroids are excitatory in supraoptic neurons but inhibitory in the peripheral nervous system: it is all about oxytocin and progesterone receptors. *Prog Brain Res*. 2008. Vol. 170. P. 177–192. doi: 10.1016/S0079-6123(08)00416-0

Vos J. G., Dybing E., Greim H. A., Ladefoged O., Lambré C., Tarazona J. V., Brandt I., Vethaak A. D. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situa-tion. *Crit Rev Toxicol*. 2000. Vol. 30, no. 1. P. 71–133. doi: 10.1080/10408440091159176

de Waal P. P., Wang D. S., Nijenhuis W. A., Schulz R. W., Bogerd J. Functional characterization and expression analysis of the androgen receptor in zeb-rafish (*Danio rerio*) testis. *Reproduction*. 2008. Vol. 136, no. 2. P. 225–234. doi: 10.1530/REP-08-0055

Wehling M. Looking beyond the dogma of genomic steroid action: insights and facts of the 1990s. *J Mol Med (Berl)*. 1995. Vol. 73, no. 9. P. 439–447. doi: 10.1007/BF00202262

Willnow T. E., Nykjaer A. Response: Cellular Uptake of Sex Steroid Hormones. *Cell*. 2006. Vol. 124, no. 3. P. 456–457. doi: 10.1016/j.cell.2006.01.027

Wood C. M., Marshall W. S. Ion balance, acid-base regulation, and chloride cell function in the common killifish, *Fundulus heteroclitus* – a euryhaline estuarine teleost. *Estuaries*. 1994. Vol. 17, no. 1. P. 34–52. doi: 10.2307/1352333

Woolston C. ‘Living fossil’ genome unlocked. *Nature*. 2013. Vol. 496, no. 7445. P. 283–283. doi: 10.1038/496283a

Yu X., Wu L., Xie L., Yang S., Charkraborty T., Shi H., Wang D., Zhou L. Characterization of two paralogo-us StAR genes in a teleost, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Mol Cell Endocrinol*. 2014. Vol. 392, no. 1–2. P. 152–162. doi: 10.1016/j.mce.2014.05.013

Zhang Y., Zhang S., Lu H., Zhang L., Zhang W. Genes encoding aromatases in teleosts: Evolution and expression regulation. *Gen Comp Endocrinol*. 2014. Vol. 205. P. 151–158. doi: 10.1016/j.ygcen.2014.05.008

Received February 12, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Рендаков Николай Львович

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика
Карелия, Россия, 185910
эл. почта: nrend@mail.ru
тел.: 89602136038

CONTRIBUTOR:

Rendakov, Nikolai

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nrend@mail.ru
tel.: +79602136038

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.1.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И КАДМИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОДЫХАНИЯ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Е. С. Холопцева, В. В. Таланова

Институт биологии Карельского научного центра РАН, ФИЦ КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

Изучалось раздельное и совместное действие низкой закаливающей температуры (4 °С) и сульфата кадмия (100 мкМ) на интенсивность видимого фотодыхания листьев проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Установлено, что температура 4 °С уже в начальный период действия (1–5 ч) вызывает значительное снижение устьичной проводимости и содержания CO₂ в межклетниках, сохраняющееся в течение 7 сут опыта. Интенсивность фотодыхания в первые 1–5 ч холодного воздействия резко уменьшалась, однако затем из-за низкой концентрации CO₂ постепенно увеличивалась и через 4–7 сут превысила исходный уровень. В отличие от этого кадмий в первые часы воздействия практически не влиял на устьичную проводимость и концентрацию CO₂ в межклетниках, а через 4–7 сут приводил к небольшому снижению данных показателей. Интенсивность фотодыхания после незначительного ослабления в первые часы его воздействия возвратилась на исходный уровень. Совместное действие температуры 4 °С и кадмия приводило в первые сутки к уменьшению устьичной проводимости, содержания CO₂ в межклетниках и интенсивности фотодыхания, в дальнейшем первые два показателя оставались на пониженном уровне, а интенсивность фотодыхания возвратилась к исходному значению. Сделан вывод о том, что поддержание повышенного уровня фотодыхания в листьях пшеницы под влиянием низкой температуры на фоне снижения устьичной проводимости и содержания CO₂ в межклетниках может способствовать защите клеток от развивающегося в этих условиях окислительного стресса.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; низкая температура; кадмий; фотодыхание; устьичная проводимость.

E. S. Kholoptseva, V. V. Talanova. THE EFFECT OF LOW TEMPERATURE AND CADMIUM ON THE PHOTORESPIRATION RATE OF WHEAT SEEDLINGS

The effects of separate and combined exposure to a low hardening temperature (4 °C) and cadmium sulfate (100 μM) on the visible photorespiration rate in the leaves of winter wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) were investigated. It was found that the temperature of 4 °C causes a significant decrease in stomatal conductance and CO₂ content in leaf intercellulars already in the initial period of the treatment (1–5 h). This effect persists

for 7 days of the experiment. The rate of photorespiration sharply decreased in the first 1–5 hours of cold exposure. But then, it gradually increased due to a low CO₂ concentration and exceeded the initial level after 4–7 days. In contrast, cadmium had virtually no effect on stomatal conductance and CO₂ concentration in the intercellular spaces in the first hours of exposure, and after 4–7 days it led to a slight decrease in these indices. At the same time, after a small decline in the first hours of exposure the rate of photorespiration returned to the initial level. The combined impact of 4 °C temperature and cadmium led to a decrease in stomatal conductance, CO₂ content in the intercellular spaces, and the rate of photorespiration on the first day. After that, the first two indicators remained at a reduced level, whereas the photorespiration rate returned to its original value. It was concluded that by maintaining an elevated level of photorespiration in the leaves under the impact of low temperature simultaneously with a decrease in stomatal conductance and CO₂ content in intercellular spaces wheat plants protect their cells from the oxidative stress developing under these conditions.

Key words: *Triticum aestivum* L.; low temperature; cadmium; photorespiration; stomatal conductance.

Введение

В листьях растений одновременно с процессом фотосинтеза на свету происходит фотодыхание – поглощение кислорода и выделение углекислого газа. Начальный этап фотодыхания (гликолатного цикла) связан с оксигеназной функцией ключевого фермента фотосинтеза – рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РУБИСКО) и проходит в хлоропластах, а последующие метаболические процессы – в пероксисомах и митохондриях [Кузнецов, Дмитриева, 2011; Hagemann, Vaule, 2016, 2017]. Как установлено, скорость фотодыхания у C₃-растений может быть довольно значительной, особенно при сильном освещении и высокой температуре [Hagemann, Vaule, 2016]. Показано также, что фотодыхание усиливается при ограничении доступа CO₂ в лист при действии на растения различных стрессовых факторов [Рябушкина, 2010; Стасик, 2014].

В последние годы появился ряд работ, свидетельствующих о том, что фотодыхание участвует в реакциях растений на действие неблагоприятных факторов внешней среды разной природы (водный дефицит, высокие температуры, засоление, низкие температуры, тяжелые металлы) [Kangasjärvi et al., 2012; Voss et al., 2013; Стасик, 2014; Hodges et al., 2016; Szymańska et al., 2017]. К настоящему времени наиболее изучено влияние на фотодыхание высоких температур [D'Ambrosio et al., 2006] и водного дефицита [Voss et al., 2013; Стасик, 2014; Silva, 2015]. В частности, установлено, что интенсивность фотодыхания возрастает при снижении концентрации углекислого газа в листьях яровой пшеницы по мере закрывания устьиц в условиях умеренной засухи, но уменьшается при жесткой засухе [Стасик, 2014]. Что

касается воздействия на фотодыхание растений других абиотических факторов, в том числе низких температур и тяжелых металлов, то имеющиеся по этому вопросу сведения единичны и противоречивы [Voss et al., 2013].

Учитывая вышеизложенное, целью данной работы явилось изучение влияния низкой температуры (физический фактор) и кадмия (химический фактор), а также их совместного действия на интенсивность фотодыхания проростков пшеницы.

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 в течение 7 суток подвергали действию низкой закалывающей температуры (4 °C) или сульфата кадмия (100 мкМ), а также их совместному действию, сохраняя прочие условия неизменными.

Устьичную проводимость, содержание CO₂ в межклетниках и интенсивность фотодыхания изучали с помощью портативной фотосинтетической системы HCM-1000 (Walz, Германия). Интенсивность видимого фотодыхания рассчитывали как разность между максимальным выходом CO₂ в течение 3 мин после выключения света и темновым дыханием (по установившемуся уровню CO₂ через 5–7 мин после выключения света) [Балаур и др., 2009, 2013]. Измерения проводили в климатической камере при

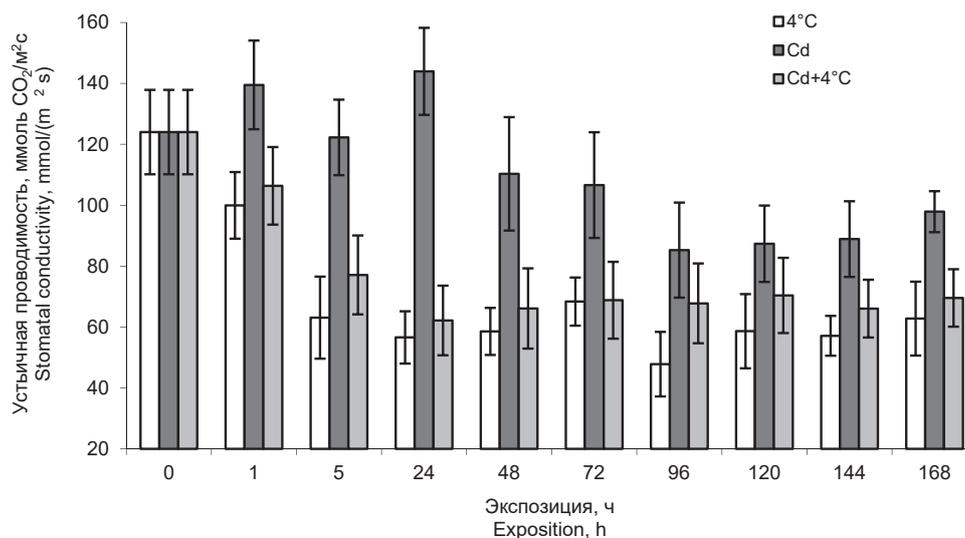


Рис. 1. Раздельное и совместное действие температуры 4 °С и кадмия (100 мкМ) на устьичную проводимость листьев пшеницы

Fig. 1. Separate and combined effect of temperature 4 °C and cadmium (100 μM) on stomatal conductance of wheat leaves

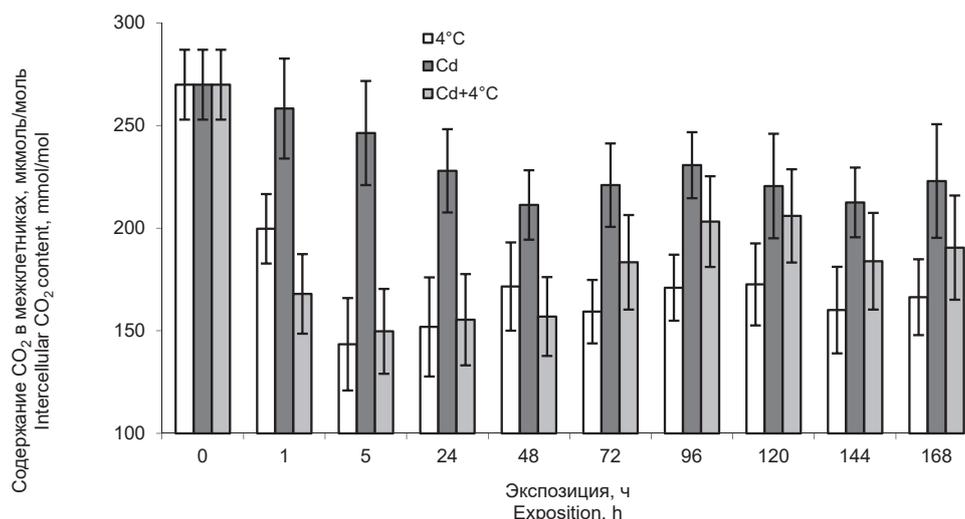


Рис. 2. Раздельное и совместное действие температуры 4 °С и кадмия (100 мкМ) на содержание CO₂ в межклетниках листьев пшеницы

Fig. 2. Separate and combined effect of temperature 4 °C and cadmium (100 μM) on the intercellular CO₂ content in wheat leaves

температурах, соответствующих вариантам опыта (4 или 22 °С).

Повторность в пределах одного варианта опыта 5-кратная. Каждый опыт повторяли 3 раза. На рисунках приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. В статье обсуждаются величины, достоверные при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты

В ходе исследований установлено, что при температуре 4 °С в течение первых суток воздействия происходит значительное снижение устьичной проводимости листьев пшеницы (до 50 % от исходного уровня), которое сохраняется до конца опыта (рис. 1). Кадмий в концентрации 100 мкМ в обычных температурных условиях (при 22 °С) не вызывал изменения устьичной проводимости в первые сутки опыта, затем она снижалась и через 4–7 сут составляла около 70 % от исходного уровня (рис. 1). Совместное

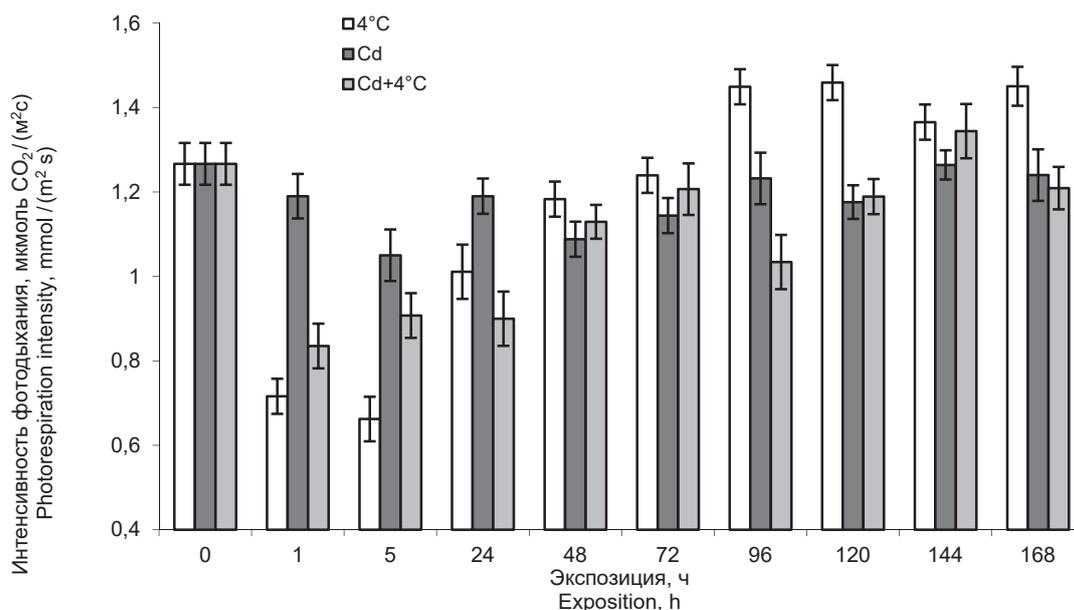


Рис. 3. Раздельное и совместное действие температуры 4 °С и кадмия (100 мкМ) на интенсивность фотодыхания листьев пшеницы

Fig. 3. Separate and combined effect of temperature 4 °C and cadmium (100 μM) on the intensity of wheat leaves photorespiration

действие температуры 4 °С и кадмия в первые сутки снижало устьичную проводимость и стабилизировало ее в дальнейшем (2–7 сут) на уровне, характерном для низкотемпературного воздействия (рис. 1).

В первые сутки действия температуры 4 °С также отмечено уменьшение содержания CO₂ в межклетниках листьев пшеницы (примерно до 60 % от исходного значения), которое и в дальнейшем (2–7 сут) оставалось на пониженном уровне (рис. 2). В отличие от этого в первые сутки действия кадмия не происходило достоверного изменения содержания CO₂, затем оно снижалось до 80 % от исходного уровня (рис. 2). При совместном действии низкой температуры и кадмия этот показатель резко снижался в первые двое суток, в дальнейшем (через 3–7 сут) отмечена тенденция к его увеличению, однако достигнутый уровень не превышал исходного значения (рис. 2).

В начальный период (1–5 ч) холодого воздействия происходило резкое снижение интенсивности фотодыхания (до 50 % от исходного уровня). В дальнейшем, в течение 1–3 сут температура 4 °С вызывала ее повышение и стабилизацию (через 4–7 сут) на уровне, превышающем исходное значение (рис. 3). Воздействие кадмия в первые 5 ч вызывало небольшое снижение интенсивности фотодыхания, однако затем она возвратилась на исходный уровень и практически не изменялась в дальнейшем на протяжении всего опыта (в течение 7 сут).

Совместное действие этих стресс-факторов снижало интенсивность фотодыхания в первые сутки, однако начиная с третьих суток происходило ее повышение до исходного уровня.

Обсуждение

В настоящее время активацию фотодыхания считают одной из ответных реакций растения на действие неблагоприятных факторов среды, связанных с защитой фотосинтетического аппарата (ФСА) от фотоингибирования [Kangasjärvi et al., 2012; Voss et al., 2013; Стасик, 2014; Hodges et al., 2016; Szymańska et al., 2017].

В наших исследованиях выявлен характер изменения устьичной проводимости, содержания CO₂ в межклетниках листьев и интенсивности видимого фотодыхания у проростков пшеницы при действии низкой закалывающей температуры (4 °С), кадмия в субповреждающей концентрации (100 мкл), а также при их совместном действии. Установлено, что в начальный период действия температуры 4 °С происходит значительное снижение всех указанных показателей. В дальнейшем устьичная проводимость и содержание CO₂ остаются на пониженном уровне, а фотодыхание постепенно повышается.

Обнаруженное нами резкое снижение устьичной проводимости в первые часы действия холода, приводящее к уменьшению концентрации CO₂ в межклетниках листьев, вызвано,

очевидно, быстрым закрыванием устьиц [Wilkinson et al., 2001]. Ингибирование фотодыхания в этом случае может быть связано с замедлением фотосинтетического метаболизма в целом [Caemmere, Farquhar, 1981; Kangasjärvi et al., 2012]. В пользу этого указывают наши данные о значительном снижении интенсивности фотосинтеза проростков пшеницы в первые 1–5 ч действия температуры 4 °С [Венжик и др., 2011]. Следовательно, фотодыхание при кратковременном действии холода, по-видимому, не может выполнять защитную функцию, поскольку его интенсивность, как и интенсивность фотосинтетического газообмена в целом, слишком низкая. Отметим, что сходные изменения устьичной проводимости, содержания CO₂ в межклетниках, интенсивности фотосинтеза и фотодыхания зафиксированы у холодостойких растений свеклы при кратковременном (2 ч) действии температуры 5 °С [D'Ambrosio et al., 2006]. Причем и у пшеницы [Венжик и др., 2011], и у свеклы [D'Ambrosio et al., 2006] обнаружено увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, что связывают с тепловой диссипацией избыточной энергии света, которую считают одним из механизмов защиты фотосистемы II (ФС II) от фотоингибирования и окислительного стресса [Креславский и др., 2012; Theocharis et al., 2012].

При более длительном (несколько суток) холодом воздействии на фоне низкой концентрации углекислого газа в межклетниках происходит повышение интенсивности фотодыхания проростков пшеницы. Поскольку CO₂ и O₂ конкурируют между собой за присоединение к активному центру РУБИСКО [Кузнецов, Дмитриева, 2011], уменьшение содержания CO₂ в межклетниках при низкой температуре приводит к снижению его поступления в хлоропласт, что способствует присоединению к ферменту кислорода и, соответственно, активации фотодыхания. В этом случае усиление фотодыхания, по-видимому, выступает как дополнительная защита клетки от избыточного образования активных форм кислорода (АФК). Как известно, ингибирование работы цикла Кальвина в неблагоприятных условиях приводит к снижению фотосинтетического транспорта электронов, образованию АФК и развитию окислительного стресса, а фотодыхание регулирует окислительно-восстановительный баланс, поскольку мощности цикла Кальвина недостаточно, чтобы использовать все восстановительные эквиваленты (АТФ и НАДФ·Н), образовавшиеся в световую фазу фотосинтеза [Креславский и др., 2012]. Потребление энергии при фотодыхании предотвращает гиперовосстановление хлоропласта

и препятствует фотоингибированию процесса фотосинтеза [Рахманкулова, 2009].

Таким образом, усиление фотодыхания проростков пшеницы при длительном действии низкой закалывающей температуры, по-видимому, наряду с другими биохимическими, генетическими и физиологическими системами регуляции обеспечивает дополнительную защиту ФСА от окислительного стресса.

Влияние сульфата кадмия в используемой концентрации (100 мкМ) на фотодыхание проростков пшеницы оказалось слабовыраженным. В частности, в первые сутки его действия не зафиксировано изменений устьичной проводимости и содержания CO₂ в межклетниках листа. Это объясняется очень низкой концентрацией кадмия в листьях проростков пшеницы в первые часы воздействия [Репкина и др., 2015], что связано со способностью злаковых растений задерживать большую его часть в корневой системе [Казнина, Титов, 2013]. Однако через 1 сут от начала воздействия происходит значительное поступление ионов кадмия в листья, а с увеличением продолжительности воздействия до 2–7 сут его содержание продолжает нарастать [Репкина и др., 2015]. В результате этого токсическое действие кадмия на растения проявляется на 3–7-е сутки: снижается устьичная проводимость и несколько уменьшается содержание CO₂ в межклетниках листа. Однако изменения устьичной проводимости и содержания CO₂ оказались менее значительными, чем при низкотемпературном воздействии, что слабо отразилось и на фотодыхании.

Ранее было показано, что при длительном действии кадмия в вышеуказанной концентрации происходит снижение интенсивности фотосинтеза проростков пшеницы [Венжик и др., 2015a]. Однако в этом случае кадмий не вызывал накопления АФК и окислительного стресса, поскольку ни в начальный период его действия (1–24 ч), ни при более длительном воздействии не зафиксировано существенных изменений в содержании малонового диальдегида – конечного продукта перекисного окисления липидов [Репкина и др., 2015]. Видимо, с этим связано и отсутствие значительных изменений интенсивности фотодыхания.

При совместном действии низкой температуры и кадмия на проростки пшеницы фотодыхание снижается в первые сутки, так же как и при низкотемпературном воздействии, а затем возвращается на исходный уровень. Вероятно, в этом случае происходит нивелирование эффектов воздействия этих стрессоров, как было показано в других работах [Streb et al., 2008; Гармаш, Головки, 2009; Венжик и др.,

2015б], поскольку низкая температура и кадмий в разной степени влияют на интенсивность фотосинтеза и темнового дыхания [Титов и др., 2007, 2014; Венжик и др., 2015а, б]. Возможно, что взаимодействие этих стресс-факторов приводит к меньшему накоплению АФК, чем низкая температура, поэтому не происходит значительной активизации фотодыхания.

В целом проведенные исследования позволяют предположить, что фотодыхание принимает участие в поддержании активности ФСА растений пшеницы в условиях действия низкой закалывающей температуры и кадмия. Так, под влиянием низкой температуры усиление фотодыхания, вероятно, направлено на защиту ФСА от проявления окислительного стресса. В отличие от этого кадмий в субповреждающей концентрации не вызывает существенных изменений фотодыхания, а при совместном действии низкой температуры и кадмия не происходит суммирования их эффектов на фотодыхание проростков пшеницы.

Заключение

Проведенные исследования показали, что при раздельном и совместном действии низкой температуры и кадмия в растениях пшеницы происходят изменения в устьичной проводимости и содержании CO_2 в межклетниках листа, что, в свою очередь, приводит к изменению интенсивности фотодыхания. Под влиянием длительного воздействия низкой температуры происходит активизация фотодыхания, а при действии кадмия, так же как и при совместном действии низкой температуры и кадмия, явно усиления фотодыхания не отмечено. Таким образом, можно предположить, что процесс фотодыхания принимает участие в регуляции окислительно-восстановительных реакций и защите клеток от накопления АФК и развития окислительного стресса в условиях низкотемпературного воздействия.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБ КарНЦ РАН по теме № 0221-2017-0051.

Литература

Балаур Н. С., Воронцов В. А., Клейман Э. И., Тон Ю. Д. Новая технология мониторинга CO_2 -обмена у растений // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 3. С. 466–470.

Балаур Н. С., Воронцов В. А., Меренюк Л. Ф. Особенности фотодыхания фотосинтетически

активных органов у C_3 -растений // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 2. С. 174–183. doi: 10.7868/S0015330313020036

Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В., Фролова С. А., Таланов А. В., Назаркина Е. А. Влияние пониженной температуры на устойчивость и функциональную активность фотосинтетического аппарата // Известия РАН. Сер. биол. 2011. № 2. С. 171–177.

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. Сер. биол. 2015а. № 6. С. 597–604.

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. 2015б. № 12. С. 23–34. doi: 10.17076/eb248

Гармаш Е. В., Головкин Т. К. Влияние кадмия на рост и дыхание ячменя при двух температурных режимах выращивания // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 3. С. 382–387.

Казнина Н. М., Титов А. Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Poaceae // Успехи современной биологии. 2013. Т. 133, № 6. С. 588–603.

Креславский В. Д., Карпентер Р., Климов В. В., Мурата Н., Аллахвердиев С. И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу // Биологические мембраны. 2007. Т. 24, № 3. С. 195–217.

Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов В. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 2. С. 163–178.

Кузнецов В. В., Дмитриева Г. А. Физиология растений. Учебник. М.: Абрис, 2011. Т. 1. 783 с.

Рахманкулова З. Ф. Уровни регуляции энергетического обмена в растениях // Вестник Башкирского университета. 2009. Т. 14, № 3(1). С. 1141–1154.

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. doi: 10.17076/eb229

Рябушкина Н. А. Экологические особенности фотосинтеза и попытки биоинженерии повышения его эффективности // Биотехнология. Теория и практика. 2010. № 4. С. 12–35.

Стасик О. О. Фотодыхание: метаболизм и физиологическая роль // Современные проблемы фотосинтеза // Под ред. С. И. Аллахвердиева, А. Б. Рубина, В. А. Шувалова. М.; Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2014. Т. 2. С. 505–535.

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.

D'Ambrosio N., Arena C., De Santo A. V. Temperature response of photosynthesis, excitation energy dissipation and alternative electron sink to carbon assimila-

tion in *Beta vulgaris* L. // Environ. Exp. Bot. 2006. Vol. 55. P. 248–257. doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.11.006

Caemmerer S., Farquhar G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves // Planta. 1981. Vol. 153, iss. 4. P. 376–387.

Hagemann M., Bauwe H. Photorespiration and the potential to improve photosynthesis // Current Opinion in Chemical Biology. 2016. Vol. 35. P. 109–116.

Hagemann M., Bauwe H. Photorespiration // Encyclopedia of Applied Plant Sciences. 2017. 2nd edition. Vol. 1. P. 86–89. doi: 10.1016/B978-0-12-394807-6.00094-0

Hodges M., Dellerio Y., Keech O., Betti M., Raghavendra A. S., Sage R., Zhu X.-G., Allen D. K., Weber A. P. M. Perspectives for a better understanding of the metabolic intergration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network // J. Exp. Bot. 2016. Vol. 67. P. 3015–3026. doi: 10.1093/jxb/erw145

Kangasjärvi S., Neukermans J., Li S., Aro E.-M., Noctor G. Photosynthesis, photorespiration, and signaling in defence responses // J. Exp. Bot. 2012. Vol. 63, no. 4. P. 1619–1636. doi: 10.1093/jxb/err402

Silva E. N., Silveira A. G., Ribeiro R. V., Vieira S. A. Photoprotective function of energy dissipation by thermal processes and photorespiratory mechanisms in *Jatropha curcas* plants during different intensities of drought and after recovery // Environ. Exp. Bot. 2015. Vol. 110. P. 36–45. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.09.008

References

Balaur N. S., Vorontsov V. A., Kleiman E. I., Ton Yu. D. Novaya tekhnologiya monitoringa CO₂-obmena u rastenii [A new technology for monitoring CO₂-exchange in plants]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2009. Vol. 56, no. 3. P. 466–470.

Balaur N. S., Vorontsov V. A., Merenyuk L. F. Osobennosti fotodykhaniya fotosinteticheskii aktivnykh organov u C₃-rastenii [Features of photorespiration of photosynthetically active organs in C₃ plants]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2013. Vol. 60, no. 2. P. 174–183. doi: 10.7868/S0015330313020036

Garmash E. V., Golovko T. K. Vliyanie kadmiya na rost i dykhanie yachmenya pri dvukh temperaturnykh rezhimakh vyrashchivaniya [Influence of cadmium on the growth and respiration of barley in two temperature regimes of cultivation]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2009. Vol. 56, no. 3. P. 382–387.

Kaznina N. M., Titov A. F. Vliyanie kadmiya na fiziologicheskie protsessy i produktivnost' rastenii semeistva Poaceae [Influence of cadmium on the physiological processes and productivity of the Poaceae plants family]. *Uspekhi sovremennoi biologii* [Biol. Bull. Reviews]. 2013. Vol. 133, no. 6. P. 588–603.

Kreslavskii V. D., Karpentier R., Klimov V. V., Murata N., Allakhverdiev S. I. Molekulyarnye mekhanizmy ustoichivosti fotosinteticheskogo apparata k stressu [Molecular mechanisms of photosynthetic apparatus stability to stress]. *Biologicheskie membrany* [Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. A: Membr. Cell Biol.]. 2007. Vol. 24, no. 3. P. 195–217.

Kreslavskii V. D., Los' D. A., Allakhverdiev S. I., Kuznetsov V. V. Signal'naya rol' aktivnykh form

Streb P., Aubert S., Gout El., Feierabend J., Bligny R. Cross tolerance to heavy-metal and cold-induced photoinhibition in leaves of *Pisum sativum* acclimated to low temperature // *Physiol. Mol. boil. plants*. 2008. Vol. 14, no. 3. P. 185–193.

Szymańska R., Ślesak I., Orzechowska A., Kruk J. Physiological and biochemical responses to high light and temperature stress in plants // *Environ. Exp. Bot.* 2017. Vol. 139. P. 165–177. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.05.002

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

Voss I., Sunil B., Scheibe R., Raghavendra A. S. Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response // *Plant Biol.* 2013. Vol. 15. P. 713–722. doi: 10.1111/j.1438-8677.2012.00710.x

Wilkinson S., Clephan A. L., Davies W. L. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 126, no. 4. P. 1566–1578.

Поступила в редакцию 11.09.2017

kisloroda pri stresse u rastenii [The signal role of active oxygen forms under stress in plants]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2012. Vol. 59, no. 2. P. 163–178.

Kuznetsov V. V., Dmitrieva G. A. *Fiziologiya rastenii*. [Physiology of plants]. Moscow: Abris, 2011. Vol. 1. 783 p.

Rakhmankulova Z. F. Urovni regulatsii energeticheskogo obmena v rasteniyakh [Levels of energy metabolism regulation in plants]. *Vestnik Bashkirskogo un-ta* [Bashkir Univ. Bull.]. 2009. Vol. 14, no. 3(1). P. 1141–1154.

Repkina N. S., Batova Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V. Ekspressiya gena glutationsintetazy GS3 v kornnyakh i list'yakh prorstkov pshenitsy pri deistvii kadmiya [Expression of GS3 glutathione synthetase gene in roots and leaves of wheat seedlings exposed to cadmium]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 11. P. 67–75. doi: 10.17076/eb229

Ryabushkina N. A. Ekologicheskie osobennosti fotosinteza i popytki bioinzhenerii povysheniya ego effektivnosti [Ecological peculiarities of photosynthesis and attempts of bioengineering to increase its efficiency]. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika* [Eurasian J. Appl. Biotechnology]. 2010. No. 4. P. 12–35.

Stasik O. O. Fotodykhanie: metabolism i fiziologicheskaya rol' [Photorespiration: metabolism and the physiological role]. *Sovremennyye problemy fotosinteza* [Current Iss. Photosynthesis]. Moscow; Izhevsk: Inst. of Computer Res., 2014. P. 505–535.

Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. M., Laidinen G. F. Ustoichivost' rastenii k tyazhelym metallam

[The tolerance of plants 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., Talanova V. V., Frolova S. A., Talanov A. V., Nazarkina E. A. Vliyaniye ponizhennoi temperatury na ustoichivost' i funktsional'nyuyu aktivnost' fotosinteticheskogo apparata [Influence of the lowered temperature on the stability and functional activity of the photosynthetic apparatus]. *Izvestiya RAN [Biol. Bull.]*. 2011. No. 2. P. 171–177.

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 the reaction of wheat plants to the action of low temperature and cadmium]. *Izvestiya RAN [Biol. Bull.]*. 2015a. No. 6. P. 597–604.

Venzhik Yu. V., Titov A. F., Kholoptseva E. S., Talanova V. V. Razdel'noe i sovmestnoe deistvie nizkoi temperatury i kadmiya na nekotorye fiziologicheskie pokazateli pshenitsy [Separate and joint action of low temperature and cadmium on some physiological indices of wheat]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. KarRC RAS]*. 2015. No. 12. P. 23–34. doi: 10.17076/eb248

D'Ambrosio N., Arena C., De Santo A. V. Temperature response of photosynthesis, excitation energy dissipation and alternative electron sink to carbon assimilation in *Beta vulgaris* L. *Environ. Exp. Bot.* 2006. Vol. 55. P. 248–257. doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.11.006

Caemmerer S., Farquhar G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*. 1981. Vol. 153, iss. 4. P. 376–387.

Hagemann M., Bauwe H. Photorespiration and the potential to improve photosynthesis. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2016. Vol. 35. P. 109–116.

Hagemann M., Bauwe H. Photorespiration. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. 2017. 2nd ed. Vol. 1. P. 86–89. doi: 10.1016/B978-0-12-394807-6.00094-0

Hodges M., Deller Y., Keech O., Betti M., Raghavendra A. S., Sage R., Zhu X.-G., Allen D. K.,

Weber A. P. M. Perspectives for a better understanding of the metabolic intergration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network. *J. Exp. Bot.* 2016. Vol. 67. P. 3015–3026. doi: 10.1093/jxb/erw145

Kangasjärvi S., Neukermans J., Li S., Aro E.-M., Noctor G. Photosynthesis, photorespiration, and signalling in defence responses. *J. Exp. Bot.* 2012. Vol. 63, no. 4. P. 1619–1636. doi: 10.1093/jxb/err402

Silva E. N., Silveira A. G., Ribeiro R. V., Vieira S. A. Photoprotective function of energy dissipation by thermal processes and photorespiratory mechanisms in *Jatropha curcas* plants during different intensities of drought and after recovery. *Environ. Exp. Bot.* 2015. Vol. 110. P. 36–45. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.09.008

Streb P., Aubert S., Gout El., Feierabend J., Bligny R. Cross tolerance to heavy-metal and cold-induced photoinhibition in leaves of *Pisum sativum* acclimated to low temperature. *Physiol. Mol. boil. plants*. 2008. Vol. 14, no. 3. P. 185–193.

Szymańska R., Ślesak I., Orzechowska A., Kruk J. Physiological and biochemical responses to high light and temperature stress in plants. *Environ. Exp. Bot.* 2017. Vol. 139. P. 165–177. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.05.002

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

Voss I., Sunil B., Scheibe R., Raghavendra A. S. Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. *Plant Biol.* 2013. Vol. 15. P. 713–722. doi: 10.1111/j.1438-8677.2012.00710.x

Wilkinson S., Clephan A. L., Davies W. L. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid. *Plant Physiol.* 2001. Vol. 126, no. 4. P. 1566–1578.

Received September 11, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Холопцева Екатерина Станиславовна

старший научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: holooptseva@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762712

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762712

CONTRIBUTORS:

Kholoptseva, Ekaterina

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

УДК 577.115.3:582.632.1

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ МУЖСКИХ СОЦВЕТИЙ *BETULA PENDULA* ROTH В ПЕРИОД ВЕСЕННЕГО РАЗВИТИЯ

О. С. Серебрякова, Л. В. Ветчинникова

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Показано, что смена фенологической фазы развития *Betula pendula* Roth в весенний период сопровождается значительными изменениями в жирнокислотном составе отдельных фракций липидов в мужских соцветиях. Так, в начальную фазу их цветения (освобождение от наружного покрова), когда наблюдается возврат низких положительных или отрицательных температур, сумма ненасыщенных жирных кислот преобладает над насыщенными во всех фракциях, и особенно в мембранных липидах, где ненасыщенные превышают насыщенные вдвое. По мере накопления положительных температур, к фазе разрыхления тычиночных соцветий, наоборот, происходит накопление насыщенных жирных кислот в запасных (нейтральных) липидах (до 70 % и выше от суммы жирных кислот) и в гликолипидах (до 50 % и выше от суммы жирных кислот). При этом в фосфолипидах отмечено устойчивое соотношение между жирными кислотами в сторону ненасыщенных, и в большей степени – линолевой кислоты (до 65 % и выше от суммы жирных кислот) независимо от фазы развития мужских соцветий. Установлено, что в гликолипидах у березы повислой преобладает линоленовая кислота (до 50 % от суммы жирных кислот и выше). Высказано предположение, что в весенний период в липидном обмене мужских соцветий у березы повислой реализуются две взаимосвязанные стратегии, направленные, с одной стороны, на успешное прохождение этапа цветения и формирование фертильной пыльцы, а с другой – на предохранение мужского гаметофита от воздействия возвратных весенних заморозков, которые часто наблюдаются в конце апреля – начале мая в границах ее ареала.

Ключевые слова: *Betula pendula* Roth; мужские соцветия; погодно-климатические условия; нейтральные липиды; гликолипиды; фосфолипиды; жирные кислоты.

O. S. Serebryakova, L. V. Vetchinnikova. LIPID FATTY ACID COMPOSITION IN MALE INFLORESCENCES OF *BETULA PENDULA* ROTH IN SPRING

It is demonstrated that the phenological phase transition in *Betula pendula* Roth in spring is accompanied by substantial changes in the fatty acid composition of some lipid fractions in male inflorescences. Thus, at the beginning of their flowering (shedding of outer cover), when low positive or negative temperatures returned, total unsaturated fatty acids (FA) prevailed over saturated FA in all lipid fractions, especially in membrane lipids, where the content of unsaturated fatty acids was double that of saturated FA. As positive temperatures piled up and the plant was in the phase of staminate inflorescence loosening, there was, on the contrary, an accumulation of saturated fatty acids in storage (neutral) lipids (up to 70 % of total fatty acids or more) and glycolipids (up to 50 % of total fatty ac-

ids or more). In phospholipids, on the other hand, the ratio of fatty acids was steadily in favor of unsaturated FA, chiefly linoleic acid (up to 65 % of total fatty acids or more), irrespective of the phase of male inflorescence development. Glycolipids in silver birch were dominated by linolenic acid (50 % of total fatty acids and more). It is hypothesized that two interrelated strategies are realized in the lipid metabolism of silver birch male inflorescence in spring, targeted at successful progress through the flowering phase and formation of fertile pollen, on the one hand, and at safeguarding the male hametophyte against spring frosts, which often return in the species range in late April – early May, on the other.

Key words: *Betula pendula* Roth; male inflorescences; weather and climatic conditions; neutral lipids; glycolipids; phospholipids; fatty acids.

Введение

Ответственным этапом в развитии растительного организма является переход от вегетативного роста к формированию генеративной сферы, от которой во многом зависит устойчивость видов во времени, их выживание, поддержание численности, сохранение и расширение ареалов [Юсуфов, 1972]. Береза, как известно, относится к однодомным раздельно-полюм анемофильным древесным породам. В генеративную фазу она вступает примерно к 8–10 годам. Вместе с тем на этапе генеративного развития наблюдается неравномерное плодоношение: высокоурожайные годы чередуются с годами средне- и слабоурожайными. Кроме того, у березы широко распространено явление партенокарпии, которое приводит к образованию «пустых» семян и значительному снижению урожая. Даже в год обильного плодоношения количество «пустых» семян у березы может варьировать от 10 до 97 %, в среднем около 60 % [Махнев, 1978; Каледа, 1982; Некрасова, 1983; Погиба, Погиба, 2006]. К возможным причинам таких событий одни авторы относят недостаток пыльцы в воздухе вследствие, например, несовпадения сроков рецептивного состояния женских цветков с пылением мужских [Sarvas, 1952; Каледа, 1984 и др.], другие – снижение жизнеспособности пыльцы под действием неблагоприятных погодных условий в период цветения [Мауринь, 1967; Каледа, 1984; Третьякова, Носкова, 2004; Николаевская и др., 2009 и др.].

Основным лимитирующим фактором, определяющим развитие генеративных органов в весенний период, является температура, поскольку раскрытие мужских соцветий у березы происходит до начала распускания листьев весной или одновременно с их распусканием. Раскрытие пыльников обычно носит волнообразный характер: вылет единичных пыльцевых зерен происходит при накоплении суммы эффективных температур, составляющей не менее 3 % от среднегодовой суммы, а максималь-

ное пыление – при достижении 5–6 % [Фролова, 1956; Некрасова, 1983; Каледа, 1984; Rousi, Heinonen, 2007; Niemistö et al., 2008; Hawkins, Dhar, 2012; Пардаева и др., 2017]. Продолжительность рецептивного периода у женских цветков березы, когда рыльца пестиков способны воспринимать пыльцу, составляет около 5–7 дней. При неблагоприятных для опыления погодных условиях оплодотворение будет ограниченным, а качество урожая семян – низким.

Как известно, в процессе формирования генеративных органов происходят значительные изменения в обмене веществ, которые активно изучаются на травянистых и плодовых растениях [Schaffer, Petreikov, 1997; Bonome et al., 2011; Famiani et al., 2012 и др.]. У ряда листовых древесных растений, в отличие от большинства из них, цветение происходит до начала распускания листьев (или одновременно с их распусканием), и их физиолого-биохимические особенности до сих пор остаются слабоизученными. В частности, практически открытыми являются вопросы липидного обмена, хотя именно липиды, будучи важнейшим элементом клеточных мембран, во многом определяют их реакцию на воздействие внешних факторов среды [Войников, 2011; Любушкина и др., 2013; Лось, 2014; Романова и др., 2016 и др.], в том числе и в период цветения. Некоторые особенности жирнокислотного состава липидов женских сережек березы изучены нами ранее [Ветчинникова и др., 2013].

Учитывая вышеизложенное, целью данной работы было изучение динамики содержания и жирнокислотного состава разных фракций липидов в мужских соцветиях *Betula pendula* Roth в разные фазы их весеннего развития в условиях Карелии.

Материалы и методы

Основными объектами изучения были средневозрастные 30–40-летние деревья березы повислой *Betula pendula* Roth, произрастаю-

Таблица 1. Содержание разных фракций липидов (мг/г сухого вещества) в мужских соцветиях березы повислой в весенний период развития

Table 1. Content of different fractions of lipids (mg/g dry matter) in male inflorescences of the *Betula pendula* Roth in the spring period of development

Фаза весеннего развития мужских соцветий Spring development phase of male inflorescences	Длина мужского соцветия (мм) Male inflorescence length (mm)	Фракции липидов Fraction of lipids		
		НЛ NL	ФЛ PL	ГЛ GL
I – освобождение от наружного покрова I – release from the outer cover	23,2 ± 2,1	59,7 ± 2,4	32,8 ± 1,3	55,3 ± 3,0
II – разрыхление II – loosening of male earrings	35,2 ± 2,6	84,4 ± 2,1	44,1 ± 2,6	80,9 ± 1,8
III – вскрывание пыльников III – opening of anthers	41,7 ± 2,8	110,6 ± 3,4	48,8 ± 2,0	63,1 ± 2,3

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: НЛ – нейтральные липиды; ФЛ – фосфолипиды; ГЛ – гликолипиды.

Note. Here and in Tab. 2 and 3: NL – neutral lipids; PL – phospholipids; GL – glycolipids.

щие на экспериментальных участках Института леса Карельского научного центра РАН, расположенных на Агробиологической станции Карельского научного центра РАН на окраине г. Петрозаводска (61°79' с. ш., 34°35' в. д.). Материалом для исследований служили мужские соцветия (сережки), сбор которых осуществляли индивидуально с модельных деревьев в соответствии с фазами их весеннего развития: I фаза – освобождение от наружного покрова, II фаза – разрыхление, III фаза – вскрывание пыльников [Кайгородова, 1975; Каледа, 1984], которые в последнее десятилетие в Карелии наблюдались в 1-й декаде мая. В дальнейшем отцветшие мужские (тычиночные) соцветия подсыхают и, как правило, спустя 1–2 недели (в зависимости от погодных условий) опадают, изредка оставаясь на дереве до осени или дольше. Заметим, что в год проведения исследований (2009), в отличие, например, от предыдущего (2008), в условиях Карелии цветение у березы повислой было довольно обильным, а доля морфологически зрелой (потенциально фертильной) пыльцы составляла 87 %.

Экстракцию липидов из тканей соцветий осуществляли смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1. Суммарное количество липидов определяли весовым методом, а разделение на фракции – методом колоночной хроматографии. Фракции липидов (с использованием пипеток Пастера длиной 145 мм) извлекали последовательно следующими растворителями: нейтральные липиды (НЛ) – хлороформом, гликолипиды (ГЛ) – ацетоном, фосфолипиды (ФЛ) – метанолом [Simola, Koskimies-Soininen, 1984]. Метилвые эфиры жирных кислот получали в результате переэтерификации липидов метанолом в присутствии ацетилхлорида и анализировали на газожидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000.1» (Йошкар-

Ола, Россия) с использованием капиллярной колонки HP-INNOWAX (50 м × 0,32 мм) при температурах: термостата – 180 °С (изотерма), пламенно-ионизационного детектора – 240 °С, испарителя – 220 °С и скорости газа-носителя (азот) 50 мл/мин. Идентификацию жирных кислот осуществляли с помощью стандартного набора метиловых эфиров жирных кислот (Supelko, 37 компонентов), сопоставлением эквивалентной длины цепи экспериментально полученных компонентов с известными данными [Сиймер и др., 1971], а также библиотекой масс-спектров FAME library. Вычисляли содержание индивидуальных жирных кислот и их групп, объединенных по числу двойных связей в углеродной цепочке: моноеновые, диеновые, триеновые. Коэффициент ненасыщенности (U/S) (или отношение ненасыщенных жирных кислот (U) к насыщенным (S)) и индекс двойной связи, или Double bond index (DBI), рассчитывали по формулам, предложенным Лайонсом и др. [Lyons et al., 1964].

Математическую обработку данных осуществляли с помощью общепринятых методов статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel. В таблицах и рисунках приведены средние арифметические значения трех и более независимых экспериментов и их стандартные ошибки.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным, концентрация липидов в мужских соцветиях березы повислой варьировала от 32,8 до 110,6 мг/г

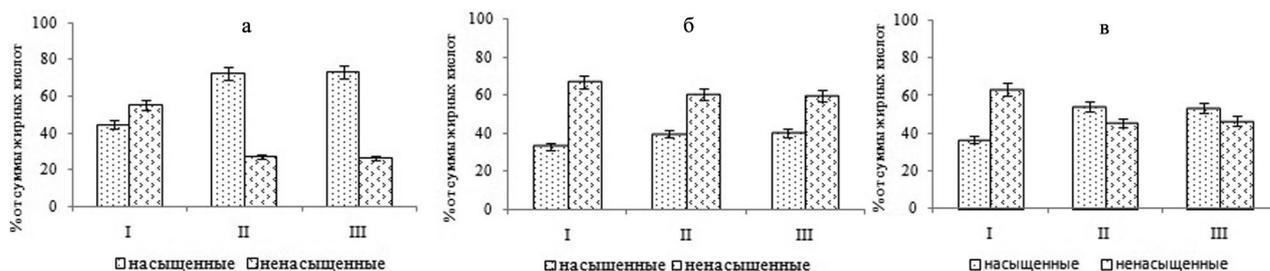


Рис. 1. Динамика содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в нейтральных (а), фосфо- (б) и гликолипидах (в) мужских соцветий березы повислой в весенний период развития. Здесь и на рис. 2, 3 – фазы развития мужских соцветий: I – освобождение от наружного покрова, II – разрыхление, III – вскрывание пыльников

Fig. 1. Dynamics of the content of saturated and unsaturated fatty acids in neutral (а), phospholipids (б) and glycolipids (в) of male inflorescences of the *Betula pendula* Roth inflorescences during their spring development. Here and on Fig. 2, 3 – phases of male inflorescences development: I – release from the outer cover, II – loosening, III – opening of anthers

сухого вещества в зависимости от фазы развития растений в весенний период и их локализации: мембранные (фосфо-, гликолипиды) или запасные (нейтральные) (табл. 1). В частности, к началу подготовки цветения в фазу освобождения от наружного покрова концентрация суммарных липидов в мужских соцветиях была наименьшей и по средним значениям вдвое уступала женским соцветиям в период их рецептивного состояния [Ветчинникова и др., 2013], но была выше по сравнению с тканями ствола [Piispanen, Saranpää, 2002]. В дальнейшем количество липидов увеличилось во всех фракциях, и наиболее заметно – в нейтральных (в 2 раза). Следует отметить, что в период подготовки к цветению мужские соцветия за счет их разрыхления увеличились в длину почти вдвое (см. табл. 1). По всей вероятности, генеративные органы в этот период выступали доминирующим центром, аттрагирующее действие которого резко возрастало в процессе их весеннего развития. Одновременно с притоком ассимилятов происходило и их использование, о чем свидетельствовало, к примеру, снижение концентрации гликолипидов в мужских соцветиях к фазе вскрывания пыльников. Количество фосфолипидов было вдвое меньше по сравнению с нейтральными липидами, но по значениям они также проявили тенденцию к увеличению по мере весеннего развития растений.

Сопоставление полученных данных свидетельствует, что в период подготовки мужских соцветий к цветению (фаза освобождения от наружного покрова), т. е. в период наиболее низких положительных (или отрицательных) температур воздуха в весенний период, во всех фракциях липидов ненасыщенные жирные кислоты преобладали над насыщенными (рис. 1, фаза I). Наиболее ярко это проявилось

во фракции фосфо- и гликолипидов, в которых доля ненасыщенных жирных кислот составила более 60 % и почти вдвое превышала сумму насыщенных (см. рис. 1, б, в, фаза I). Согласно утверждениям ряда авторов [Алаудинова, Миронов, 2009; Алаудинова, 2011], возврат низких температур в весенний период может вызвать изменение жирнокислотного состава липидов, влекущее за собой физическое изменение состояния гидрофобного мембранного матрикса. В связи с этим можно предположить, что накопление ненасыщенных жирных кислот в тычиночных соцветиях свидетельствует о включении биохимических механизмов их адаптации к изменениям погодных условий, наблюдаемым в ранневесенний период.

В дальнейшем, по мере накопления суммы положительных температур, жирнокислотный состав тычиночных соцветий березы повислой значительно изменился, и к их разрыхлению (II фаза развития) во фракции нейтральных липидов доля насыщенных жирных кислот возросла в 1,7 раза и составила более 70 %, а ненасыщенных – уменьшилась почти вдвое (см. рис. 1, а, фаза II и III). Отличительной особенностью фосфолипидов явилась устойчивость в соотношении жирных кислот в сторону ненасыщенных, несмотря на некоторое повышение доли насыщенных жирных кислот ко времени вскрывания пыльников (см. рис. 1, б, фаза II и III). В гликолипидах наблюдалось относительное выравнивание доли ненасыщенных и насыщенных жирных кислот с преобладанием последних не более чем на 10 % (см. рис. 1, в, фаза II и III). По значениям эти данные соответствуют жирнокислотному составу липидов в женских сережках, зафиксированному в период от рецептивного периода развития цветков до их оплодотворения [Ветчинникова и др., 2013].

Таблица 2. Доля насыщенных жирных кислот по фракциям липидов в мужских соцветиях березы повислой, в % от их суммы (средние данные)

Table 2. Proportion of saturated fatty acids in the fractions of lipids in the male inflorescences of the *Betula pendula* Roth (in % of their amount) (average data)

Жирные кислоты Fatty acids	Фаза развития мужских соцветий Phase of male inflorescences development					
	освобождение от наружного покрова release from the outer cover			разрыхление и вскрывание пыльников loosening and opening of anthers		
	Фракции липидов Fraction of lipids					
	НЛ NL	ФЛ PL	ГЛ GL	НЛ NL	ФЛ PL	ГЛ GL
Пальмитиновая C _{16:0} Palmitic C _{16:0}	21,3 ± 1,6	28,5 ± 1,9	20,2 ± 1,2	39,8 ± 1,3	32,3 ± 0,9	29,2 ± 1,6
Стеариновая C _{18:0} Stearic C _{18:0}	7,2 ± 0,8	1,9 ± 0,1	4,5 ± 0,4	4,0 ± 0,2	2,7 ± 0,2	3,9 ± 0,4
Арахидовая C _{20:0} Arachidic C _{20:0}	11,0 ± 0,9	1,2 ± 0,2	5,5 ± 0,5	13,5 ± 0,4	1,0 ± 0,1	9,4 ± 0,9
Бегеновая C _{22:0} Behenic C _{22:0}	5,1 ± 0,7	1,3 ± 0,2	6,5 ± 0,5	15,3 ± 0,6	3,5 ± 0,1	11,8 ± 1,0

Во всех фракциях липидов среди насыщенных жирных кислот основной была пальмитиновая кислота (C_{16:0}) (табл. 2). В весенний период она устойчиво накапливалась в фосфолипидах (около 30 % от суммы жирных кислот) независимо от фазы развития соцветий. В глико- и особенно в нейтральных липидах состав насыщенных жирных кислот был разнообразнее: кроме пальмитиновой кислоты более 30 % в сумме составили стеариновая (C_{18:0}), арахидовая (C_{20:0}) и бегеновая (C_{22:0}) жирные кислоты (см. табл. 2). Причем к началу вскрывания пыльников в липидах мужских соцветий доля пальмитиновой кислоты увеличилась в нейтральных липидах вдвое и достигла 40 % от суммы жирных кислот, а в гликолипидах – в 1,5 раза, что составило 30 % от суммы жирных кислот. Следует также отметить существенное увеличение в этот период доли бегеновой жирной кислоты в нейтральных и гликолипидах (15,3 и 11,8 % от суммы жирных кислот соответственно), тогда как в фосфолипидах она не превышала 3,5 %.

Показано, что к моменту цветения березы повислой в мужских соцветиях значительно снизилось соотношение U/S. Так, во фракции гликолипидов его значения уменьшились вдвое, а в нейтральных липидах даже в 3 раза (табл. 3). По всей вероятности, пыльцевые зерна, сформировавшиеся в мужских соцветиях ко времени их разрыхления, имеют низкую физиологическую активность, а мембраны находятся в состоянии геля и практически не функционируют [Лось, 2005]. В дальнейшем, после попадания пыльцы на рыльце пестика насыщенные жирные кислоты выполняют субстрат-

Таблица 3. Коэффициент ненасыщенности (U/S) и индекс двойной связи (DBI) отдельных фракций липидов в мужских соцветиях березы повислой

Table 3. Unsaturation coefficient (U/S) and double bond index (DBI) of individual lipid fractions in male inflorescences of the *Betula pendula* Roth

Фаза развития мужских соцветий Phase of male inflorescences development	U/S			DBI		
	НЛ NL	ФЛ FL	ГЛ GL	НЛ NL	ФЛ FL	ГЛ GL
I – освобождение от наружного покрова I – release from the outer cover	1,2	2,0	1,7	1,2	1,6	1,5
II – разрыхление II – loosening	0,4	1,5	0,8	0,6	1,3	1,0
III – вскрывание пыльников III – opening of anthers	0,4	1,5	0,9	0,5	1,3	1,1

ную и/или энергетическую роль, обеспечивая рост пыльцевой трубки и микрогаметогенез, который у березы происходит после опыления [Некрасова, 1983]. Активизация метаболических процессов может усиливаться и в связи с развитием зиготы [Shivanna, 1979; Heslop-Harrison, 1982].

В фосфолипидах тычиночных соцветий также наблюдали снижение U/S, но оно носило слабовыраженный характер, и в результате ненасыщенные жирные кислоты сохранили доминирующие позиции (см. табл. 3). Обнаруженная устойчивость в накоплении ненасыщенных жирных кислот, вероятно, способствовала поддержанию физиологического состояния мужского гаметофита в течение длительного периода, поскольку тычиночные цветки, как правило, формируются раньше пестичных,

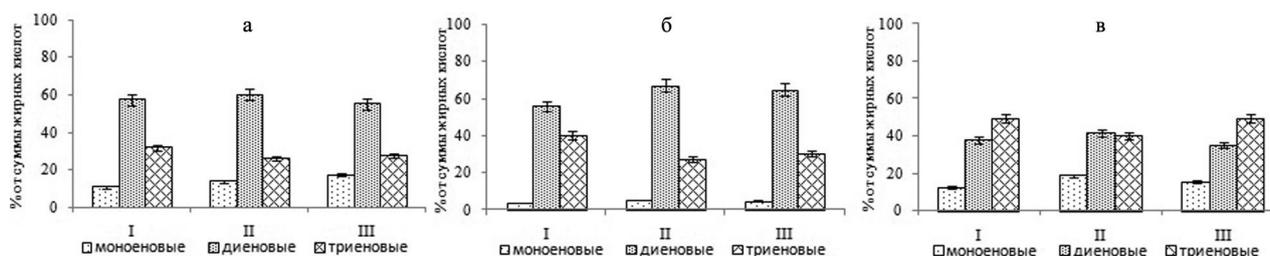


Рис. 2. Соотношение моно-, ди- и триеновых жирных кислот (в % от суммы жирных кислот) в нейтральных (а), фосфо- (б) и гликолипидах (в) мужских соцветий березы повислой в период их весеннего развития

Fig. 2. Ratio of mono-, di- and trienoic fatty acids (% of total fatty acids) in neutral (а), phospholipids (б) and glycolipids (в) of male inflorescences of the *Betula pendula* Roth with powdered acid during their spring development

а от момента опыления до оплодотворения у березы, как и у многих других представителей сем. *Betulaceae*, проходит около месяца [Некрасова, 1983]. Наряду с этим в весенний период (с фазы освобождения мужских соцветий от наружного покрова до вскрывания пыльников) отмечено существенное уменьшение значений U/S и DBI (см. табл. 3), что, по всей вероятности, обусловлено заметным повышением среднесуточных температур воздуха.

Согласно полученным данным, в весенний период в разных фракциях липидов мужских соцветий заметные различия выявлены в соотношении моно-, ди- и триеновых жирных кислот (рис. 2). В частности, в нейтральных и фосфолипиды устойчиво преобладали диеновые жирные кислоты (от 55 до 65 % от суммы жирных кислот соответственно) и триеновые (от 26 до 32 % от суммы жирных кислот соответственно) независимо от фазы весеннего развития мужских соцветий. Во фракции гликолипидов, напротив, зафиксировали преимущественное накопление триеновых (от 40 до 50 % от суммы жирных кислот) и диеновых (от 35 до 40 % от суммы жирных кислот). Моноеновые жирные кислоты (в основном олеиновая) присутствовали во всех фракциях липидов на всех этапах развития мужских соцветий, но их доля в нейтральных и гликолипидах составила от 11 до 19 % (от суммы жирных кислот), а в фосфолипидах – не более 5 %. По всей вероятности, такое относительно устойчивое соотношение отдельных групп ненасыщенных жирных кислот может свидетельствовать о сохранении физиологической роли липидов в поддержании гомеостаза клеток и тканей мужских соцветий в период их весеннего развития.

Ненасыщенные жирные кислоты в липидах мужских соцветий содержали преимущественно 18 атомов в углеродной цепочке и различались по количеству и положению двойных

связей. Так, во фракции нейтральных и фосфолипидов преобладала линолевая кислота (60 % и более от суммы жирных кислот), которая, кроме того, имела тенденцию к повышению в период от начала цветения мужских соцветий ко времени высыпания пыльцы из пыльников (II и III фазы), что особенно ярко было выражено во фракции фосфолипидов (рис. 3, а). Отличительной особенностью гликолипидов явилось высокое содержание линоленовой жирной кислоты (до 50 % и выше) (рис. 3, б), которая, по всей вероятности, не только предохраняет клетки мембран от холодового повреждения, но и является необходимым компонентом фотосинтетического аппарата. Она способствует уменьшению вязкости липидного бислоя тилакоидной мембраны, способствуя возрастанию скорости электронного транспорта в хлоропластах [Тихонов, 1999]. Более того, у березы из-за отсутствия листьев в период цветения в оптимизации фотосинтетической деятельности участвуют хлоропласты, содержащиеся в мужских соцветиях и придающие им зеленую окраску.

Различия, обнаруженные в содержании олеиновой кислоты ($C_{18:1}$) в отдельных фракциях липидов, по всей вероятности, обусловлены также функциональным состоянием мембран [Лось, 2005], поскольку данная кислота является субстратом для синтеза ди- и триеновых (линолевой и линоленовой) жирных кислот. Преобладание олеиновой кислоты во фракции гликолипидов (см. рис. 3, б) неслучайно, поскольку ее образование у растений происходит в строме хлоропластов [Лось, 2014]. Снижение вдвое доли олеиновой кислоты в гликолипидах к моменту освобождения пыльников свидетельствует о повышении активности ацил-липидной $\omega 3$ десатуразы, определяющей введение в углеводородную цепь жирных кислот третьей двойной связи, которое сопровождается увеличением линоленовой кислоты более чем на 10 % (см. рис. 3, б).

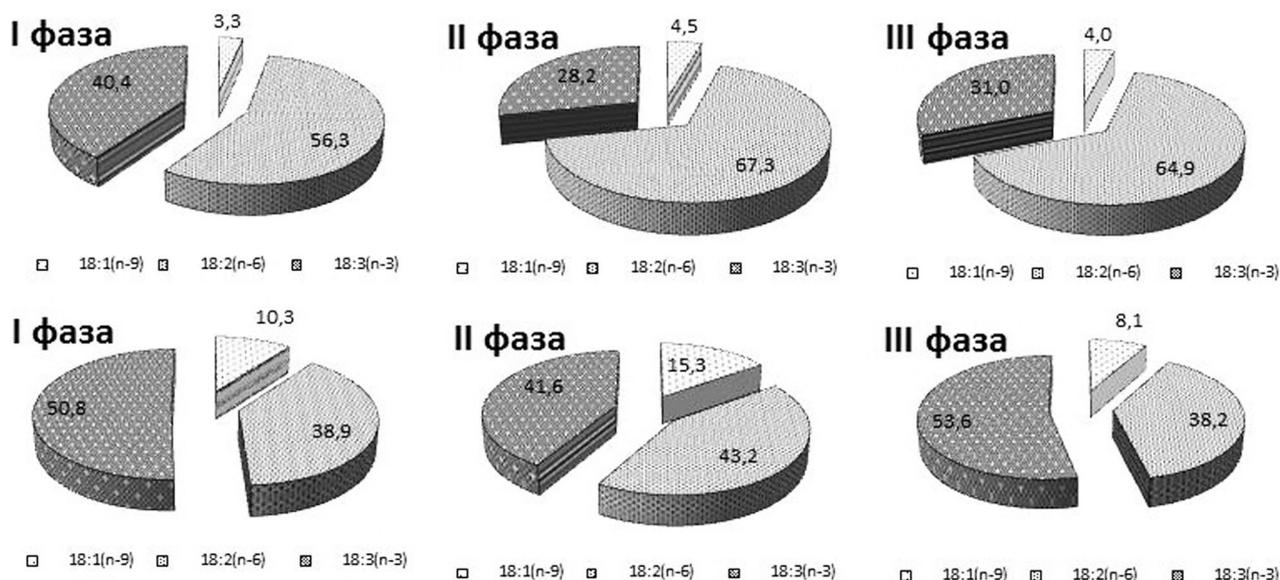


Рис. 3. Соотношение олеиновой ($C_{18:1}$), линолевой ($C_{18:2}$) и линоленовой ($C_{18:3}$) жирных кислот (в % от суммы жирных кислот) в фосфо- (а) и гликолипидах (б) мужских соцветий березы повислой в разные фазы их весеннего развития

Fig. 3. Ratio of oleic ($C_{18:1}$), linoleic ($C_{18:2}$) and linolenic ($C_{18:3}$) fatty acids (% of total fatty acids) in phospholipids (a) and glycolipids (б) of male inflorescences of the *Betula pendula* Roth in different phases of their spring development

Согласно результатам проведенных исследований, выявлена важная и незаменимая роль липидов в процессе развития мужских соцветий березы повислой в весенний период. При этом показано, что липиды в них используются не только как важные структурные элементы и энергетический ресурс для формирования мужского гаметофита, но и для его защиты от воздействия неблагоприятных погодных условий в весенний период.

Заключение

Сравнительный анализ динамики содержания и жирнокислотного состава разных фракций липидов в мужских соцветиях березы повислой *Betula pendula* Roth показал, что в начальную фазу их цветения (освобождения от наружного покрова) сумма ненасыщенных жирных кислот вдвое превышает насыщенные, особенно во фракциях глико- и фосфолипидов, что свидетельствует о включении первичных биохимических механизмов адаптации тычиночных соцветий к возврату низких положительных или отрицательных температур в весенний период. В процессе дальнейшего развития мужских соцветий насыщенные жирные кислоты, накапливаемые преимущественно во фракции нейтральных липидов (более 70 % от суммы жирных кислот), по-видимому, выполняют субстратную и/или энергетическую роль, обеспечивая жизнеспособность пыльце-

вых зерен в период их свободного существования до момента попадания на рыльце пестика женских цветков. Устойчивое преобладание диеновых жирных кислот в фосфолипидах (около 65 % от суммы жирных кислот) позволяет сохранить текучесть мембран мужского гаметофита на его физиологически необходимом уровне до начала оплодотворения. Отличительной особенностью гликолипидов мужских соцветий, содержащих хлоропласты, является повышенное содержание линоленовой кислоты (до 50 % от суммы жирных кислот и выше), которая, по всей вероятности, является необходимым компонентом в оптимизации слабо-выраженной фотосинтетической деятельности в период цветения березы, происходящего до начала процесса формирования фотосинтезирующей ткани листовой пластинки или одновременно с ним. Не исключено также, что содержание липидов и их жирнокислотный состав могут влиять на скорость опадения мужских соцветий после цветения. Так, в отдельные годы, вероятно, в случае недостатка энергетических запасов на формирование отделяющего слоя, мужские сережки не опадают, а только засыхают, оставаясь на деревьях до осени, а иногда и дольше.

На основании полученных результатов можно предположить, что в липидном обмене стратегия развития мужских соцветий березы повислой *Betula pendula* Roth в весенний период направлена, с одной стороны, на успешное

прохождение этапа цветения и формирование фертильной пыльцы, а с другой – на предохранение мужского гаметофита от воздействия возвратных весенних заморозков, которые часто наблюдаются в конце апреля – начале мая как в Карелии, так и на других территориях в границах ее ареала. Проведенные исследования позволили установить роль липидов в осуществлении данной стратегии.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0220-2017-0003).

Литература

- Алаудинова Е. В.* Экологические особенности низкотемпературной адаптации лесообразующих хвойных видов Сибири: структурно-химические изменения меристем почек: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Красноярск, 2011. 36 с.
- Алаудинова Е. В., Миронов П. В.* Липиды меристем лесообразующих хвойных пород Центральной Сибири в условиях низкотемпературной адаптации. 2. Особенности метаболизма жирных кислот фосфолипидов меристем *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. и *Pinus sylvestris* L. // Химия растительного сырья. 2009. № 2. С. 71–76.
- Ветчинникова Л. В., Серебрякова О. С., Ильинова М. К.* Динамика содержания липидов и жирнокислотного состава отдельных фракций в женских сережках березы повислой *Betula pendula* Roth // Труды КарНЦ РАН. 2013. № 3. С. 74–81.
- Войников В. К.* Митохондрии растений при температурном стрессе. Новосибирск: Гео, 2011. 163 с.
- Кайгородова М. С.* Экология цветения и опыления *Betula pana* L. на Полярном Урале // Ботанический журнал. 1975. Т. 60, № 10. С. 1466–1470.
- Каледа В. М.* Биология плодоношения березы в условиях Новосибирской области // Плодоношение лесных пород Сибири. Новосибирск: Наука, 1982. С. 117–129.
- Каледа В. М.* Биология плодоношения березы повислой (*Betula pendula* Roth) в лесостепных районах Западной Сибири: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Красноярск, 1984. 20 с.
- Лось Д. А.* Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестник РАН. Т. 75, № 4. 2005. С. 338–345.
- Лось Д. А.* Десатуразы жирных кислот. М.: Научный мир, 2014. 372 с.
- Любушкина И. В., Кириченко К. А., Грабельных О. И., Побежимова Т. П., Федяева А. В., Степанов А. В., Войников В. К.* Роль изменений жирнокислотного состава клеток в процессе повышения морозоустойчивости суспензионной культуры озимой пшеницы // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2013. No. 4. P. 220–229.
- Мауринь А. М.* Семеношение древесных экзотов в Латвийской ССР. Рига: Звайгзне, 1967. 207 с.
- Махнев А. К.* Внутривидовая изменчивость уральских берез по биологическим свойствам семян // Структура популяций и устойчивость растений на Урале. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1978. С. 11–62.
- Некрасова Т. П.* Пыльца и пыльцевой режим хвойных Сибири. Новосибирск: Наука, 1983. 169 с.
- Николаевская Т. С., Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Лебедева О. Н.* Изучение пыльцы у абортгенных и интродуцированных в условия Карелии представителей рода *Betula* L. // Труды КарНЦ РАН. 2009. № 9. С. 90–95.
- Пардаева Е. Ю., Машкина О. С., Попов В. Н.* Состояние генеративной сферы *Pinus sylvestris* L. по данным цитогенетического анализа в условиях изменяющегося климата на территории Воронежской области // Сиб. экол. журн. 2017. С. 313–320.
- Погиба С. П., Погиба П. А.* Особенности плодоношения карельской березы при интродукции в Московской области // Лесной вестник. 2006. № 5. С. 109–112.
- Романова И. М., Живетьева М. А., Дударева Л. В., Граскова И. А.* Динамика жирнокислотного состава и активности ацил-липидных десатураз в хвое *Pinus sylvestris* L., произрастающей в Иркутской области // Химия растительного сырья. 2016. № 2. С. 61–66. doi: 10.14258/jcrpm.201602732
- Сиймер Э. Х., Таугс О. В., Мейстер К. Э.* Рассчитанные значения ЭДЦ cis-полиеновых метилен-разделенных жирных кислот // Тр. Таллинского политех. ин-та. Серия А. 1971. № 300. С. 73–78.
- Тихонов А. Н.* Защитные механизмы фотосинтеза // Соросовский образоват. журнал. 1999. № 11. С. 16–21.
- Третьякова И. Н., Носкова Н. Е.* Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса // Экология. 2004. № 1. С. 26–33.
- Фролова Г. Д.* Вопросы биологии цветения некоторых берез // Ботанический журнал. 1956. Т. 41, № 6. С. 1834–1844.
- Юсуфов А. Г.* Значение вегетативного размножения в прогрессивной эволюции растений // Закономерности прогрессивной эволюции. Л., 1972. С. 393–399.
- Bonome L., Moreira S., Oliveira L., Sotero A.* Metabolism of carbohydrates during the development of seeds of the Brazilian rubber tree (*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex ADR. De Juss) Muell.-Arg.) // Acta Physiologiae Plantarum. 2011. Vol. 33, iss. 1. P. 211–219. doi: 10.1007/s11738-010-0540-8
- Famiani F., Casulli V., Baldicchi A., Battistelli A., Moscatello S., Walker R. P.* Development and metabolism of the fruit and seed of the Japanese plum Ozark premier (*Rosaceae*) // Journal of Plant Physiology. 2012. Vol. 169, iss. 6. P. 551–560. doi: 10.1016/j.jplph.2011.11.020
- Hawkins Ch. D. B., Dhar A.* Spring bud phenology of *Betula papyrifera* populations in British Columbia // Scandinavian Journal of Forest Research. 2012. Vol. 27, iss. 6. P. 507–519.
- Heslop-Harrison J.* Pollen-stigma interaction and cross-incompatibility in the grasses // Science. 1982. Vol. 215, no. 4538. P. 1358–1364.

Lyons J. M., Wheaton T. A., Pratt H. K. Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants // *Plant Physiol.* 1964. Vol. 39, no. 2. P. 262–268.

Niemistö P., Viherä-Aarnio A., Velling P., Heräjärvi H., Verkasalo E. Koivun karvatus ja käyttö. Hämeenlinna: Karisto Oy, 2008. 254 p.

Piispanen R., Saranpää P. Neutral lipids and phospholipids in Scots pine (*Pinus sylvestris*) sapwood and heartwood // *Tree Physiology.* 2002. Vol. 22. P. 661–666. doi: 10.1093/treephys/22.9.661

Rousi M., Heinonen Ja. Temperature sum accumulation effects on within-population variation and long-term trends in date of bud burst of European white birch (*Betula pendula*) // *Tree Physiology.* 2007. Vol. 27. P. 1019–1025. doi: 10.1093/treephys/27.7.929

Sarvas R. On the flowering of birch and quality of seed crop // *Commun. Inst. Forest. Fenn. Helsinki.* 1952. Vol. 40(7). P. 1–38.

Schaffer A. A., Petreikov M. Sucrose-to-Starch Metabolism in Tomato Fruit Undergoing Transient Starch Accumulation // *Plant Physiol.* 1997. Vol. 113, no. 3. P. 739–746.

Shivanna K. R. Recognition and rejection phenomena during pollen-pistil interaction // *Proc. Indian Acad. Sci. B.* 88, no. 2. Part. 2. 1979. P. 115–141.

Simola L. K., Koskimies-Soininen K. Comparison of Glycolipids and Plastids in Callus Cells and Leaves of *Alnus* and *Betula* // *Plant and Cell Physiol.* 1984. Vol. 25, no. 8. P. 1329–1340.

Поступила в редакцию 06.04.2018

References

Alaudinova E. V. Ekologicheskie osobennosti nizkotemperaturnoi adaptatsii lesoobrazuyushchikh khvoinykh vidov Sibiri: strukturno-khimicheskie izmeneniya meristem pochek [Ecological features of low-temperature adaptation of forest-forming coniferous species in Siberia: structural and chemical changes in bud meristems]: Summary of DSc (Dr. of Biol.) thesis. Krasnoyarsk, 2011. 36 p.

Alaudinova E. V., Mironov P. V. Lipidy meristem lesoobrazuyushchikh khvoinykh porod Tsentralnoi Sibiri v usloviyakh nizkotemperaturnoi adaptatsii. 2. Osobennosti metabolizma zhirnykh kislot fosfolipidov meristem *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. i *Pinus sylvestris* L. [Lipids of forest-forming coniferous species meristems of the Central Siberia under low-temperature adaptation. 2. Features of fatty acids metabolism of *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* L. and *Pinus sylvestris* L. meristems phospholipids]. *Khimiya rastitel'nogo syria* [Chem. of Plant Raw Material]. 2009. No. 2. P. 71–76.

Frolova G. D. Voprosy biologii tsveteniya nekotorykh berez [Issues of biology of some birches flowering]. *Bot. zhurn.* [Bot. J.]. 1956. Vol. 41, no. 6. P. 1834–1844.

Kaigorodova M. S. Ekologiya tsveteniya i opyleniya *Betula nana* L. na Polyarnom Urale [Ecology of flowering and pollination of *Betula nana* L. in the Polar Urals]. *Bot. zhurn.* [Bot. J.]. 1975. Vol. 60, no. 10. P. 1466–1470.

Kaleda V. M. Biologiya plodonosheniya berezy v usloviyakh Novosibirskoi oblasti [Biology of birch fruiting in the conditions of the Novosibirsk Region]. *Plodonosheniye lesnykh porod Sibiri* [Fruiting of Forest Species of Siberia]. Novosibirsk: Nauka, 1982. P. 117–129.

Kaleda V. M. Biologiya plodonosheniya berezy povisloi (*Betula pendula* Roth) v lesostepnykh raionakh Zapadnoi Sibiri [Biology of fruiting of the silver birch (*Betula pendula* Roth) in forest-steppe areas of Western Siberia]: Summary of PhD (Cand. of Agr.) thesis. Krasnoyarsk, 1984. 20 p.

Los' D. A. Molekulyarnye mekhanizmy kholodoustoichivosti rastenii [Molecular mechanisms of plant cold tolerance]. *Vestnik RAN* [Herald of the RAS]. Vol. 75, no. 4. 2005. P. 338–345.

Los' D. A. Desaturazy zhirnykh kislot [Desaturases of fatty acids]. Moscow: Nauchnyy mir, 2014. 372 p.

Lyubushkina I. V., Kirichenko K. A., Grabel'nykh O. I., Pobezhimova T. P., Fedyaeva A. V., Stepanov A. V., Voinikov V. K. Rol' izmenenii zhirnokislotojnogo sostava kletok v protsesse povysheniya morozoustoichivosti suspenzionnoi kul'tury ozimoi pshenitsy [Role of changes in cell fatty acids composition in the increasing of frost resistance of winter wheat suspension culture]. *J. of Stress Physiol. and Biochem.* 2013. No. 4. P. 220–229.

Maurin' A. M. Semenosheniye drevesnykh ekzotov v Latviiskoi SSR [Seed production of exotic forest species in the Latvian SSR]. Riga: Zvaygzne, 1967. 207 p.

Makhnev A. K. Vnutrividovaya izmenchivost' ural'skikh berez po biologicheskim svoistvam semyan [Intraspecies variability of the Urals birches by biological properties of seeds]. *Struktura populyatsii i ustoychivost' rastenii na Urale* [Structure of Plant Population and Resistance in the Urals]. Sverdlovsk: UNTs AN SSSR, 1978. P. 11–62.

Nekrasova T. P. Pyl'tsa i pyl'tsevoi rezhim khvoinykh Sibiri [Pollen and pollen regime of conifers in Siberia]. Novosibirsk: Nauka, 1983. 169 p.

Nikolaevskaya T. S., Vetchinnikova L. V., Titov A. F., Lebedeva O. N. Izuchenie pyl'tsy u aborigennykh i introdutsirovannykh v usloviya Karelii predstavitelei roda *Betula* L. [Study of pollen in native and introduces *Betula* L. species in Karelia]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2009. No. 9. P. 90–95.

Pardayeva E. Yu., Mashkina O. S., Popov V. N. Sostoyanie generativnoi sfery *Pinus sylvestris* L. po dannym tsitogeneticheskogo analiza v usloviyakh izmenyayushchegosya klimata na territorii Voronezhskoi oblasti [State of *Pinus sylvestris* L. generative sphere according to cytogenetic analysis in changing climate conditions in the territory of Voronezh Oblast]. *Sib. ekol. zhurn.* [Contemporary Probl. of Ecol.]. 2017. No. 3. P. 313–320.

Pogiba S. P., Pogiba P. A. Osobennosti plodonosheniya karel'skoi berezy pri introduktsii v Moskovskoi oblasti [Fructification specifics of Karelian birch introduced in the Moscow Region]. *Lesnoi vestnik* [Forestry Bull.]. 2006. No. 5. P. 109–112.

Romanova I. M., Zhivet'eva M. A., Dudareva L. V., Graskova I. A. Dinamika zhirnokislotojnogo sostava i ak-

тивности ацил-липидных десатураз в хвое *Pinus sylvestris* L., произрастайущей в Иркутской области [Variation of fatty acid composition and activity of acyl-lipid desaturases of *Pinus sylvestris* L. needles growing in the Irkutsk Region]. *Khimiya rastitel'nogo syria* [Chem. of Plant Raw Material]. 2016. No. 2. P. 61–66. doi: 10.14258/jcprm.201602732

Siimer E. Kh., Tauts O. V., Meister K. E. Rasshchitannye znacheniya EDTs cis-poliennykh metilenzrazdelennykh zhirnykh kislot [Calculated ELC values of cis-polyene methylene divided fatty acids]. *Tr. Tallinskogo politekhn. in-ta*. Ser. A [Proceed. Tallin Polytech. Inst. Ser. A]. 1971. No. 300. P. 73–78.

Tikhonov A. N. Zashchitnye mekhanizmy fotosinteza [Protection mechanisms of photosynthesis]. *Sorosovskii obrazovat. zhurn.* [Soros Educ. J.]. 1999. No. 11. P. 16–21.

Tret'yakova I. N., Noskova N. E. Pyl'tsa sosny obyknovЕННОй v usloviyakh ekologicheskogo stressa [Pollen of the Scots pine under ecological stress]. *Ekologiya* [Russ. J. Ecol.]. 2004. No. 1. P. 26–33.

Vetchinnikova L. V., Serebryakova O. S., Ilinova M. K. Dinamika soderzhaniya lipidov i zhirnokislotochnogo sostava otdel'nykh fraktsii v zhenskikh serezhkakh berezy povisloi *Betula pendula* Roth [Dynamics of the lipid content and the fatty acid composition of some lipid fractions in female catkins of *Betula pendula* Roth]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2013. No. 3. P. 74–81.

Voinikov V. K. Mitokhondrii rastenii pri temperaturnom stresse [Mitochondria of plants under temperature stress]. Novosibirsk: Geo, 2011. 163 p.

Yusufov A. G. Znachenie vegetativnogo razmnozheniya v progressivnoi evolyutsii rastenii [Role of vegetative reproduction in progressive plant evolution]. *Zakonomenosti progressivnoi evolyutsii* [Patterns of Progressive Evolution]. Leningrad, 1972. P. 393–399.

Bonome L., Moreira S., Oliveira L., Sotero A. Metabolism of carbohydrates during the development of seeds of the Brazilian rubber tree (*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex ADR. De Juss) Muell.-Arg.). *Acta Physiologiae Plantarum*. 2011. Vol. 33, iss. 1. P. 211–219. doi: 10.1007/s11738-010-0540-8

Famiani F., Casulli V., Baldicchi A., Battistelli A., Moscatello S., Walker R. P. Development and me-

tabolism of the fruit and seed of the Japanese plum Ozark premier (*Rosaceae*). *Journal of Plant Physiology*. 2012. Vol. 169, iss. 6. P. 551–560. doi: 10.1016/j.jplph.2011.11.020

Hawkins Ch. D. B., Dhar A. Spring bud phenology of *Betula papyrifera* populations in British Columbia. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2012. Vol. 27, iss. 6. P. 507–519.

Heslop-Harrison J. Pollen-stigma interaction and cross-incompatibility in the grasses. *Science*. 1982. Vol. 215, no. 4538. P. 1358–1364.

Lyons J. M., Wheaton T. A., Pratt H. K. Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants. *Plant Physiol*. 1964. Vol. 39, no. 2. P. 262–268.

Niemistö P., Viherä-Aarnio A., Velling P., Heräjärvi H., Verkasalo E. Koivun karvatus ja käyttö. Hämeenlinna: Karisto Oy, 2008. 254 p.

Pispanen R., Saranpää P. Neutral lipids and phospholipids in Scots pine (*Pinus sylvestris*) sapwood and heartwood. *Tree Physiology*. 2002. Vol. 22. P. 661–666. doi: 10.1093/treephys/22.9.661

Rousi M., Heinonen Ja. Temperature sum accumulation effects on within-population variation and long-term trends in date of bud burst of European white birch (*Betula pendula*). *Tree Physiology*. 2007. Vol. 27. P. 1019–1025. doi: 10.1093/treephys/27.7.929

Sarvas R. On the flowering of birch and quality of seed crop. *Commun. Inst. Forest. Fenn. Helsinki*. 1952. Vol. 40(7). P. 1–38.

Schaffer A. A., Petreikov M. Sucrose-to-Starch Metabolism in Tomato Fruit Undergoing Transient Starch Accumulation. *Plant Physiol*. 1997. Vol. 113, no. 3. P. 739–746.

Shivanna K. R. Recognition and rejection phenomena during pollen-pistil interaction. *Proc. Indian Acad. Sci. B*. 1979. Vol. 88, no. 2. Part 2. P. 115–141.

Simola L. K., Koskimies-Soininen K. Comparison of Glycolipids and Plastids in Callus Cells and Leaves of *Alnus* and *Betula*. *Plant and Cell Physiol*. 1984. Vol. 25, no. 8. P. 1329–1340.

Received April 06, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Серебрякова Оксана Сергеевна

младший научный сотрудник
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: serebro@krc.karelia.ru

Ветчинникова Лидия Васильевна

заведующая лаб. лесных биотехнологий, д. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vetchin@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

CONTRIBUTORS:

Serebryakova, Oksana

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

Vetchinnikova, Lidia

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

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОДЕРЖАНИЕ мРНК ГЕНОВ *HSP70*, *BiP*, *IRE1* В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ

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

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Исследовали влияние высоких температур на рост листьев, их оводненность, теплоустойчивость клеток листьев и содержание мРНК генов *HSP70*, *BiP*, *IRE1* у недельных проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Установлено, что температура 33 °С не вызывает существенных изменений в ростовых процессах листьев, приводит к небольшому повышению теплоустойчивости и не влияет на оводненность тканей листа, т. е. действует на растения условно как «мягкий» стресс. Температура 37 °С приводила к большему торможению роста листьев и более быстрому повышению теплоустойчивости растений, но также не влияла на оводненность тканей листа, т. е. действовала как «средний» стресс. Воздействие температуры 43 °С вызывало «жесткий» стресс, который приводил к полной остановке роста листьев, снижению оводненности тканей листа и теплоустойчивости, а через 3 сут – к гибели растений. При действии всех изученных температур – 33, 37 и 43 °С – в клетках листьев проростков зафиксированы определенные изменения уровня транскриптов генов *HSP70*, *BiP*, *IRE1*, кодирующие белки, которые участвуют в упаковке белковых молекул. Причем характер изменения содержания мРНК генов *BiP* и *IRE1* зависел от абсолютного значения используемой в эксперименте температуры. Изучение динамики содержания транскриптов генов *BiP* и *IRE1*, рассматриваемых в качестве маркеров стресса эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресса), показало, что при 33 °С их уровень снижается и, следовательно, развитие ЭР-стресса не происходит. Усиление интенсивности высоко-температурного воздействия до 37 °С, напротив, приводило к накоплению транскриптов этих генов, видимо, отражая начальное развитие ЭР-стресса. Температура 43 °С, очевидно, также вызывала развитие ЭР-стресса, и при этом первоначально тоже наблюдалось накопление транскриптов гена *BiP*, но из-за отсутствия неотъемлемого компонента *IRE1* система контроля качества белка в этом случае, по-видимому, не могла работать полноценно. Исходя из полученных данных сделан вывод, что изменение содержания мРНК генов *HSP70*, *BiP* и *IRE1* играет важную роль в развитии теплоустойчивости растений пшеницы и защите клеток от ЭР-стресса, обусловленного действием высоких температур.

Ключевые слова: высокие температуры; *Triticum aestivum* L.; теплоустойчивость; оводненность; накопление транскриптов генов *HSP70*, *BiP*, *IRE1*.

I. A. Nilova, A. F. Titov, L. V. Topchieva. THE INFLUENCE OF HIGH TEMPERATURES ON SOME PHYSIOLOGICAL INDICES AND THE CONTENT OF *HSP70*, *BiP*, *IRE1* GENES mRNA IN WHEAT LEAVES

The effect of high temperatures on the growth of leaves, their water content, heat tolerance and dynamics of *HSP70*, *BiP*, *IRE1* genes transcription was investigated in 7-day-old

seedlings of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) variety Moskowskaya 39. It was found that a temperature of 33 °C causes a slight inhibition of leaf growth and some increase in the heat tolerance of their cells, but does not affect the water content of the leaf tissues, i. e. acts as a “mild” stress for the plants. The temperature of 37 °C led to a greater inhibition of leaf growth and a faster increase in the heat resistance of the plants, but did not affect the water content of leaf tissues either, i. e. acted as a “moderate” stress. Exposure to the temperature of 43 °C caused “severe” stress, which terminated leaf growth altogether, reduced the water content of leaf tissues and heat tolerance, and after 3 days resulted in the plant death. All the treatments (exposures to 33, 37 and 43 °C temperatures) led to changes in the transcription of the genes *HSP70*, *BiP*, *IRE1*, which encode the proteins involved in the folding of protein molecules, in the leaves of the seedlings. The nature of the change in the *BiP* and *IRE1* mRNA levels depended on the absolute values of the temperatures used in the experiment. The analysis of changes in the transcription levels of the *BiP* and *IRE1* genes, which are considered to be markers of endoplasmic reticulum stress (ER stress), has demonstrated that their transcription at 33 °C declined, proving the absence of ER stress. Intensification of the high-temperature exposure to 37 °C, on the contrary, leads to an accumulation of transcripts of these genes, obviously reflecting the onset of ER-stress. The temperature of 43 °C apparently also caused the development of ER-stress, since in this case the accumulation of *BiP* gene transcripts was initially observed, but the absence of an integral component of *IRE1* probably prevented the protein quality control system from functioning properly. Based on the data obtained, it was concluded that changes in the content of *HSP70*, *BiP* and *IRE1* mRNA play an important role in the development of the heat resistance of wheat plants and the protection of cells from ER stress in response to high temperatures.

Key words: high temperature; *Triticum aestivum* L.; heat tolerance; water content; accumulation of *HSP70*, *BiP*, *IRE1* gene transcript.

Введение

Действие высоких температур, так же как и других абиотических стресс-факторов, может вызывать в клетках растений накопление неправильно синтезированных белков, или белков с неправильной пространственной упаковкой [Tuedmers et al., 2010; Fanata et al., 2013]. В этом случае выживание и жизнедеятельность растений во многом будет зависеть от эффективности работы системы контроля качества белка. Важнейшими ее компонентами являются шапероны и некоторые другие белки цитозоля и эндоплазматического ретикулума (ЭР). К наиболее значимым представителям шаперонов относят группу белков теплового шока (heat shock proteins – HSP). В частности, в эту группу входят цитоплазматический белок *HSP70* и белок ЭР – *BiP*. Связываясь с полипептидами, они обеспечивают их стабилизацию, способствуют правильной укладке и предотвращают их агрегацию. В условиях стресса, когда в клетках происходит активация синтеза стрессовых белков, может происходить сбой в работе так называемой «фолдинговой машины» и накопление в полости ЭР несвернутых правильным образом белков, т. е. белков, не способных выполнять свои функции. Это состояние характеризуется как стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресс). О развитии ЭР-стресса свиде-

тельствуем повышение активности фермента *IRE1* (inositol-requiring enzyme 1) [Pu, Bassham, 2013], который участвует в процессе альтернативного сплайсинга мРНК *bZIP60*. В результате синтезируется активный *bZIP60*, который вместе с другими ТФ (*bZIP17* и *bZIP28*) запускает синтез различных белков-шаперонов [Liu et al., 2007a, b; Mittler et al., 2012; Wan, Jiang, 2016]. Успешная реализация процессов, направленных на защиту клеток растений от ЭР-стресса, может играть значительную роль в формировании устойчивости растений и, по-видимому, зависит от напряженности действующего фактора (т. е. от абсолютного значения температуры, действующей на растения, и продолжительности ее действия). Ранее мы показали, что характер изменения теплоустойчивости растений пшеницы и ее уровень, достигаемый в ответ на высокотемпературные воздействия разной интенсивности, существенно различаются между собой [Нилова, Титов, 2014]. Ее стабильно высокий уровень позволяет растениям противостоять негативным эффектам прогрева при температурах 33 и 37 °C, которые относятся для пшеницы к закалывающим (субповреждающим) температурам. Снижение устойчивости растений после продолжительного действия температуры 43 °C, которая является повреждающей для данного объекта, губительно для них, так как чаще всего приводит

в итоге к их гибели. Весьма вероятно, что в этих случаях эффективность работы системы контроля качества белков в клетках, судить о которой можно по уровню экспрессии и активности белков-шаперонов цитозоля и ЭР, будет разной. Однако сведения о характере изменения содержания транскриптов генов, кодирующих белки ответа на ЭР-стресс при действии высоких температур, практически отсутствуют. В связи с этим целью данной работы явилось изучение некоторых физиологических показателей и особенности экспрессии генов *BiP*, *HSP70* и *IRE1* при действии высоких температур – 33, 37 и 43 °С, оказывающих разный эффект на теплоустойчивость растений пшеницы.

Материалы и методы

Исследования проводили на проростках озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе в течение 7 сут с добавлением микроэлементов (рН 6,2–6,4) в камере искусственного климата при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности ФАР 180 мкмоль/ (м²·с) и фотопериоде 14 ч. Затем недельные проростки подвергали воздействию температуры 33, 37 или 43 °С.

Продолжительность высокотемпературного воздействия составляла от 15 мин до 3 сут. В течение опыта измеряли динамику роста листьев растений и их оводненность.

Для изучения уровня транскриптов генов навеску из листьев (50 мг) фиксировали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора Extract RNA («Евроген», Россия). Количество и качество тотальной РНК определяли на спектрофотометре SmartSpec (Bio-Rad, США). Тотальную РНК обрабатывали ДНКазой (1 е. а). Первую цепь кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с М-MLV обратной транскриптазой и случайными гексапраймерами («Евроген», Россия). Количество и качество выделенной кДНК определяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec Plus (Bio-Rad, США). Уровень экспрессии генов растений оценивали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (Bio-Rad, США), используя набор для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green («Евроген», Россия). Праймеры («Евроген», Россия) для проведения ПЦР представлены в табл. 1. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 100 нг кДНК, по 1 пкМ прямого и обратного праймеров, 5 мкл реакцион-

ной смеси и 16 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. Протокол ПЦР: денатурация кДНК 5 мин при 95 °С; 40 циклов: денатурация при 95 °С 30 с; отжиг при 58 °С 30 с; элонгация при 72° 30 с. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов. Для оценки эффективности ПЦР строили стандартную кривую, используя разведения кДНК. Эффективность ПЦР составляла не менее 98 %. Относительный уровень экспрессии генов вычисляли по формуле:

$$\text{Относительный уровень экспрессии} = \frac{2^{\text{Ст (контрольный)}}}{2^{\text{Ст (тестовый образец)}}$$

где Ст – значение пороговых циклов.

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергавшихся действию высоких температур. В качестве референсного гена использовали актин.

Повторность в пределах одного опыта 3–6-кратная, а весь опыт повторяли не менее трех раз. Достоверность различий между средними значениями исследованных параметров определяли с помощью дисперсионного анализа (LSD-тест) в среде Microsoft Excel 2007. В статье обсуждаются величины, различающиеся между собой при $p < 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты

В табл. 2 и 3 представлены результаты влияния высокотемпературных воздействий разной интенсивности на рост 1-го и 2-го листьев соответственно.

Перенос растений из оптимальных условий (22 °С) в условия действия температуры 33, 37 или 43 °С приводил к торможению роста 1-го и 2-го листьев. При этом чем выше была температура, тем меньше был их прирост. Так, у контрольных растений (22 °С) на 5-е сут эксперимента прирост 1-го листа составлял 31 %, в варианте с температурой 33 °С – 26 %, при 37 °С – только 24 %, а при 43 °С рост листьев полностью прекращался и через 3 сут эксперимента растения погибали. Рост 2-го листа еще в большей степени зависел от интенсивности высокотемпературного воздействия: у контрольных растений (22 °С) на 5-е сут опыта его прирост достигал 262 %, при 33 °С – 92 %, а при 37 °С – только 66 %. При 43 °С рост 2-го листа полностью прекращался.

Таблица 1. Характеристика праймеров для ПЦР в режиме реального времени

Table 1. Characterization of primers for real-time PCR

Ген Gene	Номер доступа в базе NCBI Access number in the database NCBI	Праймер Primer	Последовательность праймера 5'→3' Sequence of primer 5'→3'
<i>BiP</i>	KC894715.1	прямой forward обратный reversed	GCTATTGCCTATGGTTTGGACCT TGCCGTGCTTCTTCT
<i>IRE1</i>	CX536022.1	прямой forward обратный reversed	GAAGAAGCCAGGAGATAA AAGCGGTTGATGTGATA
<i>HSP70</i>	AF005993.1	прямой forward обратный reversed	AGGAGGAGATTGAGAAGATGGTG GTCGTCCTTGACCGTGTG
<i>Actin</i>	AB181991	прямой forward обратный reversed	GCGACCTCACGGATAATCTAATG AACCTCCACTGAGAACAACATTAC

Таблица 2. Влияние высоких температур на суточный прирост 1-го листа пшеницы, % от контроля

Table 2. Effect of high temperatures on the daily increase of the 1st leaf of wheat, % of control

Температура, °C Temperature, °C	Экспозиция, сут Exposition, d					
	0	1	2	3	4	5
22 (контроль) (control)	100	115	127	130	131	131
33	100	118	122*	124*	126*	126*
37	100	111*	121*	123*	124*	124*
43	100	100	100	100	-	-

Примечание. Здесь и далее: * – отличия от контрольного уровня достоверны при $p \leq 0,05$. За 100 % принята длина 1-го листа ($14,3 \pm 1,7$ см) у семидневных проростков пшеницы, находящихся при 22 °C.

Note. Here and further: * – differences from control significant at level $p \leq 0.05$. For 100 % accepted the length of the 1st leaf ($14,3 \pm 1,7$ cm) in seven-day wheat seedlings at 22 °C.

Таблица 3. Влияние высоких температур на суточный прирост 2-го листа пшеницы, % от контроля

Table 3. Effect of high temperatures on the daily increase of the 2nd leaf of wheat, % of control

Температура, °C Temperature, °C	Экспозиция, сут Exposition, d					
	0	1	2	3	4	5
22 (контроль) (control)	100	141	190	145	311	362
33	100	122*	163*	164*	176*	192*
37	100	111*	118*	142*	152*	166*
43	100	100	100	100	-	-

Примечание. За 100 % принята длина 2-го листа ($7,1 \pm 1,9$ см) у семидневных проростков пшеницы, находящихся при 22 °C.

Note. For 100 % accepted the length of the 2nd leaf ($7,1 \pm 1,9$ cm) in seven-day wheat seedlings at 22 °C.

Установлено также, что у растений, находящихся при температуре 33 и 37 °C, оводненность тканей листьев не отличается от таковой в контроле. В отличие от этого после суточного воздействия температуры 43 °C зарегистрировано существенное снижение оводненности листьев (табл. 4).

Показано, что проростки пшеницы реагировали на действие высоких температур повышением теплоустойчивости, подробная динамика которой представлена нами в предыдущей работе [Нилова, Титов, 2014]. В частности, при температуре 33 °C наблюдали небольшой рост теплоустойчивости клеток листьев, но только

Таблица 4. Влияние высоких температур на оводненность тканей листа растений пшеницы, в %
 Table 4. Effect of high temperatures on water content of wheat leaf tissues, in %

Температура, °C Temperature, °C	Экспозиция, сут Exposition, d			
	0	1	2	3
33	90	90	89	91
37	90	88	88	88
43	90	84*	68*	60*

через 1 сут от начала прогрева. Ее максимальный уровень достигался через 2 сут эксперимента, и в дальнейшем он не изменялся. При переносе растений из оптимальных условий в условия температуры 37 °C уже через 1 ч наблюдали постепенный рост теплоустойчивости листьев, максимальный уровень которой зафиксирован через 1 сут прогрева, и он был существенно выше максимального значения, отмеченного при 33 °C. Под влиянием температуры 43 °C первоначально (15–30 мин) также был зафиксирован быстрый рост теплоустой-

чивости клеток листьев, но уже через 1 ч действия этой температуры происходило быстрое снижение устойчивости, а спустя 3 сут – гибель растений.

Уже через 15 мин от начала воздействия температур 33, 37 и 43 °C в клетках листьев проростков наблюдали статистически достоверное увеличение содержания транскриптов гена *HSP70*. Максимальный их уровень зафиксирован после часового действия указанных температур на растения. При более продолжительных высокотемпературных воздействиях отмечена тенденция к снижению мРНК *HSP70*.

Следует отметить, что содержание транскриптов гена *HSP70* при температурах 33 и 37 °C было примерно одинаковым, т. е. накопление транскриптов этого гена слабо зависело от абсолютного значения температуры (рис. 1), по крайней мере в пределах диапазона субповреждающих температур. Уровень экспрессии *HSP70* при температуре 43 °C был выше, чем при температурах 33 и 37 °C, только через 0,5, 1 и 6 ч от начала эксперимента и ниже – через 24 и 72 часа.

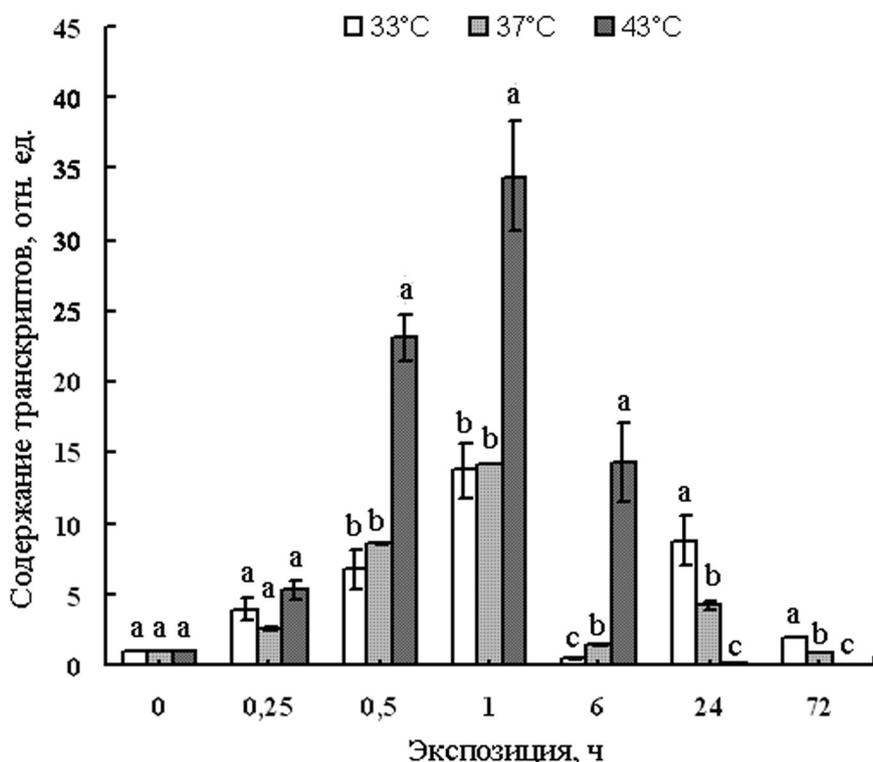


Рис. 1. Содержание транскриптов гена *HSP70* в листьях проростков пшеницы при действии температур 33, 37 и 43 °C

Здесь и далее: abc – различия между воздействиями в пределах каждой экспозиции

Fig. 1. The content of *HSP70* gene transcripts in leaves of wheat seedlings at temperatures of 33, 37 and 43 °C

Here and further: abc – the differences between the exposures within each exposure

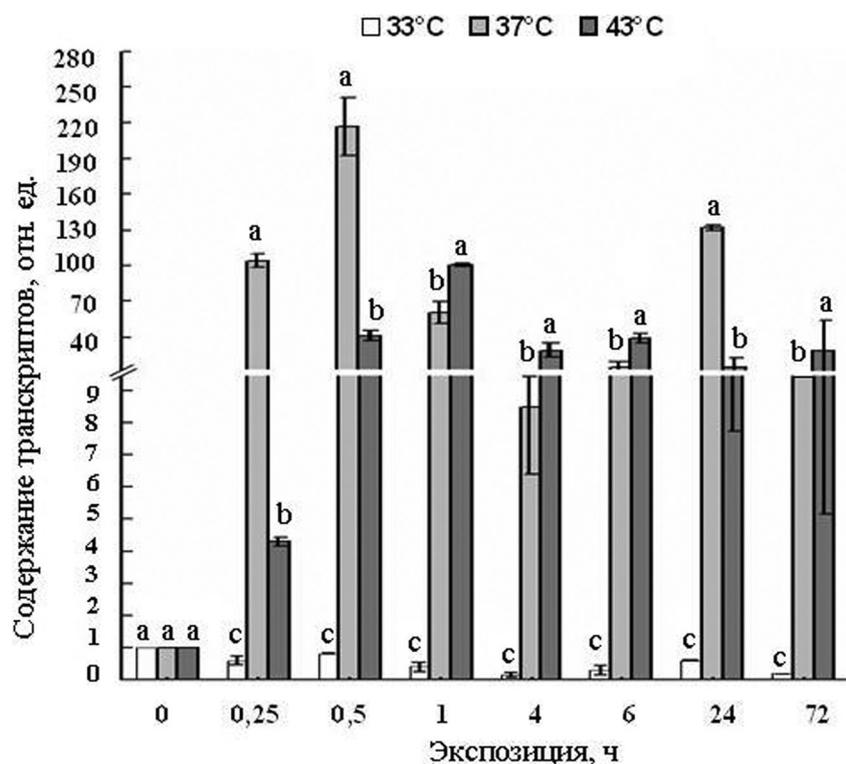


Рис. 2. Содержание транскриптов гена *BiP* в листьях проростков пшеницы при действии температур 33, 37 и 43 °С

Fig. 2. The content of *BiP* gene transcripts in leaves of wheat seedlings at temperatures of 33, 37 and 43 °С

У растений, подвергнутых действию температур 33, 37 и 43 °С, экспрессия генов *BiP* и *IRE1* зависела от абсолютного значения температуры. В клетках листьев растений, находящихся при температуре 33 °С, отмечено снижение уровня транскриптов гена *BiP* (рис. 2). Действие температуры 37 °С, напротив, способствовало быстрому (15 мин – 1 ч) многократному повышению содержания мРНК этого гена, причем отмечена двухфазная динамика содержания мРНК: повторное повышение уровня транскриптов этого гена зафиксировано через 1 сут воздействия температуры 37 °С. При температуре 43 °С также наблюдалось накопление мРНК гена *BiP*, при этом уровень экспрессии гена при температуре 43 °С через 0,25; 0,5 и 1 ч эксперимента был существенно ниже, а через 1, 4, 6 и 72 ч немного выше, чем при 37 °С.

При температуре 43 °С, так же как и при 33 °С, содержание мРНК гена *IRE1* в тканях листьев снижалось в первые 15 мин – 6 ч действия температуры, далее, через 24 и 72 ч, отмечено повышение уровня экспрессии этого гена примерно до уровня контроля (рис. 3). Под влиянием температуры 37 °С, напротив, происходило многократное повышение уровня экс-

прессии гена *IRE1* уже через 15 мин, которое через 1 ч сменялось его резким падением.

Обсуждение

Результаты проведенных исследований выявили качественно разную реакцию проростков пшеницы на действие температур 33, 37 и 43 °С. У растений, подвергнутых действию температуры 33 °С, отмечено незначительное торможение роста и повышение теплоустойчивости, но не было зафиксировано изменение оводненности тканей листа. Такого рода изменения можно характеризовать как незначительные отклонения от обычных физиологических показателей, характерных для растений, выращиваемых в стандартных условиях. В литературе такого рода отклонения иногда называют «мягким» стрессом [Рихванов и др., 2014; Giri et al., 2017]. При действии температуры 37 °С зафиксировано значительное торможение роста листьев, более быстрое повышение теплоустойчивости растений, но, так же как и при 33 °С, не наблюдалось изменений в оводненности тканей листа. Ранее полученные нами данные показывают, что при температуре 37 °С в листьях увеличивается содержание

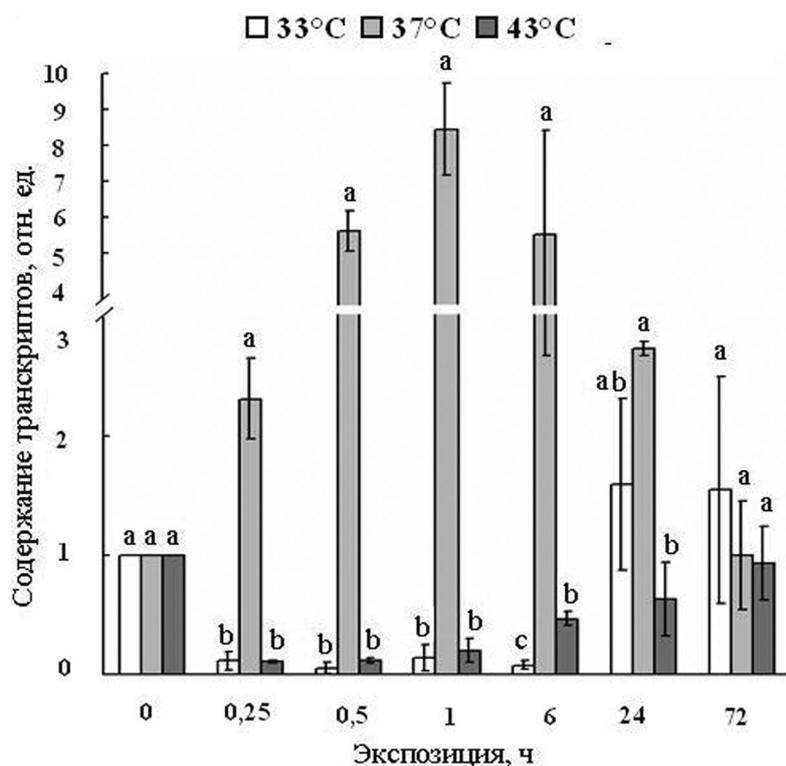


Рис. 3. Содержание транскриптов гена *IRE1* в листьях проростков пшеницы при действии температур 33, 37 и 43 °С

Fig. 3. The content of *IRE1* gene transcripts in leaves of wheat seedlings at temperatures of 33, 37 and 43 °C

продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) [Топчиева и др., 2017]. Это означает, что в данном случае в клетках происходит развитие окислительного стресса, а следовательно, наблюдаемые в растениях изменения при действии температуры 37 °С можно рассматривать как отражение определенных нарушений в метаболизме клеток, но с которыми растения успешно справляются. Тем не менее появление таких нарушений может свидетельствовать о развитии «среднего» по напряженности стресса [Giri et al., 2017]. Действие температуры 43 °С приводило к полной остановке роста листьев, снижению оводненности тканей листа, снижению теплоустойчивости и резкому накоплению МДА [Топчиева и др., 2017] и в конечном итоге к гибели растений. Это дает основание рассматривать указанные изменения как проявления «жесткого» стресса, который вызывает необратимые повреждения клеток [Рихванов и др., 2014; Giri et al., 2017].

Вполне очевидно, что физиологические изменения и/или нарушения в клетках растений, наблюдаемые при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности, зависят от степени развития деструктивных процессов,

затрагивающих разные компартменты клеток, включая ЭР, а также от способности клетки справиться с этими процессами за счет активизации репарационной системы.

Среди цитоплазматических шаперонов, обеспечивающих контроль качества белков, прежде всего необходимо отметить HSP70. Рядом авторов на разных видах растений (пшеница, рис, шпинат, томат, *Arabidopsis thaliana* L.) показано, что экспрессия *HSP70* повышается уже в первые часы и даже минуты (5–60 мин) высокотемпературных воздействий (37–42 °С), максимум достигается через 30–120 мин, а в дальнейшем происходит снижение экспрессии этого гена и синтеза HSP70 [Li et al., 1999; Sung et al., 2001]. Кроме того, установлено, что экспрессия гена *HSP70* происходит не только под влиянием нагрева растений, но и при действии на растения других неблагоприятных факторов, таких как, например, низкие температуры, засуха, засоление [Sarkar et al., 2013; Jacob et al., 2017]. Поскольку HSP70 обладает широким спектром действия (от участия в упаковке и созревании других белковых молекул до транспорта необратимо поврежденных белков к местам их деградации), экспрессия гена *HSP70* и синтез HSP70 считается первичной,

неспецифической реакцией растений на различные неблагоприятные воздействия [Чиркова, 2002; Малышев, 2012]. В количественном отношении содержание мРНК этого гена при 33 °С было примерно равно их содержанию при 37 °С и ниже, чем при 43 °С. Это свидетельствует, что экспрессия цитоплазматического *HSP70* является не только неспецифической реакцией растений на разные виды неблагоприятных воздействий, но и не зависит явным образом от интенсивности высокотемпературного воздействия (по крайней мере в пределах диапазона субповреждающих температур).

Белок BiP, принадлежащий к семейству HSP с молекулярной массой 70 кДа, является наиболее распространенным шапероном в ЭР [Iwata, Koizumi, 2012]. В доступной нам литературе данные о содержании транскриптов этого гена и о синтезе белка BiP при действии высоких температур немногочисленны. Тем не менее известно, что увеличение содержания BiP коррелирует с устойчивостью растений *Arabidopsis thaliana* L. к ЭР-стрессу [Koizumi, 1996]. Показано, что основным индуктором экспрессии *BiP* являются белки с нарушенной структурой, которые появляются в полости ЭР вследствие усиления процессов синтеза белка при наступлении неблагоприятных условий или при прохождении растениями некоторых фаз развития [Carolino et al., 2003]. Молекулы BiP связываются с такими белками, предотвращают их агрегацию и передают на другие компоненты ЭР для рефолдинга или деградации [Wan, Jiang, 2016]. Существует предположение, что увеличение содержания белков с нарушенной структурой в ЭР, т. е. развитие так называемого ЭР-стресса, приводит к тому, что свободных молекул BiP становится недостаточно, и это является сигналом для синтеза дополнительного количества мРНК *BiP* [Leborgne-Castel et al., 1999]. Так, обработка растений табака (*Nicotiana tabacum* L., cv Havana) туникамицином – активатором UPR приводила к увеличению мРНК гена *BiP* и к накоплению белка BiP [Alvim et al., 2001]. Из этого следует, что повышение содержания транскриптов гена *BiP* можно считать одним из маркеров накопления белков с нарушенной структурой и, возможно, развития ЭР-стресса. Наши исследования показали, что при температуре 33 °С («мягком» стрессе) в листьях пшеницы не происходит накопления транскриптов гена *BiP*, следовательно, можно предположить, что развитие ЭР-стресса при этом также не происходит. Повышение интенсивности высокотемпературного воздействия до 37 °С («средний» стресс), напротив, приводит к усилению экспрессии этого гена. В данном случае это

может быть связано с быстрым повышением устойчивости растений и синтезом стрессовых белков *de novo* [Титов, 1989; Титов и др., 2006], что, в свою очередь, приводит к повышению нагрузки на белоксинтезирующий аппарат клетки и, как следствие, к накоплению белков с нарушенной структурой. Интересно, что действие температуры 43 °С («жесткий» стресс) также вызывает накопление транскриптов гена *BiP*, однако их уровень при этом ниже, чем при температуре 37 °С. Возможно, это связано с тем, что BiP, как и другие белки, относящиеся к группе HSP с молекулярной массой 70 кДа, чаще работают в комплексе с другими шаперонами, кошаперонами, ферментами и пр. [Малышев, 2012], поэтому экспрессия BiP может зависеть от содержания фермента IRE1 [Humbert et al., 2012]. BiP совместно с ферментом IRE1 являются важной составляющей системы контроля качества белка в ЭР. BiP, связываясь с белками с нарушенной структурой, отсоединяется от IRE1, после чего IRE1 изменяет свою конформацию и участвует в альтернативном сплайсинге транскрипционного фактора bZIP60. Этот транскрипционный фактор переходит в активное состояние, поступает в ядро клетки и активирует экспрессию генов, кодирующих стрессовые белки, в том числе и BiP [Liu, Howell, 2010; Zhang et al., 2015]. Отметим, что при температуре 43 °С экспрессия гена *IRE1* резко снижается. Таким образом, при этой температуре происходит накопление белков с нарушенной структурой, о чем свидетельствует накопление транскриптов гена *BiP*, однако из-за снижения уровня экспрессии гена, кодирующего фермент IRE1, система контроля качества белка не может в этом случае работать полноценно. Температура 37 °С, напротив, приводит к резкому накоплению транскриптов гена *IRE1*. В доступной нам литературе нет сведений о накоплении транскриптов гена *IRE1* или белка IRE1 при высоких температурных воздействиях разной интенсивности. Однако известно, что у *Arabidopsis thaliana* L. при действии высокой температуры *IRE1* участвует в альтернативном сплайсинге транскрипционного фактора bZIP60, т. е. в формировании его активной формы [Chen, Brandizzi, 2013; Zhang et al., 2015; Nawkar et al., 2018], которая необходима для активации экспрессии гена *BiP3* [Deng et al., 2011].

Заключение

Проведенные исследования показали, что при температуре 37 °С, вызывающей небольшие отклонения и/или нарушения (условно «средний» стресс) в процессах жизнедеятель-

ности растений пшеницы, формируется максимальный уровень теплоустойчивости клеток листьев и наблюдается максимальный уровень экспрессии генов *BiP* и *IRE1*, кодирующих белки ответа на ЭР-стресс. При температурах, вызывающих у растений только минимальные отклонения (33 °С – «мягкий» стресс) или, наоборот, приводящих к повреждению (43 °С – «жесткий» стресс) и даже гибели растений, прирост теплоустойчивости значительно меньше (или он становится отрицательным) и наблюдается относительно небольшое накопление транскриптов генов, ответственных за синтез белков ответа на ЭР-стресс. При этом экспрессия гена *HSP70* почти не зависит от абсолютного значения действующей температуры, по крайней мере в пределах диапазона субповреждающих температур. Таким образом, исходя из полученных данных можно сделать вывод, что существенный вклад в развитие теплоустойчивости растений пшеницы под влиянием повышенных температур вносит активация экспрессии генов *HSP70*, *BiP* и *IRE1*, что, по-видимому, приводит к увеличению содержания кодируемых ими белков, участвующих в сохранении функциональной активности других белков и снижении уровня ЭР-стресса.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0051).

Литература

Малышев И. Ю. Стресс-белки в физиологии и медицине. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 176 с.

Нилова И. А., Титов А. Ф. Динамика теплоустойчивости проростков пшеницы в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 214–217.

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

Титов А. Ф. Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: закономерности варьирования и механизмы: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1989. 42 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.

Топчиева Л. В., Нилова И. А., Титов А. Ф. Динамика содержания транскриптов генов проапопто-

тических белков в листьях растений пшеницы при действии высоких неблагоприятных температур // ДАН. 2017. Т. 472, № 1. С. 102–105. doi: 10.7868/S086956521701025X

Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 244 с.

Alvim F. C., Carolina S. M. B., Cascardo J. C. M., Nunes C. C., Martinez C. A., Otoni W. C., Fontes E. P. B. Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress // Plant Physiol. 2001. Vol. 126, no. 3. P. 1042–1054.

Carolino S. M. B., Vaez J. R., Irsigler A. S. T., Valente M. A. S., Rodrigues L. A. Z., Fontes E. P. B. Plant BiP gene family: differential expression, stress induction and protective role against physiological stress // Braz. J. Plant Physiol. 2003. Vol. 15, no. 2. P. 59–66.

Chen Y., Brandizzi F. IRE1: ER stress sensor and cell fate executor // Trends Cell Biol. 2013. Vol. 23, no. 11. P. 547–555. doi: 10.1016/j.tcb.2013.06.005

Deng Y., Humbert S., Liu J. X., Srivastava R., Rothstein S. J., Howell S. H. Heat induces the splicing by IRE1 of a mRNA encoding a transcription factor involved in the unfolded protein response in Arabidopsis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. Vol. 108, no. 17. P. 7247–7252. doi: 10.1073/pnas.1102117108

Fanata W. I. D., Lee S. Y., Lee K. O. The unfolded protein response in plants: A fundamental adaptive cellular response to internal and external stresses // J. Proteomics. 2013. Vol. 93. P. 356–368. doi: 10.1016/j.jprot.2013.04.023

Giri A., Heckathorn S., Mishra S., Krause Ch. Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and – assimilation protein in tomato roots // J. Plants. 2017. Vol. 6(1): 6. doi: 10.3390/plants6010006

Humbert S., Zhong S., Deng Y., Howell S. H., Rothstein S. J. Alternation of the bZIP60/IRE1 pathway affects plant response to ER stress in *Arabidopsis thaliana* // PLoS One. 2012. Vol. 7, no. 6. e39023. doi: 10.1371/journal.pone.0039023

Iwata Y., Koizumi N. Plant transducer of the endoplasmic reticulum unfolded protein response // Trends Plant Sci. 2012. Vol. 17, no. 12. P. 720–727. doi: 10.1016/j.tplants.2012.06.014

Jacob P., Hirt H., Bendahmane A. The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance // Plant Biotechnol. J. 2017. Vol. 15, no. 4. P. 405–414. doi: 10.1111/pbi.12659

Koizumi N. Isolation and responses to stress of a gene that encodes a luminal binding protein in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Physiol. 1996. Vol. 11, no. 6. P. 865–865.

Leborgne-Castel N., Jelitto-Van Dooren E. P. W. M., Crofts A. J., Denecke J. Overexpression of BiP in Tobacco alleviates endoplasmic reticulum stress // Plant Cell. 1999. Vol. 11. P. 459–469.

Li Q.-B., Haskell D. W., Guy Ch. L. Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperature in spinach and tomato // J. Plant. Mol. Biol. 1999. Vol. 39. P. 21–34.

Liu J.-X., Howell S. H. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental

stress responses in plants // *Plant Cell*. 2010. Vol. 22. P. 2930–2942. doi: 10.1105/tpc.110.078154

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

Mittler R., Finka A., 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

Nawkar G. M., Lee E. S., Shelake R. M., Park J. H., Ryu S. W., Kang Ch. H., Lee S. Y. Activation of the transducer of unfolded protein response in plants // *Front Plant Sci*. 2018. Vol. 9. doi: 10.3389/fpls.2018.00214

Pu Y., Bassham D. C. Links between ER stress and autophagy in plants // *Plant Signal Behav*. 2013. Vol. 8, no. 6. e24297. doi: 10.4161/psb.24297

Sarkar N. K., Kundnani P., Grover A. Functional analysis of Hsp70 superfamily proteins of rice (*Oryza sativa*) // *Cell stress and Chaperones*. 2013. Vol. 18. P. 427–437. doi: 10.1007/s12192-012-0395-6

Sung D. Y., Vierling E., Guy Ch. L. Comprehensive expression profile analysis of the *Arabidopsis* Hsp70 gene family // *J. Plant Physiol*. 2001. Vol. 126. P. 789–800.

Tyedmers J., Mogk A., Bukau B. Cellular strategies for controlling protein aggregation // *J. Mol. Cell Biol*. 2010. Vol. 11. P. 777–788. doi: 10.1038/nrm2993

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

Zhang L., Chen H., Brandizzi F., Verchot J., Wang A. The UPR branch IRE1-bZIP60 in plants plays an essential role in viral infection and is complementary to the only UPR pathway in yeast // *PLoS Genet*. 2015. Vol. 11, no. 4. e1005164. doi: 10.1371/journal.pgen.1005164

Поступила в редакцию 29.04.2018

References

Chirkova T. V. Fiziologicheskie osnovy ustoichivosti rastenii [Physiological basis of plant resistance]. St. Petersburg: SPb. un., 2002. 244 p.

Malyshev I. Yu. Stress-belki v fiziologii i meditsine [Stress proteins in physiology and medicine]. Moscow: Genotar-Media, 2012. 176 p.

Nilova I. A., Titov A. F. Dinamika teploustoichivosti prorostkov pshenitsy v zavisimosti ot intensivnosti vysokotemperaturnogo vozdeistviya [The dynamics of thermotolerance in wheat plants depending on the intensity of high temperature influence]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2014. No. 5. P. 214–217.

Rikhvanov E. G., Fedoseeva I. V., Pyatrikas D. V., Borovskii G. B., Voinikov V. K. Mekhanizm funktsionirovaniya kal'tsiovoi 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]. *Fiziol. Rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2014. Vol. 61, no. 2. P. 155–169. doi: 10.7868/S0015330314020134

Titov A. F. Ustoichivost' aktivno vegetiruyushchikh rastenii k nizkim i vysokim temperaturam: zakonomenosti var'irovaniya i mekhanizmy [Resistance of actively vegetating plants to low and high temperatures: variation patterns and mechanisms]: Summary of PhD (Dr. of Biol.) thesis. Moscow, 1989. 42 p.

Titov A. F., Akimova T. V., Talanova V. V., Topchieva L. V. Ustoichivost' rastenii v nachal'nyi period deistviya neblagopriyatnykh temperatur [Plant resistance in the initial period of unfavourable temperatures effects]. Moscow: Nauka, 2006. 143 p.

Alvim F. C., Carolina S. M. B., Cascardo J. C. M., Nunes C. C., Martinez C. A., Otoni W. C., Fontes E. P. B. Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress. *Plant Physiol*. 2001. Vol. 126, no. 3. P. 1042–1054.

Carolino S. M. B., Vaez J. R., Irsigler A. S. T., Valente M. A. S., Rodrigues L. A. Z., Fontes E. P. B. Plant BiP gene family: differential expression, stress induction and protective role against physiological stress. *Braz. J. Plant Physiol*. 2003. Vol. 15, no. 2. P. 59–66.

Chen Y., Brandizzi F. IRE1: ER stress sensor and cell fate executor. *Trends Cell Biol*. 2013. Vol. 23, no. 11. P. 547–555. doi: 10.1016/j.tcb.2013.06.005

Deng Y., Humbert S., Liu J. X., Srivastava R., Rothstein S. J., Howell S. H. Heat induces the splicing by IRE1 of a mRNA encoding a transcription factor involved in the unfolded protein response in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. Vol. 108, no. 17. P. 7247–7252. doi: 10.1073/pnas.1102117108

Fanata W. I. D., Lee S. Y., Lee K. O. The unfolded protein response in plants: A fundamental adaptive cellular response to internal and external stresses. *J. Proteomics*. 2013. Vol. 93. P. 356–368. doi: 10.1016/j.jprot.2013.04.023

Giri A., Heckathorn S., Mishra S., Krause Ch. Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and – assimilation protein in tomato roots. *Plants*. 2017. Vol. 6(1): 6. doi: 10.3390/plants6010006

Humbert S., Zhong S., Deng Y., Howell S. H., Rothstein S. J. Alternation of the bZIP60/IRE1 pathway affects plant response to ER stress in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*. 2012. Vol. 7, no. 6. e39023. doi: 10.1371/journal.pone.0039023

Iwata Y., Koizumi N. Plant transducer of the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Trends Plant Sci*. 2012. Vol. 17, no. 12. P. 720–727. doi: 10.1016/j.tplants.2012.06.014

Jacob P., Hirt H., Bendahmane A. The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnol. J*. 2017. Vol. 15, no. 4. P. 405–414. doi: 10.1111/pbi.12659

Koizumi N. Isolation and responses to stress of a gene that encodes a luminal binding protein in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 1996. Vol. 11, no. 6. P. 865–865.

Leborgne-Castel N., Jelitto-Van Dooren E. P. W. M., Crofts A. J., Denecke J. Overexpression of BiP in Tobacco alleviates endoplasmic reticulum stress. *Plant Cell.* 1999. Vol. 11. P. 459–469.

Li Q.-B., Haskell D. W., Guy Ch. L. Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperature in spinach and tomato. *J. Plant. Mol. Biol.* 1999. Vol. 39. P. 21–34.

Liu J.-X., Howell S. H. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants. *Plant Cell.* 2010. Vol. 22. P. 2930–2942. doi: 10.1105/tpc.110.078154

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.* 2007a. 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.* 2007b. Vol. 51. P. 897–909. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03195.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

Nawkar G. M., Lee E. S., Shelake R. M., Park J. H., Ryu S. W., Kang Ch. H., Lee S. Y. Activation of the trans-

ducer of unfolded protein response in plants. *Front Plant Sci.* 2018. Vol. 9. doi: 10.3389/fpls.2018.00214.

Pu Y., Bassham D. C. Links between ER stress and autophagy in plants. *Plant Signal Behav.* 2013. Vol. 8, no. 6. e24297. doi: 10.4161/psb.24297

Sarkar N. K., Kundnani P., Grover A. Functional analysis of Hsp70 superfamily proteins of rice (*Oryza sativa*). *Cell stress and Chaperones.* 2013. Vol. 18. P. 427–437. doi: 10.1007/s12192-012-0395-6

Sung D. Y., Vierling E., Guy Ch. L. Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp70 gene family. *J. Plant Physiol.* 2001. Vol. 126. P. 789–800

Topchieva L. V., Nilova I. A., Titov A. F. The level of proapoptotic gene transcripts in wheat leaves under high temperature stress. *Doklady Akademii Nauk [Doklady Biochemistry and Biophysics]*. 2017. Vol. 472, no. 1. P. 5–8. doi: 10.1134/S1607672917010021

Tyedmers J., Mogk A., Bukau B. Cellular strategies for controlling protein aggregation. *J. Mol. Cell Biol.* 2010. Vol. 11. P. 777–788. doi: 10.1038/nrm2993

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

Zhang L., Chen H., Brandizzi F., Verchot J., Wang A. The UPR branch IRE1-bZIP60 in plants plays an essential role in viral infection and is complementary to the only UPR pathway in yeast. *PLoS Genet.* 2015. Vol. 11, no. 4. e1005164. doi: 10.1371/journal.pgen.1005164

Received April 29, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Нилова Ирина Александровна

младший научный сотрудник
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: im-ira@mail.ru
тел.: (8142) 762712

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 КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru

Топчиева Людмила Владимировна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: topchieva67@mail.ru
тел.: (8142) 573107

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

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

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) 573107

УДК 57.084.1 (597.555.1)

СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФИЗИЧЕСКИХ СПОСОБНОСТЕЙ РЕЧНОГО ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS* LINNAEUS, 1758)

Ю. А. Шустов¹, В. В. Горбач¹, И. А. Тыркин²

¹ Петрозаводский государственный университет, Россия

² Карельское отделение ГосНИОРХ им. Л. С. Берга, Петрозаводск, Россия

Физические способности речного окуня в холодное и теплое время года изучали в переносной экспериментальной установке, которая позволяет измерять тяговую силу рыб при механической и электрической стимуляции – анодную реакцию. Эксперимент ставили в полевых условиях на оз. Ангозеро (Южная Карелия) в марте и августе. Температура озерной воды в это время составляла 2 и 15–17 °С соответственно. У рыб, пойманных в течение часа, поочередно измеряли тяговую силу. Этот показатель при разных видах стимуляции в среднем варьировал от 1,1 до 14,1 г в марте и от 15,7 до 42,0 г в августе, достигая максимумов в 21 и 113 г. На электрическую стимуляцию активно реагировали все подопытные особи, тогда как реакция на прикосновение при низкой температуре либо была вялой, либо отсутствовала. Результаты статистического сравнения выборок указывают на существенные отличия между сезонами, заставляя пересмотреть распространенное мнение о неизменности физических способностей речного окуня в течение года. Несмотря на общую пассивность рыб в марте, некоторые из них демонстрировали весьма высокую тяговую силу. Вполне возможно, что такая выборочная реактивность и создает иллюзию более низкой, по сравнению с другими видами, сезонной изменчивости физических способностей у окуня. Выносливость тесно связана с размерами особей – чем крупнее рыба, тем больше тяговое усилие. Результаты моделирования показали, что определяющими факторами скорости нарастания тяговой силы с увеличением размера рыб являются сезонная составляющая и порог возбудимости, который при механическом воздействии более высок и более изменчив из-за субъективных причин по сравнению с анодной реакцией.

Ключевые слова: рыбы; тяговая сила; механическое раздражение; электрическая стимуляция; анодная реакция.

Yu. A. Shustov, V. V. Gorbach, I. A. Tyrkin. SEASONAL CHANGES IN THE STAMINA OF THE EUROPEAN PERCH (*PERCA FLUVIATILIS* LINNAEUS, 1758)

The stamina of perches in the cold and warm seasons was studied in a portable experimental plant that allows measuring the maximum swimming force of fishes under mechanical and electrical stimulation. The field experiment was carried out in Lake Angozero (South Karelia) in March and August. The temperature of lake water was 2 and 15–17 °C on the study days, respectively. Fish caught within one hour were one by one measured for the swimming force. This index for different stimulations varied on average from 1.1 to 14.1 g in March and from 15.7 to 42.0 g in August, with peaks of 21 and 113 g. All experimental specimens reacted actively to the electrical stimulation, whereas reac-

tion to touch under low temperature was either sluggish or absent. The results of the statistical comparison of the samples indicate significant differences between seasons, refuting the widespread opinion about invariable stamina of the European perch around the year. Despite the common passivity of the fish in March, some showed quite high swimming power. It is possible that such selective reactivity creates the illusion of a lower, compared to other species, seasonal variability of the stamina in perch. The stamina is closely related to the individuals size – the larger the fish, the greater its swimming force. Simulation has shown that governing factors for the rate of increase in the swimming force with increasing fish size are the seasonal component and the threshold of excitability, which, due to subjective reasons, is higher and more variable under mechanical impact in comparison with anodic reaction.

Key words: fish; swimming force; mechanical irritation; electrical stimulation; anodic reaction.

Известно, что у многих рыб, например у молоди атлантического лосося *Salmo salar* Linnaeus, 1758, в речных условиях в зимний период происходит существенное снижение физических способностей [Шустов и др., 1989; Shustov, Shchurov, 1990]. Сеголетки и пестрятки старших возрастов с наступлением холодов не покидают свои территории на порогах и перекатах лососевых рек, а перемещаются в убежища, выбирая зоны с пониженными скоростями потока воды в пространстве между валунами [Веселов, Шустов, 1991]. Интенсивность их питания в это время становится крайне низкой – в желудках рыб попадаются лишь единичные представители зообентоса [Смирнов и др., 1976]. Рыбы, обитающие зимой подо льдом в озерах и на речных плесах, такие как речной окунь *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758, продолжают успешно питаться. И хотя потребление пищи в это время падает [Изменение..., 1982], молодые окуни сохраняют весьма высокую поведенческую активность. Эта стабильность хорошо известна рыболовам – любителям подледного лова, но инструментально не изучена. Для подтверждения отсутствия сезонных отличий физических способностей речного окуня проведено полевое экспериментальное исследование, результаты которого и изложены в данном сообщении.

Материалы и методы

Физические способности речного окуня изучали в переносной экспериментальной установке (рис. 1), состоящей из пластикового лотка длиной 50 см, шириной 15 см и высотой 10 см, электродов – латунных пластинок, соединенных электрическими проводами с аккумуляторной батареей, регулятора тока, позволяющего поддерживать в наполненном водой лотке электрическое поле прямого тока на заданном уровне 0,5 В/см, тонкой рыболовной

лески с маленьким зажимом для крепления к рыбе на спинном плавнике и регистратора – динамометра, настроенного на тяговую силу до 200 г [Шустов и др., 1994].

Эксперимент проводили в полевых условиях на оз. Ангозеро (Республика Карелия, Кондопожский р-н, N62.054437°, E34.051600°) 24 марта, 20 и 24 августа 2015 г. Температура озерной воды в это время составляла 2, 15 и 17 °С соответственно. Рыб отлавливали удочками – в марте со льда, в августе с лодки и берега. Отловленных особей помещали в емкость объемом 50 л с озерной водой, в которой поддерживали температуру, равную температуре воды в озере. У рыб, пойманных в течение часа, поочередно измеряли тяговую силу. Для этого к заднему спинному плавнику подопытной особи прикрепляли зажим, соединенный леской с динамометром, и помещали ее в лоток близ катода головой к аноду. Сначала измеряли силу реакции на механическую стимуляцию – у рыбы прикосновением пальца вызывали испуг и направленное движение вдоль лотка к аноду. Затем стимулировали кратковременными импульсами постоянного электрического тока – в ответ мгновенно возникала анодная реакция, и рыба с максимальным усилием устремлялась к соответствующему электроду. Каждый опыт с использованием электричества проводили в трех повторностях. В конце, измерив длину особи, выпускали ее в озеро.

Физические способности проверили у 57 речных окуней (табл. 1). Показатели тяговой силы при электростимуляции, измеренные в трехкратной повторности для каждой подопытной особи, представлены в исходных выборках средними арифметическими. Диапазон варьирования всех переменных исследовали посредством простого непараметрического бутстрепа [Шитиков, 2012], который не требует установления соответствия распределения вариант в выборках каким-либо теоретическим

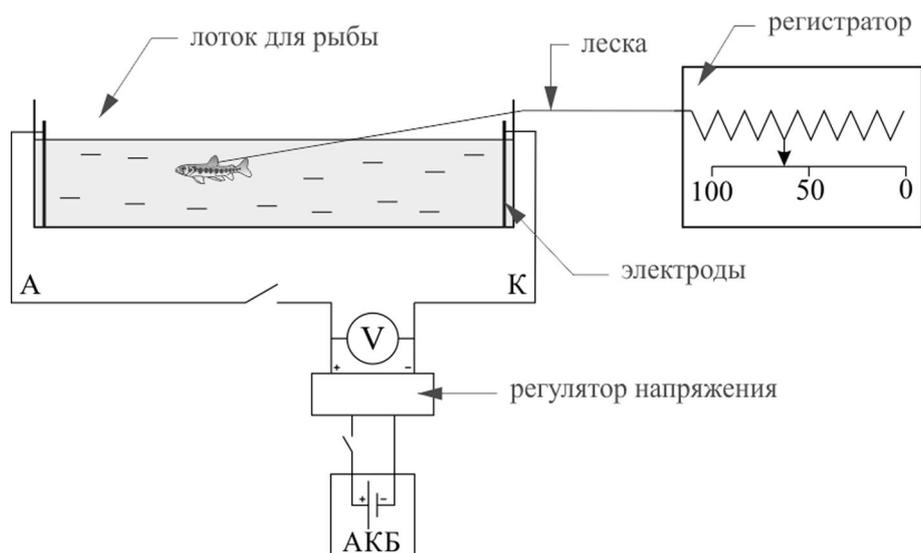


Рис. 1. Прибор для оценки физических возможностей рыб: АКБ – источник тока, аккумуляторная батарея, А – анод (-), К – катод (+)

Fig. 1. A device for assessing fish stamina. АКБ is power source, rechargeable battery, А – anode (-), К – cathode (+)

Таблица 1. Основные статистические характеристики выборок

Table 1. Basic statistics of samples

Показатель Index	n	x_{\min}	x_{\max}	M	lim M	S	lim S
март, $t = 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ / March, $t = 2\text{ }^{\circ}\text{C}$							
Длина особи L , см Length of fish L , cm	21	9,8	14,0	11,8	11,3÷12,3	1,2	0,9÷1,4
Тяговая сила Wm , г Swimming force Wm , g	21	0	20	3,6	1,1÷5,9	5,9	4,2÷8,6
Тяговая сила We , г Swimming force We , g	21	5	21	12,2	10,4÷14,1	4,4	3,1÷5,3
август, $t = 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ / August, $t = 15\text{ }^{\circ}\text{C}$							
Длина особи L , см Length of fish L , cm	22	9,0	19,5	11,9	10,9÷13,1	2,8	1,5÷3,6
Тяговая сила Wm , г Swimming force Wm , g	22	10	50	22,6	18,6÷27,0	10,3	6,6÷13,3
Тяговая сила We , г Swimming force We , g	22	10	113	32,3	24,6÷42,0	21,8	9,5÷32,6
август, $t = 17\text{ }^{\circ}\text{C}$ / August, $t = 17\text{ }^{\circ}\text{C}$							
Длина особи L , см Length of fish L , cm	14	10,0	16,0	12,4	11,6÷13,3	1,7	0,9÷2,2
Тяговая сила Wm , г Swimming force Wm , g	14	10	40	20,0	15,7÷25,0	8,8	4,7÷11,5
Тяговая сила We , г Swimming force We , g	14	13	40	23,3	19,1÷27,9	9,0	5,0÷11,0

Примечание. Wm – механическое воздействие, We – электростимуляция, n – объем выборки, x_{\min} и x_{\max} – минимальный и максимальный варианты, M – среднее арифметическое, S – стандартное отклонение, lim – интервальные оценки соответствующих параметров, полученные методом бутстрэпа.

Note. Wm – mechanical irritation, We – electrical stimulus, n – sample size, x_{\min} and x_{\max} – minimum and maximum of the value, M – mean, S – standard deviation, lim – intervals for the corresponding parameters obtained by bootstrap method.

закономерностям. Доверительные интервалы рассчитывали методом процентилей, с числом итераций $B = 5000$, – достаточным для уровня вероятности $p = 0,99$. Значимость отличий параметров оценивали с помощью рандомизации

с тем же числом B . Сначала для пары исходных выборок получали эмпирическое значение тестовой статистики (критерий Стьюдента, Фишера), затем бутстреп-методом генерировали заданное число B пар псевдоборок и для

Таблица 2. Значимость отличий выборок

Table 2. Significance of differences between the samples

Показатель Index	август, $t = 17\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $t = 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ August, $t = 17\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $t = 15\text{ }^{\circ}\text{C}$				август* / март August* / March			
	F	p	t	p	F	p	t	p
Длина особи L Length of fish L , cm	2,715	0,219	0,545	0,610	3,940	0,025	0,685	0,565
Тяговая сила Wm Swimming force Wm , g	1,386	0,662	0,789	0,440	2,683	0,009	7,680	<0,001
Тяговая сила We Swimming force We , g	5,625	0,317	1,478	0,148	17,09	<0,001	5,179	<0,001

Примечание. * – августовские выборки объединены, F – оценка однородности дисперсий (критерий Фишера), t – оценка отличий средних арифметических (критерий Стьюдента для случая однородных дисперсий или критерий Стьюдента с поправкой Уэлча для неоднородных дисперсий), p – значимость отличий сравниваемых показателей (рандомизационный тест, достоверные отличия указаны жирным шрифтом).

Note. * – August samples are combined, F – estimate of the variance homogeneity (Fisher's test), t – estimate of the mean differences (Student's test for homogeneous variances or Welch's test for different variances), p – signification of the differences (randomization test, significant differences are shown in bold).

каждой пары рассчитывали новое, рандомизированное значение критерия. Каждое такое значение сравнивали с эмпирическим и по итогам сравнений оценивали значимость отличий $p = (b + 1)/(B + 1)$, которая представляет собой скорректированную долю нуль-модельных комбинаций (числа испытаний b , в которых рандомизированное значение критерия больше или равно эмпирическому, т. е. нулевая гипотеза об отсутствии отличий верна) от общего числа испытаний B . Критической величиной для p является стандартное значение $\alpha = 0,05$. Связь тяговой силы с размером рыб исследовали с помощью корреляционного и регрессионного анализа. Коэффициенты регрессии получали, используя процедуру подгонки [Коросов, Горбач, 2017], которая позволяет корректировать коэффициенты в уравнениях, делая сравнение описываемых явлений более наглядным. Значимость отличий коэффициентов от нуля оценивали с помощью рандомизационного теста.

Вычисления выполняли в среде R 3.3.1 по соответствующим скриптам [Шитиков, Розенберг, 2013] с использованием базовых функций, пакетов boot [Canty, Ripley, 2017] и composition [Van den Boogaart et al., 2013].

Результаты и обсуждение

Речные окуни, отловленные в августе, не отличались ни по одному из показателей (табл. 2). Это позволило обобщить августовские выборки для дальнейшего анализа. Рыбы, отловленные в марте и августе, в свою очередь, не отличались по длине. Следовательно, межсезонные отличия размера подопытных особей не могут рассматриваться в качестве фактора, способного существенно влиять на результаты измерения физических способностей окуней.

Установлено, что в марте тяговая сила окуней была значимо ниже, чем в августе, по обоим показателям (табл. 2). При этом на электрическую стимуляцию активно реагировали все подопытные особи, тогда как реакция на прикосновение в холодное время года либо была вялой, либо отсутствовала (рис. 2) – в двух случаях из трех рыбы оставались совершенно пассивными. Механическая тяга, не обнаружившая значимой связи с размером рыб в марте (коэффициент корреляции Пирсона: $r = 0,18$ ($-0,27 \div 0,51$), $t = 0,80$, $p = 0,443$), в августе стала вполне очевидной ($r = 0,51$ ($0,30 \div 0,73$), $t = 3,44$, $p < 0,001$). Связь анодной тяги оставалась более стабильной и сильной (табл. 3).

Таким образом, результаты эксперимента опровергают мнение о неизменности физических способностей молоди речного окуня в течение сезона – в холодное время происходит существенное снижение активности рыб. Оценки тяговой силы при электростимуляции сходны с оценками, полученными для молоди лосося [Shustov, Shchurov, 1990]. Реакция на механическое воздействие в марте в целом оценена как крайне слабая, но некоторые подопытные особи демонстрировали при этом весьма высокую тяговую силу. Вполне возможно, что такая индивидуальная реактивность и является основой представлений о более низкой, по сравнению с другими рыбами, сезонной изменчивости физических способностей у речного окуня.

Поведенческая активность функционально связана со скоростью метаболизма, которая регулируется прежде всего температурой воды [Thorpe, 1977]. Наиболее интенсивно обменные процессы у окуня протекают в диапазоне от 10 до 20 °C [Голованов, 2013а, б]. В таких условиях он активно питается и быстро растет. Сеголетки потребляют планктон, в основ-

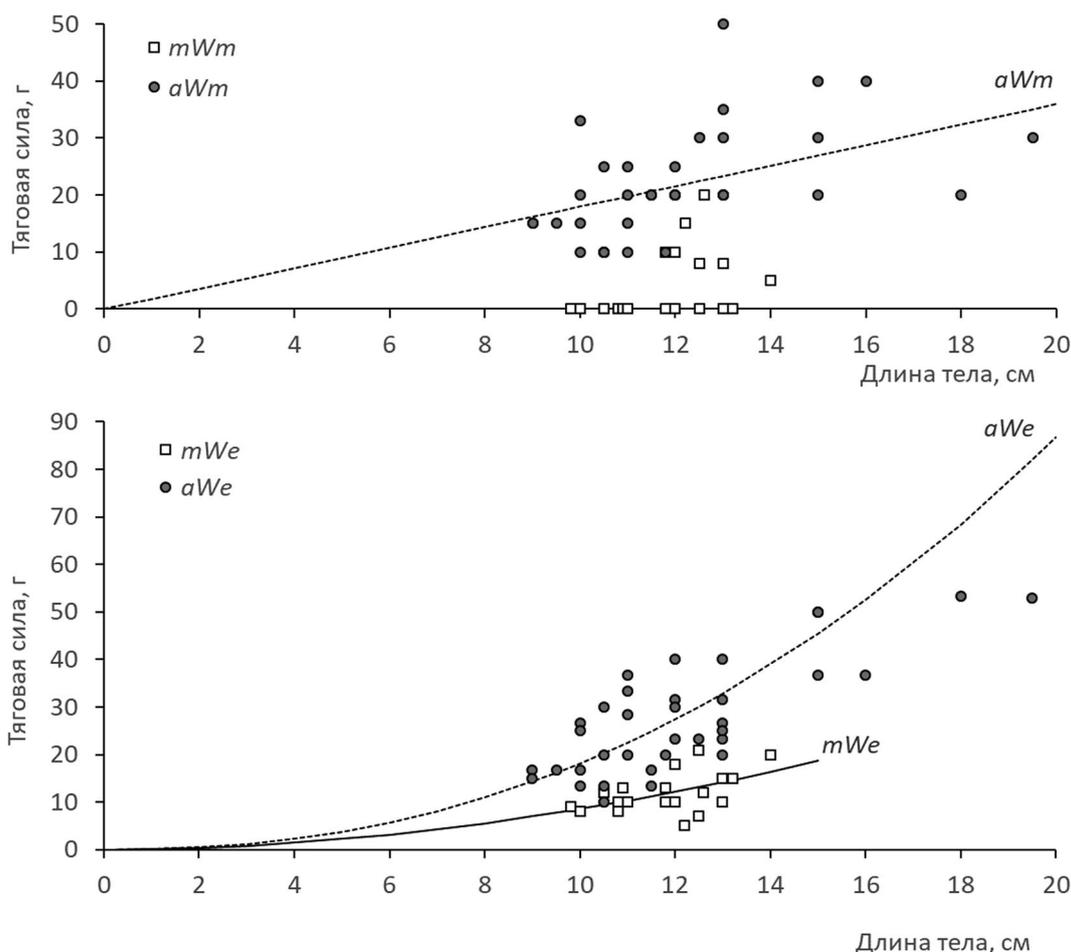


Рис. 2. Зависимость тяговой силы от размера рыбы. *m* – март, *a* – август, *Wm* – механическое воздействие (для *mWm* значимой связи не выявлено, *aWm* = $a \cdot L$, где $a = 1,80$ ($1,57 \div 2,04$), $t = 15,83$, $p < 0,001$, $R^2 = 0,25$), *We* – электростимуляция (оценка связи дана в табл. 3)

Fig. 2. Dependence of the maximum swimming force on the fish size: *m* – March, *a* – August, *Wm* – mechanical irritation (there is no significant connection for *mWm*, $aWm = a \cdot L$, where $a = 1.80$ ($1.57 \div 2.04$), $t = 15.83$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.25$), *We* – electrical stimulus (relationship estimate is given in Table 3)

Таблица 3. Линейная зависимость тяговой силы при электростимуляции от размера рыбы и модель $We = a \cdot L^b$, где $a = 0,1$

Table 3. Linear dependence of the swimming force under electrical stimulation on fish size and the model $We = a \cdot L^b$, where $a = 0.1$

Месяц Month	<i>r</i>	lim <i>r</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>b</i>	lim <i>b</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	R^2
март March	0,53	0,19÷0,80	2,76	0,005	1,93	1,87÷1,98	74,98	<0,001	0,30
август August	0,81	0,61÷0,90	8,02	< 0,001	2,26	2,20÷2,31	121,6	<0,001	0,72

Примечание. *r* – коэффициент корреляции Пирсона, *b* – коэффициент регрессии, *t* – оценка отличий коэффициентов от нуля (критерий Стьюдента), R^2 – коэффициент детерминации регрессионной модели, другие обозначения даны в примечаниях к табл. 1 и 2.

Note. *r* – Pearson's correlation coefficient, *b* – regression coefficient, *t* – estimate of differences of the coefficients from zero (Student's test), R^2 – determination coefficient of the regression model, other notations are given in the notes to Table 1 and 2.

ном веслоногих и ветвистоусых ракообразных (Copepoda и Cladocera) – циклопов (*Cyclops* sp.), диаптомусов (*Diaptomus* sp.) и босмин (*Bosmina* sp.), и мелких воздушных насекомых, а к двум годам в рационе начинает преобладать

бентос, представленный прежде всего личинками комаров-звонцов (Chironomidae) и малощетинковыми червями (Oligochaeta). В этом же возрасте окунь начинает хищничать и употреблять икру разных видов рыб и их самок [Стер-

лигова и др., 2016]. Спектр питания вида очень широк, он включает все доступные объекты, подходящие по размеру [Лесонен и др., 2017]. При низких температурах интенсивность питания окуней падает [Bergman, 1987], у молоди ситуация усугубляется еще тем, что из-за недостатка освещения становится менее доступным планктон [Eckmann, 2004]. В результате к концу зимы снижается запас липидов и энергетическая масса соматической ткани [Henderson et al., 2000], что неизбежно сказывается на физических способностях рыб.

В силу отсутствия значимой зависимости от размера рыб мартовские показатели механической тяги детально не рассматривали. Изучение регрессии в остальных случаях показало небольшую разницу между основными моделями по величине коэффициента детерминации R^2 . Лучше других исследуемую связь описывают линейная и степенная функции. Рост тяговой силы при электростимуляции с увеличением размера особи аппроксимировали степенными уравнениями с коэффициентом $a = 0,1$, принятым в качестве константы (табл. 3). Этот коэффициент можно интерпретировать как исходный уровень, стартовую точку процесса. Назначение константы, при условии сохранения адекватности моделей исходным данным, позволяет сопоставить сходные процессы по скоростям, мерой которых является коэффициент b . Сравнение линий и коэффициентов регрессии (рис. 2; табл. 3) указывает на более быструю анодную реакцию рыб в теплое время года.

Линейное уравнение, описывающее механическую тягу (рис. 2), можно также рассматривать как степенное с коэффициентами $a = 1,8$ и $b = 1$, которые указывают на меньшую эффективность механического воздействия – более высокий порог возбудимости и низкую скорость роста тяговой силы с увеличением размера рыбы. С другой стороны, подгонка коэффициентов b в моделях, описывающих анодную реакцию, при заданной константе $a = 1,8$ дала следующие результаты: для марта $b = 0,77$ ($0,71 \div 0,82$), $t = 27,50$, $p < 0,001$, $R^2 = 0,19$; для августа $b = 1,14$ ($1,06 \div 1,22$), $t = 42,09$, $p < 0,001$, $R^2 = 0,48$. Судя по значениям коэффициентов детерминации, существенно снизилось качество аппроксимации новых моделей, но градация скоростей роста тяговой силы при этом стала более логичной. Как и ожидали, в теплое время года электростимуляция дала более высокую скорость по сравнению с механическим раздражением, а в холодное время – более низкую.

Таким образом, в теплое время наблюдается более быстрая и хорошо выраженная реак-

ция на раздражение, тесно связанная с размерами особей – чем крупнее рыба, тем больше тяговое усилие. Определяющими факторами скорости роста тяговой силы с увеличением размера рыб являются сезонная составляющая и порог возбудимости, который при механическом воздействии объективно более высок и более изменчив из-за субъективных причин по сравнению с электростимуляцией.

Выводы

В результате полевого эксперимента по изучению сезонной изменчивости физических способностей речного окуня установлено, что показатели тяговой силы при различных видах стимуляции в среднем варьировали от 1,1 до 14,1 г при температуре 2 °С и от 15,7 до 42,0 г при температуре 15–17 °С, достигая максимумов в 21 и 113 г соответственно. Полученные результаты трансформируют представление о неизменности физических способностей молоди речного окуня в течение сезона – в холодное время года происходит значимое снижение активности рыб. При высоких температурах наблюдается более быстрая и хорошо выраженная реакция на стимуляцию двигательной активности, тесно связанная с размерами особей, – чем крупнее рыба, тем больше тяговое усилие. Электрическое воздействие является более эффективным способом установления закономерностей, чем механическое, из-за прямого воздействия на двигательную активность и более низкого порога реакции рыб на стимуляцию.

Литература

- Веселов А. Е., Шустов Ю. А. Сезонные особенности поведения и распределения молоди пресноводного лосося *Salmo salar* L. morpha sebago Girard в реке // Вопр. ихтиологии. 1991. Т. 31, № 2. С. 346–350.
- Голованов В. К. Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб. М.: Полиграф-Плюс, 2013а. 300 с.
- Голованов В. К. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях // Вопр. ихтиологии. 2013б. Т. 53, № 3. С. 286–314.
- Изменение структуры рыбного населения эвтрофируемого водоема / Ред. М. И. Шатуновский. М.: Наука, 1982. 248 с.
- Коросов А. В., Горбач В. В. Компьютерная обработка биологических данных. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2017. 96 с.
- Лесонен М. А., Горбач В. В., Шустов Ю. А. Пищевые взаимоотношения обыкновенного сига (*Coregonus lavaretus*) и речного окуня (*Perca fluviatilis*)

в малом лесном озере // Принципы экологии. 2017. № 4. С. 37–45. doi: 10.15393/j1.art.2017.6882

Смирнов Ю. А., Шустов Ю. А., Хренников В. В. К характеристике поведения и питания молоди онежского лосося *Salmo salar* L. морфа sebago Girard в зимний период // Вопр. ихтиологии. 1976. Т. 16, № 3. С. 557–559.

Стерлигова О. П., Ильмаст Н. В., Савосин Д. С. Круглоротые и рыбы пресных вод Карелии. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2016. 224 с.

Шитиков В. К. Использование рандомизации и бутстрепа при обработке результатов экологических наблюдений // Принципы экологии. 2012. № 1. С. 4–24. doi: 10.15393/j1.art.2012.481

Шитиков В. К., Розенберг Г. С. Рандомизация и бутстреп: статистический анализ в биологии и экологии с использованием R. Тольятти: Кассандра, 2013. 314 с. URL: <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril/Article/A32/Stare.htm> (дата обращения: 21.03.2018)

Шустов Ю. А., Щуров И. Л., Веселов А. Е. Влияние температуры на физические способности молоди озерного лосося *Salmo salar sebago* // Вопр. ихтиологии. 1989. Т. 29, № 4. С. 676–677.

Шустов Ю. А., Щуров И. Л., Шемякин А. П. Способ определения жизнестойкости молоди лососевых рыб // Авторское свидетельство СССР № 1264881. 1994. Бюл. № 6.

Bergman E. Temperature-dependent differences in foraging ability of two percids, *Perca fluviatilis*

and *Gymnocephalus cernuus* // Env Biol Fishes. 1987. Vol. 19, no. 1. P. 45–53.

Canty A., Ripley B. Package 'boot'. Bootstrap functions. Ver. 1.3–20. 2017. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/boot/boot.pdf> (дата обращения: 10.03.2018).

Eckmann R. Overwinter changes in mass and lipid content of *Perca fluviatilis* and *Gymnocephalus cernuus* // J Fish Biol. 2004. Vol. 65, no. 6. P. 1498–1511. doi: 10.1111/j.0022-1112.2004.00553.x

Henderson B. A., Trivedi T., Collins N. Annual cycle of energy allocation to growth and reproduction of yellow perch // J Fish Biol. 2000. Vol. 57, no. 1. P. 122–133. doi: 10.1111/j.1095-8649.2000.tb00780.x

Shustov Yu. A., Shchurov I. L. Seasonal changes in the stamina of young Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under river conditions // Finnish Fish Res. 1990. No. 11. P. 1–5.

Thorpe J. E. Synopsis of biological data on the perch *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 and *Perca flavescens* Mitchill, 1814 // FAO Fisheries Synopsis. 1977. Vol. 113. P. 1–138.

Van den Boogaart K. G., Tolosana R., Bren M. Package 'composition'. Compositional data analysis. Ver. 1.40–1. 2013. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/compositions/compositions.pdf> (дата обращения: 10.03.2018).

Поступила в редакцию 04.04.2018

References

Veselov A. E., Shustov Yu. A. Sezonnye osobennosti povedeniya i raspredeleniya molodi presnovodnogo lososya *Salmo salar* L. morpha sebago Girard v reke [Seasonal patterns of behavior and distribution of juveniles of freshwater salmon *Salmo salar* L. morpha sebago Girard in the river]. *Vopr. ikhtiologii* [J. Ichthyology]. 1991. Vol. 31, no. 2. P. 346–350.

Golovanov V. K. Temperaturnye kriterii zhiznedejatel'nosti presnovodnykh ryb [Temperature criteria of the life activity of freshwater fish]. Moscow: Poligraf-Plyus, 2013a. 300 p.

Golovanov V. K. Ecophysiological patterns of distribution and behavior of freshwater fish in thermal gradients. *J. Ichthyol.* 2013b. Vol. 53, no. 4. P. 252–280. doi: 10.1134/S0032945213030016

Izmenenie struktury rybnogo naseleniya evtrofiruemogo vodoema [Change in the structure of the fish population in the eutrophicated pond]. Moscow: Nauka, 1982. 248 p.

Korosov A. V., Gorbach V. V. Komp'yuternaya obrabotka biologicheskikh dannyykh [Computer processing of biological data]. Petrozavodsk: PetrGU, 2017. 96 p.

Lesonen M. A., Gorbach V. V., Shustov Yu. A. Pishchevye vzaimootnosheniya obyknovennogo siga (*Coregonus lavaretus*) i rechnogo okunya (*Perca fluviatilis*) v malom lesnom ozere [Food relationships of the Common whitefish (*Coregonus lavaretus*) and European perch (*Perca fluviatilis*) in a small forest lake]. *Printsipy ekol.* [Principles of the Ecol.]. 2017. No. 4. P. 37–45. doi: 10.15393/j1.art.2017.6882

Smirnov Yu. A., Shustov Yu. A., Khrennikov V. V. K kharakteristike povedeniya i pitaniya molodi onezhskogo lososya *Salmo salar* L. morpha sebago Girard v zimnii period [On the behavior and feeding of juvenile Omega salmon *Salmo salar* L. morpha sebago Girard in winter]. *Vopr. ikhtiologii* [J. Ichthyol.]. 1976. Vol. 16, no. 3. P. 557–559.

Sterligova O. P., Il'mast N. V., Savosin D. S. Kruglortye i ryby presnykh vod Karelii [Lampreys and fishes of fresh waters of Karelia]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2016. 224 p.

Shitikov V. K. Ispol'zovanie randomizatsii i butstrepa pri obrabotke rezul'tatov ekologicheskikh nablyudenii [Use of randomization and bootstrap at processing of result of ecological observations]. *Printsipy ekol.* [Principles of the Ecol.]. 2012. No. 1. P. 4–24. doi: 10.15393/j1.art.2012.481

Shitikov V. K., Rozenberg G. S. Randomizatsiya i butstrepa: statisticheskii analiz v biologii i ekologii s ispol'zovaniem R [Randomization and bootstrap: statistical analysis in biology and ecology using R]. Tol'yatti: Kassandra, 2013. 314 p. URL: <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril/Article/A32/Stare.htm> (accessed: 21.03.2018)

Shustov Yu. A., Shchurov I. L., Veselov A. E. Vliyanie temperatury na fizicheskie sposobnosti molodi ozeronogo lososya *Salmo salar sebago* [Effect of temperature on the stamina of juvenile waterfresh salmon *Salmo salar sebago*]. *Vopr. ikhtiologii* [J. Ichthyol.]. 1989. Vol. 29, no. 4. P. 676–677.

Shustov Yu. A., Shchurov I. L., Shemyakin A. P. Sposob opredeleniya zhiznestoikosti molodi losose-

vykh ryb [A method of determining the viability of juvenile salmon]. Avtorskoe svidetel'stvo SSSR № 1264881 [Copyright certificate of the USSR № 1264881]. 1994. Bulletin No. 6.

Bergman E. Temperature-dependent differences in foraging ability of two percids, *Perca fluviatilis* and *Gymnocephalus cernuus*. *Env Biol Fishes*. 1987. Vol. 19, no. 1. P. 45–53.

Canty A., Ripley B. Package 'boot'. Bootstrap functions. Ver. 1.3–20. 2017. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/boot/boot.pdf> (accessed: 10.03.2018).

Eckmann R. Overwinter changes in mass and lipid content of *Perca fluviatilis* and *Gymnocephalus cernuus*. *J Fish Biol*. 2004. Vol. 65, no. 6. P. 1498–1511. doi: 10.1111/j.0022-1112.2004.00553.x

Henderson B. A., Trivedi T., Collins N. Annual cycle of energy allocation to growth and reproduction of yellow perch. *J Fish Biol*. 2000. Vol. 57, no. 1. P. 122–133. doi: 10.1111/j.1095-8649.2000.tb00780.x

Shustov Yu. A., Shchurov I. L. Seasonal changes in the stamina of young Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) under river conditions. *Finnish Fish Res*. 1990. No. 11. P. 1–5.

Thorpe J. E. Synopsis of biological data on the perch *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 and *Perca flavescens* Mitchill, 1814. *FAO Fisheries Synopsis*. 1977. Vol. 113. P. 1–138.

Van den Boogaart K. G., Tolosana R., Bren M. Package 'composition'. Compositional data analysis. Ver. 1.40–1. 2013. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/compositions/compositions.pdf> (accessed: 10.03.2018).

Received April 04, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шустов Юрий Александрович

профессор кафедры зоологии и экологии, д. б. н.
Институт биологии, экологии и агротехнологий,
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: shustov@petsu.ru
тел.: +79214503711

Горбач Вячеслав Васильевич

профессор кафедры зоологии и экологии, д. б. н., доцент
Институт биологии, экологии и агротехнологий,
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: gorbach@psu.karelia.ru

Тыркин Игорь Александрович

научный сотрудник, к. б. н.
Карельское отделение государственного научно-
исследовательского института озерного и речного
рыбного хозяйства им. Л. С. Берга
ул. Анохина, 29а, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185035
эл. почта: igor7895@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Shustov, Yuri

Petrozavodsk State University
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: shustov@petsu.ru

Gorbach, Vyacheslav

Petrozavodsk State University
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: gorbach@psu.karelia.ru

Tyrkin, Igor

Karelian Branch of Berg State Research Institute on Lake
and River Fisheries
29a Anokhin St., 185035 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: igor7895@yandex.ru

УДК 577.125.8

СВЯЗЬ НОСИТЕЛЬСТВА ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА RS1061622 ГЕНА *TNFRSF1B* С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ИЗМЕНЕНИЕМ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ

Л. В. Топчиева¹, В. А. Корнева², И. В. Курбатова¹

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

² Петрозаводский государственный университет, Россия

Исследована ассоциация полиморфного варианта rs1061622 гена *TNFRSF1B*, кодирующего рецептор второго типа (TNFR2) к TNF α , с развитием эссенциальной артериальной гипертензии (I–II стадии). Выявлены статистически значимые различия в частотах аллелей и генотипов по указанному полиморфному маркеру в группе здоровых людей и пациентов с ЭАГ. У носителей аллеля G почти в 2 раза повышен риск развития данного заболевания (ОШ = 1,904 (95ДИ: 1,337–2,709)). Проведена оценка влияния rs1061622 гена *TNFRSF1B* на показатели липидного обмена (общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), триацилглицеринов), а также индекса атерогенности в группе здоровых доноров и больных ЭАГ. Обнаружена зависимость содержания ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП в плазме крови, а также значения индекса атерогенности от носительства определенных генотипов по исследуемому полиморфному маркеру гена *TNFRSF1B*. Увеличение содержания в плазме атерогенной фракции липидов (ХС-ЛПНП) ассоциировано с наличием в генотипе аллеля G. У здоровых доноров, гомозиготных или гетерозиготных по аллелю G, содержание ХС-ЛПВП значимо ниже, чем у носителей ТТ-генотипа. Полученные результаты свидетельствуют о том, что полиморфный вариант Т>G rs1061622 гена *TNFRSF1B*, вероятно, вовлечен в предрасположенность населения Карелии к ЭАГ (I–II стадии). Патогенетическое влияние полиморфизма гена *TNFRSF1B* на формирование данного заболевания, возможно, осуществляется через модулирование содержания различных фракций липидов.

Ключевые слова: эссенциальная артериальная гипертензия; полиморфизм генов; рецепторы к TNF α ; ген *TNFRSF1B*; общий холестерин; холестерин липопротеинов высокой плотности; холестерин липопротеинов низкой плотности; триглицериды; индекс атерогенности.

L. V. Topchieva, V. A. Korneva, I. V. Kurbatova. ASSOCIATION OF THE POLYMORPHIC VARIANT RS1061622 OF THE *TNFRSF1B* GENE WITH GENETIC PREDISPOSITION TO ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION AND CHANGES IN THE BLOOD LIPID PROFILE

The association of the *TNFRSF1B* gene polymorphic variant rs1061622, which encodes the second type receptor (TNFR2) to TNF α with the development of essential arte-

rial hypertension (EH, stages I–II) was investigated. Statistically significant differences in the frequencies of alleles and genotypes by this polymorphic marker were revealed for the group of healthy people and patients with EH. The risk of developing this disease was almost double in carriers of the allele G (OR = 1.904 (95DI: 1.337–2.709)). The effect of rs1061622 of the *TNFRSF1B* gene on the lipid metabolism (total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol (LDL–C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL–C), triglycerides), as well as the atherogenicity index in the group of healthy donors and EH patients, carriers of certain genotypes for this polymorphic marker of the *TNFRSF1B* gene, was studied. An increase in the atherogenic lipid fraction (LDL–C) level in the plasma is associated with the presence of the allele G in the genotype. In healthy donors, either homozygous or heterozygous for the G allele, the content of HDL–C is significantly lower than in TT genotype carriers. The obtained results indicate that the polymorphic variant T>G rs1061622 of the *TNFRSF1B* gene is probably involved in the predisposition of people living in Karelia to EH (stages I–II). The pathogenetic effect of the *TNFRSF1B* gene polymorphism on the formation of this disease is possibly accomplished through modulation of the levels of various lipid fractions.

Key words: essential arterial hypertension; gene polymorphism; receptors for TNF α ; *TNFRSF1B* gene; total cholesterol; high-density lipoprotein cholesterol; low-density lipoprotein cholesterol; triglycerides; atherogenicity index.

Введение

Эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ) является полигенным многофакторным заболеванием. Среди факторов риска развития этой патологии (активация симпатической нервной системы, чрезмерное употребление соли, несбалансированное питание, курение и прочее) можно назвать и наследственную предрасположенность. Вероятность наследования артериальной гипертензии (АГ) составляет приблизительно 30 %. Конкретные механизмы реализации генетической предрасположенности к АГ до конца не понятны. Высказано предположение, что в случае с эссенциальной артериальной гипертензией наследуется не сама патология, а механизмы реагирования систем, определяющих уровень артериального давления (АД) [Руководство..., 2008]. Среди систем, которые участвуют в развитии стабильно повышенного давления крови, стали рассматривать и иммунную систему [Harrison et al., 2011]. Активация иммунных клеток, в частности Т-лимфоцитов, у больных АГ способствует развитию системного хронического воспаления, которое, как известно, сопровождает данное заболевание [Harrison et al., 2011]. Однако появляется все больше данных о том, что воспаление может быть не только следствием ЭАГ, но и ее причиной. Об этом свидетельствует тот факт, что повышенное содержание вырабатываемых различными иммунными клетками провоспалительных цитокинов, например фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкина 6 (IL-6), у здоровых доноров предшествует будущему увеличению систолического давления [Bautista et al., 2005]. Механизмы, посредством которых

эти провоспалительные белки участвуют в реализации АГ, весьма разнообразны. Среди них важную роль в патогенезе данного заболевания играет способность цитокинов влиять на липидный профиль как здоровых людей, так и лиц с гипертензией [Sheu et al., 2000; Ito et al., 2001; Paik et al., 2013]. Например, высокий уровень TNF α ассоциирован с повышенным содержанием в плазме крови холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и их окисленных форм, обладающих атерогенными свойствами [Paik et al., 2013]. Негативное влияние этого цитокина на биохимические показатели крови, вероятно, может быть усилено или ослаблено за счет его растворимых рецепторов. Известно, что растворимые рецепторы sTNFR1 и sTNFR2 выступают в качестве антагонистов TNF α , ингибируя активацию TNF α -сигнальных путей в различных клетках [Cabal-Hierro, Lazo, 2012]. При ряде воспалительных заболеваний их уровень в плазме крови и в некоторых органах, например в печени, значительно повышается по сравнению с физиологическими условиями [Tokushige et al., 2007; Schulz et al., 2014]. Не исключение и сердечно-сосудистые заболевания [Safranow et al., 2009; McTiernan et al., 2012]. Помимо воспалительных стимулов на содержание растворимых (sTNFR) и мембраносвязанных (mbTNFR) форм рецепторов TNF α влияют мутации, расположенные в разных областях кодирующих их генов [Komata et al., 1999; Glossop et al., 2005]. Замена тимина на гуанин в положении 5876 экзона гена *TNFRSF1B* (rs1061622) способствует формированию растворимой формы TNFR2 и изменению соотношения mbTNFR2 и sTNFR2, что может влиять на биологическую активность лиганда [Glossop et al., 2005]. Оказалось, что

содержание sTNFR положительно коррелирует с уровнем ХС-ЛПНП и триацилглицеринами (ТГ) и отрицательно – с холестерином липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) [Strackowski et al., 2006]. Эти факты наводят на мысль о возможной связи носительства полиморфного варианта (rs1061622) гена *TNFRSF1B* с особенностями липидного профиля как у больных, так и у здоровых людей, что, вероятно, может играть существенную роль в этиологии и патогенезе артериальной гипертензии. Однако данных литературы, которые могли бы опровергнуть или подтвердить наше предположение, очень мало. Так, в некоторых работах показано, что данная мутация может быть вовлечена в генетическую предрасположенность людей к сердечно-сосудистым заболеваниям, например, к ишемическому инсульту [Markoula et al., 2011], коронарной болезни сердца [Allen et al., 2001; Sbarsi et al., 2007]. Однако сведения о влиянии rs1061622 на развитие эссенциальной артериальной гипертензии практически отсутствуют в имеющейся на данный момент литературе. В связи с этим цель нашего исследования – изучить связь полиморфного варианта гена *TNFRSF1B* (rs1061622) с развитием эссенциальной артериальной гипертензии и изменением липидного профиля здоровых доноров и пациентов с ЭАГ (I–II стадии).

Материалы и методы

Для генотипирования использованы 151 образец цельной крови доноров контрольной группы и 112 образцов цельной крови пациентов с ЭАГ (I–II стадии). Средний возраст доноров контрольной группы составил $39,38 \pm 1,43$ года; пациентов с ЭАГ – $48,31 \pm 1,66$ года. Средний возраст здоровых доноров и больных ЭАГ, включенных в биохимический анализ, составил $42,52 \pm 2,75$ и $47,71 \pm 3,68$ года соответственно. Возраст доноров двух групп исследования значительно не различался ($U = 132,5$; $p = 0,637$).

Диагноз ЭАГ был установлен впервые врачами ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г. Петрозаводска в соответствии и с учетом клинических рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов [Диагностика..., 2010]. Обследование доноров, включенных в контрольную группу, проводилось врачами ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г. Петрозаводска в ходе диспансеризации. Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета, перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания, курение табака, беременность

и лактация, алкогольная зависимость, индекс массы тела ≥ 28 кг/м². Дополнительный критерий исключения из биохимического анализа – гипотензивная, противовоспалительная терапия. Все доноры являлись жителями Республики Карелия. На проведение исследований получено согласие Комитета по медицинской этике Минздравсоцразвития РК и ПетрГУ.

ДНК выделяли с помощью набора AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen, США). Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ. Для амплификации области гена *TNFRSF1B*, включающей позицию 587 (rs1061622), использовали праймеры: прямой 5'gacacatcgtcactctc3' и обратный 5'aaggagtgaatgaatgagac3', описанные в работе [Xu et al., 2014]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), используя реакционную смесь ScreenMix-HS («Евроген», Россия). ПЦР-продукты обрабатывали эндонуклеазой рестрикции FatI (1 е. а.) («СибЭнзим», Россия) в течение 1 ч при 55 °С и разделяли в 1,5% агарозном геле, используя трис-ацетатный буфер.

Концентрацию в плазме крови общего холестерина (ОХС), триацилглицерина, холестерина липопротеинов высокой плотности определяли в автоматическом режиме на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 PLUS (Roche Diagnostics GmbH, ФРГ-Австрия-США), холестерина липопротеинов низкой плотности – расчетным методом по: [Friedewald et al., 1972]. Индекс атерогенности рассчитывали по формуле:

$$\text{Индекс атерогенности (усл. ед)} = \frac{\text{ОХС} - \text{ХСЛПВП}}{\text{ХСЛПВП}}$$

Статистическая обработка материала проведена с использованием программного обеспечения Statgraphics 2.1. Для оценки различий биохимических показателей в группах исследования использовали непараметрический критерий U Вилкоксона – Манна – Уитни. Проведен дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса. Для оценки риска развития ЭАГ рассчитывали показатель отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (95ДИ) [Флетчер и др., 1998]. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$. Возраст доноров указан в виде средних значений и стандартной ошибки среднего. Показатели содержания липопротеинов и индекса атерогенности приведены в виде средних значений со стандартной ошибкой, в скобках – медиана.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра

Таблица 1. Распределение аллелей и генотипов по полиморфному маркеру T>G rs1061622 гена *TNFRSF1B* в группе людей, больных ЭАГ (I–II стадии), и в контрольной группе

Table 1. Distribution of alleles and genotypes for the polymorphic marker rs1061622 T>G of the *TNFRSF1B* gene in the group of patients with EH (stage I–II) and in the control group

Аллели и генотипы Alleles and genotypes	Контрольная группа (n=151) Control group	Больные ЭАГ (n=112) Patients with EH	Критерий χ^2 Chi-square test
T	206 (0,682)	124 (0,530)	12,91 (df = 1, p < 0,01)
G	96 (0,318)	110 (0,470)	
TT	69 (0,457)	40 (0,357)	12,01 (df = 2, p < 0,01)
TG	68 (0,450)	44 (0,393)	
GG	14 (0,093)	28 (0,250)	

«Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты

Проанализированы частоты аллелей и генотипов по 587T>G полиморфному маркеру гена *TNFRSF1B* в контрольной группе и группе пациентов с ЭАГ (I–II стадии).

Как видно из таблицы 1, распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера 587T>G гена *TNFRSF1B* отличается в группах здоровых и больных ЭАГ (I–II стадии) людей. Встречаемость аллеля G в группе лиц с диагнозом ЭАГ значительно выше, чем в контрольной группе. У носителей аллеля G повышен риск развития данного заболевания (ОШ = 1,904 (95ДИ: 1,337–2,709)).

Оценивали влияние rs1061622 гена *TNFRSF1B* на содержание некоторых фракций липидов в плазме крови и индекс атерогенности (табл. 2).

Обнаружены значимые различия в содержании ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП и индекса атерогенности у носителей разных генотипов по rs1061622 в группе здоровых людей (табл. 2). У носителей аллеля G (TG+GG генотип) содержание ХС-ЛПВП ниже, а ХС-ЛПНП выше, чем у носителей TT-генотипа (U = 464; p = 0,019 и U = 88; p = 0,018 соответственно). Индекс атерогенности у доноров, имеющих в генотипе G-аллель, был также выше, чем у лиц с TT-генотипом (U = 162; p = 0,040). В контрольной группе выявлено влияние генотипа по указанному маркеру на уровень ХС-ЛПНП (H = 5,61; p = 0,018) и индекс атерогенности (H = 4,1; p = 0,040). Содержание ХС-ЛПНП в плазме больных ЭАГ (I–II стадии) с генотипом TG+GG было существенно выше, чем у носителей TT-генотипа (U = 310; p = 0,017). В этой же группе выявлено влияние генотипа на уровень ХС-ЛПНП (H = 4,65; p = 0,030). Достоверных различий по другим показателям липидного спектра и индекса атерогенности среди больных с разными генотипами по rs1061622 не обнаружено.

Обсуждение

Группа больных ЭАГ (I–II стадии) статистически значимо отличалась от контрольной группы по распределению частот аллелей и генотипов по rs1061622 гена *TNFRSF1B*. Показано почти двукратное повышение риска развития ЭАГ у носителей аллеля G по данному полиморфному маркеру. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении полиморфного варианта rs1061622 гена *TNFRSF1B* в наследственную предрасположенность населения Карелии к ЭАГ (I–II стадии).

Как уже указывалось выше, rs1061622 представляет собой несинонимическую мутацию в позиции 587 экзона 6. Замена тимина на гуанин приводит к формированию различий в аминокислотной последовательности рецептора (Met196 и Arg196), которые возникают близко к сайту узнавания для металлопротеаз, активность которых существенно возрастает при воспалении [Glossop et al., 2005]. Указанная однонуклеотидная замена может влиять на соотношение mbTNFRII и sTNFRII [Komata et al., 1999]. Так, Stark с соавторами показали, что при наличии у доноров формы рецептора Arg196 уровень sTNFRII в плазме крови может быть ниже, чем при форме Met196 [Stark et al., 2003]. В то же время, согласно результатам другой работы, у носителей GG(Arg196)-генотипа уровень sTNFRII был выше, чем у лиц с генотипами TT+TG [Tolusso et al., 2004].

Изменение содержания растворимых рецепторов к TNF α может быть одним из основных механизмов патогенетического влияния rs1061622 на развитие ЭАГ. Растворимые рецепторы к TNF α конкурируют за лиганд с мембраносвязанными рецепторами, выступая, таким образом, как аттенуаторы активности этого цитокина. В то же время TNF α в связанной с sTNFR форме является более стабильным и оказывает пролонгированное действие на иммунные клетки и биохимические показатели крови [Aderka, 1996].

Таблица 2. Липидный состав плазмы крови и индекс атерогенности у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру 587Т>G (rs1061622) гена *TNFRSF1B*

Table 2. Lipid profile of the blood plasma and the atherogenicity index in carriers of different genotypes for the polymorphic marker 587Т>G (rs1061622) of the *TNFRSF1B* gene

Показатель Index	Контрольная группа Control group		Пациенты с ЭАГ (I–II стадии) Patients with EH (stage I–II)	
	ТТ (n=24)	TG+GG (n=28)	ТТ (n=36)	TG+GG (n=33)
Генотип Genotypes				
ОХС, ммоль/л total cholesterol, mmol/l	5,16 ± 0,26 (5,21)	5,39 ± 0,22 (5,56)	5,36 ± 0,20 (4,84)	5,64 ± 0,26 (5,72)
ХС-ЛПВП, ммоль/л HDL-cholesterol, mmol/l	1,64 ± 0,30 (1,42)	1,30 ± 0,06* (1,26)	1,37 ± 0,12 (1,19)	1,35 ± 0,06 (1,32)
ХС-ЛПНП, ммоль/л LDL-cholesterol, mmol/l	3,50 ± 0,02 (3,61)	4,16 ± 0,15* (4,37)	3,27 ± 0,16 (2,95)	4,28 ± 0,28* (4,00)
ТГ, ммоль/л TG, mmol/l	1,73 ± 0,19 (1,59)	1,91 ± 0,32 (1,60)	1,52 ± 0,08 (1,29)	2,23 ± 0,12 (1,90)
Индекс атерогенности, усл. ед. atherogenicity index, conventional units	3,18 ± 0,19 (3,34)	3,90 ± 0,21* (3,50)	3,4 ± 0,29 (3,86)	4,23 ± 0,24 (4,60)

Примечание. Данные представлены в виде М ± m (Медиана). *Различия достоверны по сравнению с генотипом ТТ.

Note. The data are presented in the form M ± m (Median). *Differences are significant in comparison with the TT genotype.

TNF α является плейотропным провоспалительным цитокином. Он способствует активации макрофагов, регулирует миграцию лейкоцитов к очагу воспаления, участвует в формировании атеросклеротических бляшек и усилении их нестабильности [Steyers, Miller, 2014]. Повышение его уровня при ряде заболеваний способствует стимулированию продукции активных форм кислорода, вазоконстриктора эндотелина-1 и экспрессии молекул адгезии, снижению активности эндотелиальной синтазы оксида азота [Sprague, Khalil, 2009; Steyers, Miller, 2014]. Все эти процессы ведут к нарушениям фибринолиза, регенерации эндотелия и вазодилатации и в конечном итоге к формированию гипертензии. Важно и то, что TNF α модулирует активность ряда ферментов липидного и холестерина обмена [Pora et al., 2007], активирует НАДФН-оксидазу [Gao et al., 2007]. Таким образом, увеличение уровня этого цитокина у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями играет существенную роль в изменении липидного профиля и гипероксидации липидов [Pora et al., 2007]. В свою очередь, окисленные ЛПНП способствуют дифференциации моноцитов в разные типы макрофагов, которые являются основными продуцентами TNF α [Seo et al., 2015]. Отмечено, что уровень этого цитокина в плазме крови положительно коррелирует с содержанием ХС-ЛПНП и их окисленных форм [Ito et al.,

2001]. У лиц с повышенным давлением крови уровень общего холестерина и атерогенных фракций липидов (холестерина липопротеинов низкой плотности, триацилглицеринов) значительно выше, чем у здоровых людей [Колесникова и др., 2009]. В норме соотношение атерогенных липопротеинов, например ХС-ЛПНП, и антиатерогенных, например ХС-ЛПВП, сбалансировано и выражается в виде индекса атерогенности, который у здоровых людей, как правило, не превышает значения 3,5. У людей с повышенным давлением крови наблюдается нарастание индекса атерогенности, что свидетельствует о развитии дислипидемии и атеросклероза сосудов [Колесникова и др., 2009].

У здоровых индивидов наблюдается значительная вариабельность в содержании TNF α , которая может быть связана с носительством полиморфных вариантов гена *TNF* и, вероятно, генов, кодирующих рецепторы к этому белку (*TNFR1* и *TNFR2*) [Fernandes et al., 2002; Sandoval-Pinto et al., 2016]. Поскольку rs1061622 опосредует физиологическую активность фактора некроза опухоли альфа, мы предположили, что он может влиять и на липидный состав плазмы крови. Действительно, дисперсионный анализ показал зависимость содержания ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП и значения индекса атерогенности от носительства определенных генотипов по указанному полиморфному маркеру в контрольной группе и содержания

ХС-ЛПНП – в группе больных ЭАГ. Полученные данные позволяют думать, что rs1061622 гена *TNFRSF1B* может быть вовлечен в этиологию и патогенез ЭАГ (I–II стадии) посредством его влияния на липидный состав крови. Выявленная в других работах тесная корреляция уровня sTNFRII с содержанием ХС-ЛПНП и триацилглицериннов также свидетельствует в пользу нашего предположения [Fernández-Real et al., 1999; Mizia-Stec et al., 2003; Straczkowski et al., 2006].

Заключение

Таким образом, нами выявлена ассоциация полиморфного варианта rs1061622 Т>G гена *TNFRSF1B* с развитием эссенциальной артериальной гипертензии (I–II стадии) у жителей Карелии, что позволяет использовать его как маркер генетической предрасположенности к данному заболеванию. Вероятно, rs1061622 может вносить вклад в этиологию и патогенез ЭАГ, влияя на содержание и соотношение разных фракций липопротеинов.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0049).

Литература

Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (IV пересмотр) / Российское медицинское общество по артериальной гипертензии. Всероссийское научное общество кардиологов // Системные гипертензии. 2010. № 3. С. 5–26.

Колесникова Л. И., Долгих В. В., Осипова Е. В., Натяганова Л. В., Рычкова Л. В., Гребенкина Л. А., Ильин В. П., Долгих М. И. Некоторые особенности липидного спектра крови у подростков с разными формами артериальной гипертензии // Клиническая лабораторная диагностика. № 12. 2009. С. 6–8.

Руководство по кардиологии. Учебное пособие в 3 т. / Под ред. Г. И. Сторожакова, А. А. Горбаченкова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. Т. 1. 672 с.

Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. М.: Медиа-Сфера, 1998. 352 с.

Aderka D. The potential biological and clinical significance of the soluble tumor necrosis factor receptors // Cytokine Growth Factor Rev. 1996. Vol. 7. P. 231–240.

Allen R. A., Lee E. M., Roberts D. H., Park B. K., Pirmohamed M. Polymorphisms in the TNF- α and TNF-receptor genes in patients with coronary artery disease // Eur. J. Clin. Invest. 2001. Vol. 31. P. 843–851.

Bautista L. E., Vera L. M., Arenas I. A., Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension // J. Hum. Hypert. 2005. Vol. 19. P. 149–154.

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

Fernandes H., Koneru B., Fernandes N., Hameed M., Cohen M. C., Raveche E., Cohen S. Investigation of promoter polymorphisms in the tumor necrosis factor- α and interleukin-10 genes in liver transplant patients // Transplantation. 2002. Vol. 73, no. 12. P. 1886–1891.

Fernández-Real J. M., Gutiérrez C., Ricart W., Castiñeira M. J., Vendrell J., Richart C. Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptors 1 and 2 are independent determinants of plasma cholesterol and LDL-cholesterol concentrations in healthy subjects // Atherosclerosis. 1999. Vol. 146, no. 2. P. 321–327.

Friedewald W. T., Levy I., Fredrickson D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // Clin. Chem. 1972. Vol. 18, no. 6. P. 499–502.

Gao X., Belmadani S., Picchi A., Xu X., Potter B. J., Tewari-Singh N., Capobianco S., Chilian W. M., Zhang C. Tumor necrosis factor- α induces endothelial dysfunction in Lepr (db) mice // Circulation. 2007. Vol. 115, no. 2. P. 245–254. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.650671

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

Harrison D. G., Guzik T. J., Lob H., Madhur M., Marvar P. J., Thabet S., Vinh A., Weyand C. Inflammation, Immunity and Hypertension // Hypertension. 2011. Vol. 57, no. 2. P. 132–140.

Ito H., Ohshima A., Tsuzuki M., Ohto N., Takao K., Hiji C., Yanagawa M., Ogasawara M., Nishioka K. Association of serum tumour necrosis factor- α with serum low-density lipoprotein – cholesterol and blood pressure in apparently healthy Japanese women // Cl. Exp. Pharm. Phys. 2001. Vol. 28. P. 188–192.

Komata T., Tsuchiya N., Matsushita M., Hagiwara K., Tokunaga K. Association of tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus // Tissue Antigens. 1999. Vol. 53. P. 527–533.

Markoula S., Chatzikiyakidou A., Giannopoulos S., Odysseas K., Markou S., Vemmos K., Georgiou I., Kyritsis A. P. Association of TNF-857C>T, TNFRSF1A36A>G, and TNFRSF1B676T>G polymorphisms with ischemic stroke in a Greek population // Stroke Res. Treat. 2011. 2011: 920584. doi: 10.4061/2011/920584

McTiernan C. F., Ramani R., Burkhead B., McNamara D. The methionine 196 arginine polymorphism of the TNF receptor 2 gene (TNFRSF1B) is not associated with worse outcomes in heart failure // Cytokine. 2012. Vol. 60, no. 3. P. 838–842. doi: 10.1016/j.cyt.2012.07.035

Mizia-Stec K., Zahorska-Markiewicz B., Manddecki T., Janowska J., Szulc A., Jastrzebska-Maj E., Gasior Z. Hyperlipidaemias and serum cytokines in pa-

tients with coronary artery disease // *Acta Cardiol.* 2003. Vol. 58, no. 1. P. 9–15.

Sandoval-Pinto E., Padilla-Gutiérrez J. R., Valdés-Alvarado E., García-González I., J., Valdez-Haro A., Muñoz-Valle J. F., Flores-Salinas H. E., Brennan-Bourdon L. M., Valle Y. Association of the -1031 T>C polymorphism and soluble TNF- α levels with Acute Coronary Syndrome // *Cytokine.* 2016. Vol. 78. P. 37–43. doi: 10.1016/j.cyto.2015.11.014

Paik J. K., Chae J. S., Kang R., Kwon N., Lee S.-H., Lee J. H. Effect of age on atherogenicity of LDL and inflammatory markers in healthy women // *Nutr. Metab. And Cardiovasc. Diseases.* 2013. Vol. 23. P. 967–972. doi: 10.1016/j.numecd.2012.08.002

Popa C., Netea M. G., van Riel P. L. C. M., van der Meer J. W. M., Stalenhoef A. F. H. The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk // *J. Lipid Res.* 2007. Vol. 48. P. 751–762. doi: 10.1194/jlr.R600021-JLR200

Safranow K., Dziedziejko V., Rzeuski R., Czyżycska E., Wojtarowicz A., Bińczak-Kuleta A., Jakubowska K., Olszewska M., Ciechanowicz A., Kornacewicz-Jach Z., Machaliński B., Pawlik A., Chlubek D. Plasma concentrations of TNF- α and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease // *Tissue Antigens.* 2009. Vol. 74. P. 386–392. doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01332.x

Sbarsi I., Falconpa C., Boiocchji C., Campo I., Zorzetto M., De Silvestri A., Cucciaia M. Inflammation and atherosclerosis: the role of TNF and TNF receptors polymorphisms in coronary artery disease // *Int. J. Immun. Pharm.* 2007. Vol. 20, no. 1. P. 145–154.

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

Sheu W. H. H., Lee W. J., Chang R. L., Chen Y. T. Plasma tumor necrosis factor alpha levels and insulin sensitivity in hypertensive subjects // *Clin. Exp. Hypertens.* 2000. Vol. 22. P. 595–606.

Seo J.-W., Yang E.-J., Yoo K.-H., Choi I.-H. Macrophage differentiation from monocytes is influenced by the lipid oxidation degree of low density lipoprotein

// *Mediators of Inflammation.* 2015. ID 235797. 10 p. doi: 10.1155/2015/235797

Sprague A. H., Khalil R. A. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease // *Biochem Pharmacol.* 2009. Vol. 78, no. 6. P. 539–552. doi: 10.1016/j.bcp.2009.04.029

Stark G. L., Dickinson A. M., Jackson G. H., Taylor P. R., Proctor S. J., Middleton P. G. Tumour necrosis factor receptor type II 196M/R genotype correlates with circulating soluble receptor levels in normal subjects and with graft-versus-host disease after sibling allogeneic bone marrow transplantation // *Transplantation.* 2003. Vol. 76. P. 1742–1749.

Steyers C. M. 3rd, Miller F. J. Jr. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory disease // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. P. 11324–11349. doi: 10.3390/ijms150711324

Straczkowski M., Kowalska I., Nikolajuk A., Adam-ska A., Karolczuk-Zarachowicz M., Karczewska-Kupczewska M., Kozłowska A., Gorska M. Plasma levels of soluble tumor necrosis factor- α receptors are related to total and LDL-cholesterol in lean, but not in obese Subjects // *Cardiovascular Diabetology.* 2006. Vol. 5: 14. doi: 10.1186/1475-2840-5-14

Tolusso B., Sacco S., Gremese E., La Torre G., Tomietto P., Ferraccioli G. F. Relationship between the tumor necrosis factor receptor II (TNF-RII) gene polymorphism and sTNF-RII plasma levels in healthy controls and in rheumatoid arthritis // *Hum. Immunol.* 2004. Vol. 65, no. 12. P. 1420–1426. doi: 10.1016/j.humimm.2004.06.010

Tokushige K., Takakura M., Tsuchiya-Matsushita N., Taniai M., Hashimoto E., Shiratori K. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis // *J. Hepatol.* 2007. Vol. 46. P. 1104–1110. doi: 10.1016/j.jhep.2007.01028

Xu F., Zhou G., Han S., Yuan W., Chen S., Fu Z., Li D., Zhang H., Li D., Pang D. Association of TNF- α , TNFRSF1A and TNFRSF1B gene polymorphisms with the risk of sporadic breast cancer in northeast Chinese Han women // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, no. 7. P. 101–138. doi: 10.1371/journal.pone.0101138

Поступила в редакцию 30.03.2018

References

Diagnostika i lechenie arterial'noi gipertenzii. Rossijskie rekomendatsii (IV peresmotr) [Diagnosis and treatment of arterial hypertension. Russian recommendations (IV edition)]. Sistemnye gipertenzii [Systemic Hypertension]. 2010. No. 3. P. 5–26.

Fletcher R., Fletcher S., Vagner E. *Klinicheskaya epidemiologiya [Clinical epidemiology].* Moscow: Media-Sfera, 1998. 352 p.

Kolesnikova L. I., Dolgikh V. V., Osipova E. V., Natyaganova L. V., Rychkova L. V., Grebenkina L. A., Il'in V. P., Dolgikh M. I. Nekotorye osobennosti lipidnogo spektra krovi u podrostkov s raznymi formami arterial'noi gipertenzii [Some features of blood lipid spectrum of adolescents with different forms of arterial hypertension].

Klinicheskaya laboratornaya diagnostika [Clinical Lab. Diagnostics]. No. 12. 2009. P. 6–8.

Rukovodstvo po kardiologii [Guidelines for cardiology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2008. Vol. 1. 672 p.

Aderka D. The potential biological and clinical significance of the soluble tumor necrosis factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996. Vol. 7. P. 231–240.

Allen R. A., Lee E. M., Roberts D. H., Park B. K., Pirmohamed M. Polymorphisms in the TNF- α and TNF-receptor genes in patients with coronary artery disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001. Vol. 31. P. 843–851.

Bautista L. E., Vera L. M., Arenas I. A., Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and es-

sential hypertension. *J. Hum. Hypert.* 2005. Vol. 19. P. 149–154.

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

Fernandes H., Koneru B., Fernandes N., Hammeed M., Cohen M. C., Raveche E., Cohen S. Investigation of promoter polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 genes in liver transplant patients. *Transplantation.* 2002. Vol. 73, no. 12. P. 1886–1891.

Fernández-Real J. M., Gutiérrez C., Ricart W., Castiñeira M. J., Vendrell J., Richart C. Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptors 1 and 2 are independent determinants of plasma cholesterol and LDL-cholesterol concentrations in healthy subjects. *Atherosclerosis.* 1999. Vol. 146, no. 2. P. 321–327.

Friedewald W. T., Levy I., Fredrickson D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972. Vol. 18, no. 6. P. 499–502.

Gao X., Belmadani S., Picchi A., Xu X., Potter B. J., Tewari-Singh N., Capobianco S., Chilian W. M., Zhang C. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in Lepr (db) mice. *Circulation.* 2007. Vol. 115, no. 2. P. 245–254. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.650671

Glossop J. R., Dawes P. T., Nixon N. B., Matthey D. L. Polymorphism in the tumour necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2005. Vol. 7. P. 1227–1234.

Harrison D. G., Guzik T. J., Lob H., Madhur M., Marvar P. J., Thabet S., Vinh A., Weyand C. Inflammation, Immunity and Hypertension. *Hypertension.* 2011. Vol. 57, no. 2. P. 132–140.

Ito H., Ohshima A., Tsuzuki M., Ohto N., Takao K., Hijii C., Yanagawa M., Ogasawara M., Nishioka K. Association of serum tumour necrosis factor- α with serum low-density lipoprotein – cholesterol and blood pressure in apparently healthy Japanese women. *Cl. Exp. Pharm. Phys.* 2001. Vol. 28. P. 188–192.

Komata T., Tsuchiya N., Matsushita M., Hagiwara K., Tokunaga K. Association of tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens.* 1999. Vol. 53. P. 527–533.

Markoula S., Chatzikyriakidou A., Giannopoulos S., Odysseas K., Markou S., Vemmos K., Georgiou I., Kyritsis A. P. Association of TNF-857C>T, TNFRSF1A36A>G, and TNFRSF1B676T>G polymorphisms with ischemic stroke in a Greek population. *Stroke Res. Treat.* 2011. 2011: 920584. doi: 10.4061/2011/920584

McTiernan C. F., Ramani R., Burkhead B., McNamara D. The methionine 196 arginine polymorphism of the TNF receptor 2 gene (TNFRSF1B) is not associated with worse outcomes in heart failure. *Cytokine.* 2012. Vol. 60, no. 3. P. 838–842. doi: 10.1016/j.cyto.2012.07.035

Mizia-Stec K., Zahorska-Markiewicz B., Mandacki T., Janowska J., Szulc A., Jastrzebska-Maj E.,

Gasior Z. Hyperlipidaemias and serum cytokines in patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol.* 2003. Vol. 58, no. 1. P. 9–15.

Sandoval-Pinto E., Padilla-Gutiérrez J. R., Valdés-Alvarado E., García-González I. J., Valdez-Haro A., Muñoz-Valle J. F., Flores-Salinas H. E., Brennan-Bourdon L. M., Valle Y. Association of the –1031 T>C polymorphism and soluble TNF- α levels with Acute Coronary Syndrome. *Cytokine.* 2016. Vol. 78. P. 37–43. doi: 10.1016/j.cyto.2015.11.014

Paik J. K., Chae J. S., Kang R., Kwon N., Lee S.-H., Lee J. H. Effect of age on atherogenicity of LDL and inflammatory markers in healthy women. *Nutr. Metab. And Cardiovasc. Diseases.* 2013. Vol. 23. P. 967–972. doi: 10.1016/j.numecd.2012.08.002

Popa C., Netea M. G., van Riel P. L. C. M., van der Meer J. W. M., Stalenhoef A. F. H. The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J. Lipid Res.* 2007. Vol. 48. P. 751–762. doi: 10.1194/jlr.R600021-JLR200

Safranow K., Dziedziczko V., Rzeuski R., Czyżyczka E., Wojtarowicz A., Bińczak-Kuleta A., Jakubowska K., Olszewska M., Ciechanowicz A., Kornacewicz-Jach Z., Machaliński B., Pawlik A., Chlubek D. Plasma concentrations of TNF- α and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease. *Tissue Antigens.* 2009. Vol. 74. P. 386–392. doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01332.x

Sbarsji I., Falconpa C., Boiocchji C., Campo I., Zorzetto M., De Silvestri A., Cucciaia M. Inflammation and atherosclerosis: the role of TNF and TNF receptors polymorphisms in coronary artery disease. *Int. J. Immun. Pharm.* 2007. Vol. 20, no. 1. P. 145–154.

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

Sheu W. H. H., Lee W. J., Chang R. L., Chen Y. T. Plasma tumor necrosis factor alpha levels and insulin sensitivity in hypertensive subjects. *Clin. Exp. Hypertens.* 2000. Vol. 22. P. 595–606.

Seo J.-W., Yang E.-J., Yoo K.-H., Choi I.-H. Macrophage differentiation from monocytes is influenced by the lipid oxidation degree of low density lipoprotein. *Mediators of Inflammation.* 2015. ID 235797. 10 p. doi: 10.1155/2015/235797

Sprague A. H., Khalil R. A. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol.* 2009. Vol. 78, no. 6. P. 539–552. doi: 10.1016/j.bcp.2009.04.029

Stark G. L., Dickinson A. M., Jackson G. H., Taylor P. R., Proctor S. J., Middleton P. G. Tumour necrosis factor receptor type II 196M/R genotype correlates with circulating soluble receptor levels in normal subjects and with graft-versus-host disease after sibling allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation.* 2003. Vol. 76. P. 1742–1749.

Steyers C. M. 3rd, Miller F. J. Jr. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. P. 11324–11349. doi: 10.3390/ijms150711324

Straczkowski M., Kowalska I., Nikolajuk A., Adam-ska A., Karolczuk-Zarachowicz M., Karczewska-Kup-czewska M., Kozłowska A., Gorska M. Plasma levels of soluble tumor necrosis factor- α receptors are related to total and LDL-cholesterol in lean, but not in obese Subjects. *Cardiovascular Diabetology*. 2006. Vol. 5: 14. doi: 10.1186/1475-2840-5-14

Tolusso B., Sacco S., Gremese E., La Torre G., Tomietto P., Ferraccioli G. F. Relationship between the tumor necrosis factor receptor II (TNF-RII) gene polymorphism and sTNF-RII plasma levels in healthy controls and in rheumatoid arthritis. *Hum. Immunol.* 2004. Vol. 65, no. 12. P. 1420–1426. doi: 10.1016/j.humimm.2004.06.010

Tokushige K., Takakura M., Tsuchiya-Matsushi-ta N., Taniai M., Hashimoto E., Shiratori K. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *J. Hepatol.* 2007. Vol. 46. P. 1104–1110. doi: 10.1016/j.jhep.2007.01028

Xu F., Zhou G., Han S., Yuan W., Chen S., Fu Z., Li D., Zhang H., Li D., Pang D. Association of TNF- α , TNFRSF1A and TNFRSF1B gene polymorphisms with the risk of sporadic breast cancer in northeast Chinese Han women. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, no. 7: e101138. doi: 10.1371/journal.pone.0101138

Received March 30, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Топчиева Людмила Владимировна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика
Карелия, Россия, 185910
эл. почта: topchieva67@mail.ru
тел.: (8142) 573107

Корнева Виктория Алексеевна

доцент кафедры факультетской терапии, фтизиатрии,
инфекционных болезней и эпидемиологии, к. м. н.
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vikkorneva@mail.ru

Курбатова Ирина Валерьевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика
Карелия, Россия, 185910
эл. почта: irina7m@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Topchieva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: topchieva67@mail.ru
tel.: (8142) 573107

Korneva, Viktoria

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

Kurbatova, Irina

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

УДК 581.143.32:577.152.1

ФЕРМЕНТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ – ИНДИКАТОРЫ РАЗНЫХ СЦЕНАРИЕВ КСИЛОГЕНЕЗА: В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ВО ВЗРОСЛОМ СОСТОЯНИИ (НА ПРИМЕРЕ *BETULA PENDULA* ROTH)

**К. М. Никерова, Н. А. Галибина, Ю. Л. Мощенская,
Л. Л. Новицкая, М. Н. Подгорная, И. Н. Софронова**

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Впервые проведено исследование активности комплекса ферментов антиоксидантной системы (АОС) (супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПОД)) и полифенолоксидазы (ПФО) на разных этапах онтогенеза при формировании нормальной и аномальной структуры древесины: у сеянцев (6- и 11-недельных) и у взрослых растений разных форм березы повислой. Показано, что в возрасте 6 недель сеянцы обычной березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti) не имеют внешних отличий, однако сеянцы *Betula pendula* Roth var. *pendula* показывают более высокую активность ферментов вторичного метаболизма (ПОД и ПФО) по сравнению с сеянцами *Betula pendula* var. *carelica*. Уже к возрасту 11 недель происходит изменение метаболических стратегий ферментов АОС. У сеянцев березы повислой начинают преобладать ростовые процессы, и растения достигают более высоких морфометрических показателей; напротив, у сеянцев карельской березы наблюдаются более высокие значения ферментов АОС. У взрослых растений карельской березы аномальный ксилогенез, как уже было отмечено нами ранее, путем взаимосвязанной цепочки метаболических реакций находит отражение в более высокой активности ПОД, а также, что отмечено впервые, более высокой активности СОД, КАТ и ПФО. Важно, что переориентация АОС на процессы вторичного метаболизма наблюдается уже в возрасте 11 недель, когда внешние видимые признаки аномального ксилогенеза отсутствуют. Выдвигается гипотеза, что активность ферментов АОС может являться тест-признаком для диагностики аномального ксилогенеза у карельской березы уже на самых ранних этапах онтогенеза.

Ключевые слова: ксилогенез; онтогенез; карельская береза; узорчатая древесина; сеянцы; лист; стебель; супероксиддисмутаза; каталаза; пероксидаза; полифенолоксидаза.

**K. M. Nikerova, N. A. Galibina, Yu. L. Moshchenskaya, L. L. Novitskaya,
M. N. Podgornaya, I. N. Sofronova. THE ANTIOXIDANT ENZYMES –
INDICATORS OF DIFFERENT XYLOGENESIS SCENARIOS: IN EARLY
ONTOGENY AND IN ADULT PLANTS (EXAMPLE OF *BETULA PENDULA*
ROTH)**

We studied the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD)) and polyphenol oxidase (PPO) across ontogenetic stages dur-

ing the formation of normal (in silver birch, *Betula pendula* Roth var. *pendula*) and abnormal (in Karelian birch, *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti) wood structure. This was the first study of this sort. The objects were the seedlings (6- and 11-week-old) and adult plants of different forms of the silver birch (var. *pendula* and var. *carelica*). It was shown that at the age of 6 weeks, the seedlings of *Betula pendula* Roth var. *pendula* and *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti had no external differences, but seedlings of *Betula pendula* Roth var. *pendula* showed a higher activity of secondary metabolism enzymes (POD and PPO) compared to *Betula pendula* var. *carelica* seedlings. We noticed a change in the metabolic strategies of antioxidant enzymes by the age of 11 weeks. Growth processes began to dominate in the var. *pendula* seedlings, and their morphometric parameters reached higher values; on the contrary, var. *carelica* seedlings had higher activities of antioxidant enzymes. As we have reported previously, abnormal xylogenesis in adult Karelian birch plants is biochemically reflected in a higher POD activity. A new finding from this study is the higher activity of SOD, CAT and PPO in the process of abnormal xylogenesis. It is important that the antioxidant system is reoriented towards secondary metabolism already at the age of 11 weeks, when there are no visible signs of abnormal xylogenesis yet. We put forward a hypothesis that the activity of antioxidant enzymes can act as a test for the diagnosis of abnormal xylogenesis in Karelian birch at the earliest stages of the ontogeny.

Key words: xylogenesis; ontogeny; Karelian birch; figured wood; seedlings; leaf; stem; superoxide dismutase; catalase; peroxidase; polyphenol oxidase.

Введение

Ксилогенез, или процесс формирования древесины, – это фиксация углерода в составе структурных полимеров углеводной и фенольной природы в клеточных стенках древеснеющих тканей растений. Изучение процессов ксилогенеза актуально как для фундаментальной науки, так и для практического использования древесного материала [Никишов, 1985; Barnett, Jeronimidis, 2003]. Поэтому необходимо осуществлять поиск путей управления процессами, лежащими в основе ксилогенеза, с целью повышения продуктивности древесных растений. Кроме того, встает важный вопрос: как на ранних этапах обнаружить особенности переходов различных стадий ксилогенеза и какие цитологические, биохимические и молекулярные маркеры могут для этого использоваться [Fucuda, 1996].

Существуют древесные растения, которые позволяют исследователям параллельно изучать механизмы нормального и аномального ксилогенеза. Одним из таких растений является береза повислая (*Betula pendula* Roth var. *pendula*), у которой формируется нормальная прямослойная древесина, и ее особая форма – карельская береза (*B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti), древесина которой носит свилеватый характер и визуально характеризуется наличием узора в местах крупных скоплений паренхимных клеток [Коровин и др., 2003; Novitskaya, Kushnir, 2006].

Наши предыдущие исследования показали, что у нормальной и аномальной древесины

березы повислой существуют биохимические маркеры среди ферментов углеводного обмена и антиоксидантной системы (АОС). При образовании прямослойной древесины сахараза расщепляется преимущественно сахарозосинтазным (СС) путем под контролем гена *SUS1* и сопровождается активным синтезом структурных компонентов клеточных стенок (целлюлозы) [Галибина и др., 2015а, 2016б; Мощенская и др., 2016, 2017]. В аномальных тканях расщепление образующегося избытка сахаразы в камбиальной зоне и флоэме [Новицкая, 2008; Новицкая и др., 2015] сопровождается повышением активности другого сахарозорасщепляющего фермента – апопластной инвертазы (АпИнв) [Галибина и др., 2015б]. В результате повышения активности АпИнв в клетке вместо УДФ-глюкозы, образующейся при расщеплении сахаразы СС, возрастает содержание свободных гексоз. Гексозы, посредством включения в пентозо-фосфатный путь и цикл Кребса [Savidge et al., 1996; Донцов и др., 2006; Couee et al., 2006; Wellen, Thompson, 2010; Borges et al., 2017], участвуют в синтезе активных форм кислорода (АФК) и фенольных соединений, приводя к повышению активности ферментов АОС [Галибина и др., 2013, 2016а; Никерова и др., 2016, 2017а, б; Никерова, Галибина, 2017]. Глюкоза, являясь сигнальной молекулой, может инициировать активность ферментов АОС [Hu et al., 2012], а также непосредственно взаимодействовать с АФК, образуя субстраты пероксидазного окисления [Синькевич и др., 2009]. В результате происходит переключение путей утилизации сахаро-

зы с синтеза целлюлозы (как при образовании нормальной древесины) на реакции вторичного метаболизма.

Субстраты фенольной природы часто являются биологически активными веществами и могут служить сырьем для получения различных препаратов, а сами ферменты АОС могут быть использованы в процессах биокатализа [Burton, 2003; Borges et al., 2017]. Ферменты АОС вовлечены в регуляцию метаболизма на протяжении всего онтогенеза [Жукова и др., 1996; Половникова, Воскресенская, 2008; Jakovljević et al., 2013; Iqbal et al., 2017], поэтому их изучение необходимо на разных его стадиях.

В настоящей работе мы провели изучение активности комплекса ферментов АОС (супероксиддисмутаза (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПОД)) и полифенолоксидазы (ПФО) (1) у взрослых растений березы повислой при формировании нормальной и аномальной структуры древесины и (2) на начальных этапах онтогенеза у 6- и 11-недельных сеянцев обычной и карельской березы.

Объекты и методы исследования

Растительный материал

Объекты исследования – сеянцы и взрослые растения обычной березы повислой (*B. pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica*).

Сеянцы обычной и карельской березы выращивали до возраста 6 и 11 недель под световой установкой при температуре воздуха 21–22 °С, освещенности около 5 клк и 16-часовом светопериоде на питательном грунте следующего состава: N – 0,5 %, С – 21 %, содержание подвижных форм Р и К соответственно 0,03 и 0,09 %. На анализ отбирали стебли и листья. Длина листа была в диапазоне 2–5 см. Семена карельской березы получены от контролируемого опыления деревьев с ярко выраженными признаками узорчатости. Было отобрано по 10–15 индивидуальных растений обычной и карельской березы 6- и 11-недельного возраста для получения общей навески. Аналитическая повторяемость трехкратная.

Возраст взрослых растений на момент отбора составил 25 лет. Они произрастали на лесосеменной плантации в Медвежьегорском районе Республики Карелия. На анализ отбирали растения обычной березы и узорчатые растения карельской березы, выращенные из семян от контролируемого опыления плюсовых деревьев. Исследование проводили в конце июня

(30.06.2016), в период активного камбиального роста. На стволе изучаемых растений вырезали окошки 10×6 см и отделяли кору от древесины. С поверхности древесины соскабливали ткани ксилемы, куда входили материнские клетки ксилемы и наружные слои прироста ксилемы текущего года. С внутренней поверхности коры препарировали ткани флоэмы, которые включали камбиальную зону, проводящую флоэму и самые внутренние слои непроводящей флоэмы. Отбор образцов тканей ствола контролировали под световым микроскопом. У растений карельской березы ткани отбирали из участков ствола с характерными вздутиями, неровностями, крупными бугорками и бугорчатыми выпуклостями. Всего было отобрано 20 растений карельской березы и 8 растений обычной березы повислой, что и составило биологическую повторяемость.

Весь растительный материал замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературной морозильной камере при –70 °С.

Биохимические исследования

Растительные ткани растирали с жидким азотом и гомогенизировали при 4 °С в буфере следующего состава: 50 мМ Нерес (рН 7,5), 1 мМ ЭДТА, 1 мМ ЭГТА, 3 мМ ДТТ, 5 мМ MgCl₂, 0,5 мМ PMSF. После 20-минутной экстракции гомогенат центрифугировали при 10 000 g в течение 20 минут (центрифуга MPW-351R, Польша). Далее проводили диализ при 4 °С в течение 18–20 часов против буфера для гомогенизации, разбавленного в 10 раз. В полученных после диализа ферментативных препаратах спектрофотометрически (СФ 2000, Россия) определяли активность ферментов [Галибина и др., 2013].

Об активности СОД судили по ингибированию фотовосстановления нитросинего тетразолия (НСТ). Инкубационная среда для определения активности СОД содержала: 50 мМ К,Na-фосфатный буфер (рН 7,8), 172 мкМ НСТ, 210 мкМ метионин, 24 мкМ рибофлавин, 0,1% тритон X-100. Для определения активности СОД измеряли уменьшение оптической плотности при 560 нм после 30 минут инкубации под светом флуоресцентных ламп. Активность СОД выражали в усл. ед. на 1 мг белка за 30 минут (усл. ед./мг белка).

Об активности КАТ судили по ферментативному разложению перекиси водорода. Инкубационная среда содержала 50 мМ К,Na-фосфатный буфер (рН 7,8) и 14,7 мМ перекись водорода. Время инкубации – 4 минуты. Для определения активности КАТ измеряли умень-

шение оптической плотности при 240 нм, содержание H_2O_2 рассчитывали по предварительно построенному градуировочному графику [Никерова и др., 2016]. Активность КАТ выражали в мкмоль восстановленной перекиси водорода на 1 мг белка (мкмоль H_2O_2 /мг белка).

Для определения активности ПОД в качестве донора водорода использовали гваякол, в качестве субстрата – перекись водорода. Инкубационная среда для определения активности ПОД содержала: 50 мМ К,Na-фосфатный буфер (рН 7,8); 2,6 мМ перекись водорода и 21,5 мМ гваякол. Время инкубации – 30 минут. Активность ПОД определяли по скорости образования продукта реакции – тетрагваякола (ТГ). Для определения содержания образовавшегося ТГ измеряли увеличение оптической плотности при 470 нм и количество ТГ рассчитывали с учетом коэффициента экстинкции ($\epsilon_{470 \text{ нм}} = 0,0266 \text{ мкМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$). Активность ПОД выражали в мкмоль образовавшегося ТГ на 1 мг белка (мкмоль ТГ/мг белка) [Галибина и др., 2016а; Никерова, Галибина, 2017].

Для определения активности ПФО в качестве субстрата использовали пирокатехин. Инкубационная среда для определения активности ПФО содержала: 50 мМ К,Na-фосфатный буфер (рН 7,8); 16,4 мМ пирокатехин. Для определения активности ПФО измеряли увеличение оптической плотности при длине волны 420 нм, где поглощают продукты окисления пирокатехина. Время наблюдения за реакцией – 20 минут. Активность ПФО выражали в усл. ед. на 1 мг белка за 1 минуту (усл. ед./мг белка).

Содержание белка определяли по методу Бредфорда.

Статистическая обработка данных осуществлялась в среде Microsoft Excel. В таблице, содержащей значения активности ферментов в органах семян, приведены средние значения и их стандартные отклонения для трехкратной аналитической повторности. На диаграммах, отражающих активность ферментов в тканях ствола взрослых растений, приведены средние значения для биологической повторности и их стандартные ошибки ($n = 8$ – для растений обычной березы повислой, $n = 20$ – для растений карельской березы). На диаграммах, отражающих морфометрические характеристики растений, приведены средние значения для биологической повторности и их стандартные ошибки ($n = 10-15$). Для оценки достоверности различий использовали t -критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования

Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты

Активность антиоксидантных ферментов у взрослых растений обычной и карельской березы в тканях ствола

Активность СОД была выше и в тканях ксилемы, и в тканях флоэмы у взрослых растений карельской березы. В ксилеме – в 6 раз, во флоэме – в 1,3 раза (рис. 1, А).

Отличия по каталазной активности были обнаружены только в ксилеме: у карельской березы она была выше, чем у обычной березы, в 1,2 раза. Во флоэме активность КАТ не различалась у изучаемых форм (рис. 1, Б).

Активность ПОД была значительно выше у растений карельской березы по сравнению с обычной березой повислой. В ксилеме – в 6,9 раза, во флоэме – в 10 раз (рис. 1, В).

Показатели активности ПФО у растений карельской березы также значительно превышали таковые у обычной. В ксилеме у растений карельской березы она была выше в 4 раза, а во флоэме – в 3,8 раза (рис. 1, Г).

Активность антиоксидантных ферментов у семян обычной и карельской березы в стебле и листе

В возрасте 6 недель семена обычной березы повислой и карельской березы не имели внешних морфометрических отличий, растения были примерно одинаковы по высоте и биомассе.

По достижении возраста 11 недель отличия семян по морфометрическим характеристикам становятся явными, ростовые процессы интенсивнее выражены у обычной березы повислой.

Так, высота семян обычной березы составила в среднем 6,8 см, что в 1,5 раза выше, чем у карельской березы, у которой высота семян была 4,6 см. Масса листьев у семян обычной березы повислой была в 1,9 раза выше, чем у семян карельской березы: значения составили 0,29 и 0,15 г соответственно. При сравнении массы стебля тенденция сохранилась, обнаружено отличие в 2 раза: масса стебля 0,08 г – у семян обычной березы повислой, 0,04 г – у семян карельской березы (рис. 2).

Активность СОД в целом возрастала при увеличении возраста семян у обеих изучаемых форм березы повислой. Однако на 6 неделях активность была выше в листе, а на 11 –

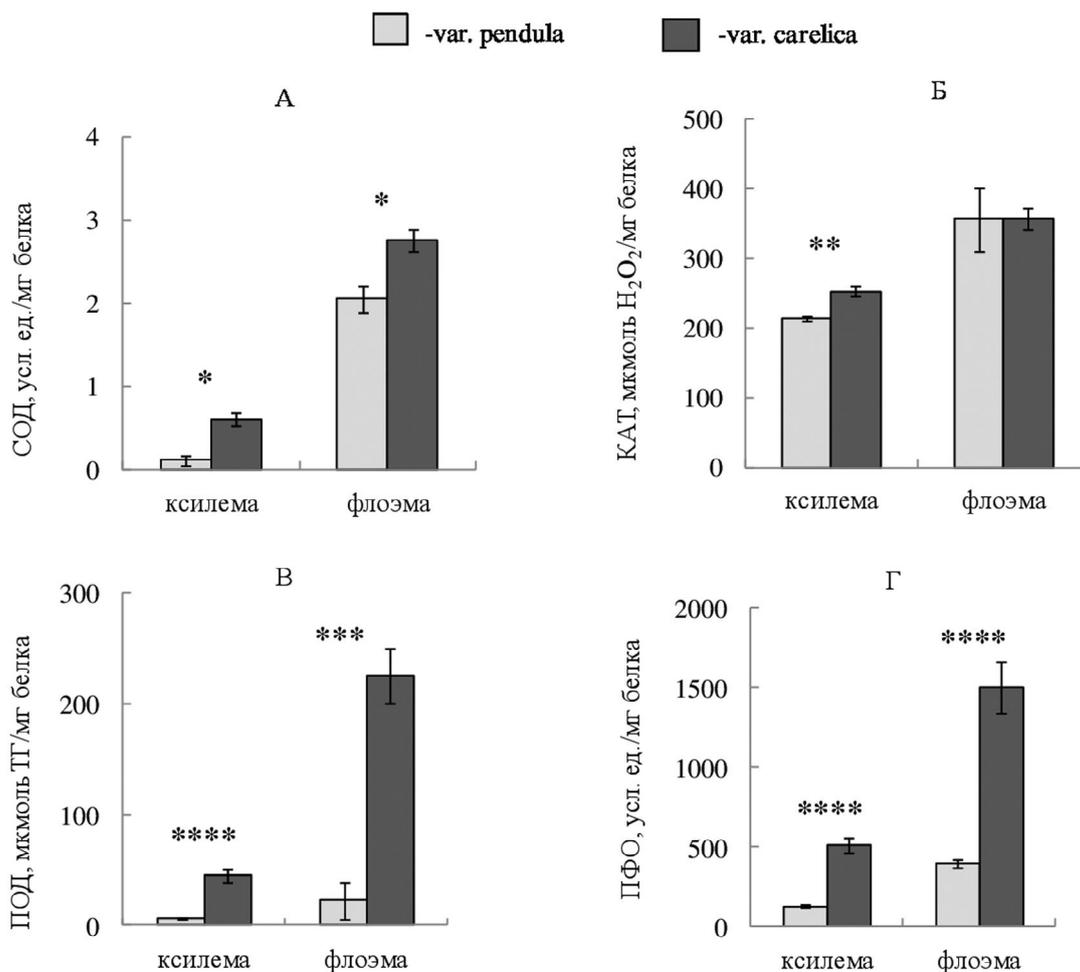


Рис. 1. Активность СОД (А), КАТ (Б), ПОД (В) и ПФО (Г) в ксилеме и флоэме у растений обычной (*var. pendula*) и карельской (*var. carelica*) березы

Fig. 1. Activity of SOD (A), CAT (B), POD (B) and PPO (Г) in the xylem and phloem of silver birch (*var. pendula*) and Karelian birch (*var. carelica*)

в стебле. Для обеих форм обнаружены сходные метаболические стратегии СОД. Активность фермента в стебле была выше у сеянцев карельской березы обоих возрастов: на 6 неделях – в 5 раз, на 11 неделях – в 1,2 раза.

В листе, напротив, активность СОД была незначительно выше у сеянцев обычной березы.

Активность КАТ показала очень высокие значения в листе у 6-недельных сеянцев, причем у сеянцев карельской березы активность КАТ была немного выше. В стебле активность фермента также была более высокой у сеянцев карельской березы, отличалась в 1,4 раза.

К возрасту 11 недель активность КАТ резко снизилась в листе у обеих форм и была незначительно выше у сеянцев обычной березы. В стебле обычной березы повислой при переходе с 6 до 11 недель активность КАТ незначительно возросла – в 1,1 раза, а в стебле у сеянцев карельской березы более значительно снизилась – в 1,3 раза.

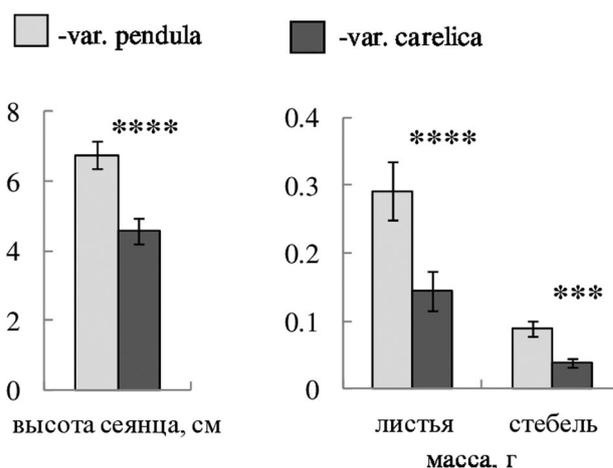


Рис. 2. Морфометрические показатели 11-недельных сеянцев обычной (*var. pendula*) и карельской (*var. carelica*) березы

Fig. 2. Morphometric parameters of the 11-week-old seedlings of silver birch (*var. pendula*) and Karelian birch (*var. carelica*)

Активность ферментов АОС у 6- и 11-недельных сеянцев обычной (*var. pendula*) и карельской (*var. carelica*) березы в стебле и листе

Activity of antioxidant enzymes in stems and leaves of the 6-and 11-week-old seedlings of silver birch (*var. pendula*) and Karelian birch (*var. carelica*)

Фермент Enzyme	Форма <i>Betula pendula</i> Forms of <i>Betula pendula</i>	6 недель 6 weeks		11 недель 11 weeks	
		стебель stem	лист leaf	стебель stem	лист leaf
СОД, усл. ед./мг белка SOD, U/mg protein	<i>var. pendula</i>	0,2 ± 0,01	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1
	<i>var. carelica</i>	1 ± 0,1	1,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1
КАТ, мкмоль H ₂ O ₂ /мг белка CAT, μmol H ₂ O ₂ /mg protein	<i>var. pendula</i>	532 ± 30	1458 ± 16	594 ± 16	593 ± 6
	<i>var. carelica</i>	747 ± 5	1605 ± 32	585 ± 57	532 ± 32
ПОД, мкмоль ТГ/мг белка POD, μmol TG/mg protein	<i>var. pendula</i>	49 ± 2	27 ± 1	6,2 ± 0,3	0,9 ± 0,04
	<i>var. carelica</i>	44 ± 2	6,4 ± 0,3	13 ± 1	1,1 ± 0,1
ПФО, усл. ед./мг белка PPO, U/mg protein	<i>var. pendula</i>	314 ± 16	129 ± 6	227 ± 11	45 ± 2
	<i>var. carelica</i>	201 ± 10	104 ± 5	375 ± 19	51 ± 3

Таким образом, отмечаем, что в 6 недель значения активности КАТ были более высокие у сеянцев карельской березы. В 11 недель в стебле значения активности КАТ не отличаются, а в листе активность КАТ выше у сеянцев обычной березы повислой в 1,1 раза.

Активность ПОД у 6-недельных сеянцев обычной березы повислой была выше в 1,1 (стебель) и в 4,2 (лист) раза по сравнению с карельской березой. А в 11 недель, напротив, активность ПОД у сеянцев карельской березы превышала значения березы обычной в 2,1 раза в стебле и в 1,2 раза в листе.

При изучении ПФО обнаружена аналогичная ПОД тенденция. В 6 недель активность фермента выше у сеянцев обычной березы повислой и в стебле и в листе. В 11 недель активность фермента становится выше у сеянцев карельской березы. Отметим очень высокие значения ПФО в стебле 11-недельных сеянцев карельской березы. В 6 недель активность ПФО была выше в 1,6 раза у сеянцев обычной березы по сравнению с сеянцами карельской березы, а к 11 неделям уже у сеянцев карельской березы активность ПФО в 1,7 раза выше, чем у сеянцев обычной березы повислой. В листе тенденция та же, однако количественные показатели активности значительно ниже. В 6 недель активность ПФО была выше в 1,2 раза у сеянцев обычной березы по сравнению с сеянцами карельской березы, а в 11 недель

у сеянцев карельской березы наблюдалась активность ПФО в 1,1 раза выше, чем у сеянцев обычной березы повислой.

Значения активности СОД, КАТ, ПОД и ПФО у сеянцев разных форм березы повислой приведены в таблице.

Обсуждение

Проведенное исследование позволило выявить ряд отличий в нейтрализации активных форм кислорода у двух форм березы повислой в раннем онтогенезе и взрослом состоянии.

У 25-летних растений карельской березы в местах аномалий в период активного камбиального роста формирование древесины происходит на фоне высокой активности ферментов АОС (СОД, ПОД и ПФО) как в ксилеме, так и во флоэме, значительно превышающей таковую у обычной березы (рис. 1, А, В, Г). Это первая отличительная черта формирующихся аномальных тканей камбиального региона у карельской березы. Полученные данные о высокой активности ПОД в местах аномалий подтверждают наши предыдущие исследования [Галибина и др., 2013, 2016а; Никерова, Галибина, 2017; Никерова и др., 2017а, б]. При этом активность КАТ была выше лишь в тканях ксилемы, во флоэме разницы не обнаружено (рис. 1, Б). Каталаза – это первый фермент, принимающий участие в нейтрали-

зации H_2O_2 . Ранее нами было показано, что понижение активности КАТ у карельской березы сопровождается повышением активности другого фермента, утилизирующего перекись водорода, – ПОД [Никерова и др., 2017а]. Эти данные согласуются с результатами исследования Fernandez-Garcia с соавторами, в их работе показана компенсаторная роль ПОД и КАТ в сезонной динамике [Fernandez-Garcia et al., 2004]. Таким образом, взаимосвязь активности ПОД и КАТ весьма интересна, их работа скоординирована пространственно и по времени [Chen et al., 2006]. Активность СОД, значения которой во флоэме у карельской березы превосходили таковую у обычной березы в 1,3 раза (рис. 1, А), вероятно, может стать причиной образования больших количеств перекиси водорода в аномальных тканях. Косвенно, располагая более высокими значениями активностей КАТ и ПОД в тканях при аномальном ксилогенезе, мы предполагаем, что высокие количества перекиси водорода – это отличительная особенность аномальных тканей. Однако подтвердить это можно будет только после определения концентрации перекиси водорода. Кроме того, известно, что H_2O_2 в свою очередь может являться сигнальной молекулой для запуска генов ПФО [Thiruparong et al., 2004].

Активность СОД, участвующей в генерации H_2O_2 , в ксилеме у двух форм березы повислой была значительно ниже по сравнению с флоэмой, что, вероятно, сказалось на понижении активности остальных ферментов АОС (рис. 1) – ПОД и КАТ, которые могут нейтрализовать перекись водорода, образовавшуюся в ходе реакции супероксиддисмутазного окисления [Alicí, Arabaci, 2016]. Хотя, конечно, это далеко не единственный путь образования перекиси водорода. Наряду с супероксиддисмутазной реакцией ее источниками могут быть процессы окисления жирных кислот, работа таких ферментов, как флавиновые дегидрогеназы и др. [Гарифзянов и др., 2011]. Более низкие значения разрушающих перекись ферментов (КАТ и ПОД) в ксилеме, по сравнению с флоэмой, также могут быть связаны с использованием перекиси водорода в биосинтезе лигнина [Osion, Varner, 1993; Ros Barcelo, 2005]. Высокая активность изучаемых ферментов в тканях флоэмы может быть обусловлена большим количеством фенольных соединений, что характерно для древесных растений [Антонова, Стасова, 2006, 2008], которые, в свою очередь, являются субстратами для окислительных реакций ферментов АОС [Srivastava, van Huyste, 1977].

Мы выдвигаем гипотезу, что СОД, как первый фермент АОС [Прадедова и др., 2011], мо-

жет запускать ответы взаимосвязанных с ней метаболическими путями ферментов АОС. С другой стороны, высокая активность ПОД может способствовать накоплению супероксидрадикалов, которые образуются при выполнении ПОД оксидазных функций [Минибаева, Гордон, 2003].

Ферменты АОС участвуют в регуляции метаболизма на протяжении всего онтогенеза [Жукова и др., 1996; Половникова, Воскресенская, 2008; Jakovljević et al., 2013; Igbal et al., 2017]. Пероксидаза и каталаза принимают участие в процессах роста и дифференциации [Gaspar, 1995].

Изучение ферментов АОС на начальных этапах онтогенеза выявило отличия в распределении их активности между 6- и 11-недельными растениями. Так, в стебле 6-недельных сеянцев у растений карельской березы, по сравнению с обычной березой, были выше активности СОД и КАТ и ниже активности ПОД и ПФО. В стебле у 11-недельных сеянцев распределение активности ферментов АОС было аналогично тому, что наблюдали у взрослых растений, а именно: активности СОД, ПОД и ПФО выше у сеянцев карельской березы (табл.). Таким образом, стебель 11-недельных сеянцев, когда видимые признаки развития аномалий еще, конечно, отсутствуют, биохимически отражает переход метаболических реакций в направлении аномального ксилогенеза.

Активность СОД к возрасту 11 недель становится значительно выше, вероятно, ввиду увеличения свободнорадикальных окислительно-восстановительных реакций [Прадедова и др., 2009] при интенсивных ростовых процессах.

Активность КАТ не показала отличий у исследуемых растений. Мы предполагаем, что у сеянцев обычной березы это свидетельствует о преобладании каталазного пути расщепления перекиси водорода, что подтверждается затем более низкой активностью ПОД ввиду отсутствия необходимости в нейтрализации перекиси водорода. У сеянцев карельской березы в нейтрализации перекиси водорода задействованы и КАТ и ПОД. Образовавшиеся в ходе пероксидазной реакции полифенолы вступают в реакцию полифенолоксидазного окисления. Предполагаем, что здесь имеет место внутриклеточное повышение активности ПФО, которая включается в метаболизм каскадом реакций ферментов АОС и в данном случае не связана с различными реакциями повреждения, которые обычно вызывают ее высокую активность [Toivonen, Brummell, 2008].

У 11-недельных растений обычной березы более низкая активность ферментов АОС

(табл.) коррелирует с более активными ростовыми процессами (рис. 2). Активация же ферментов АОС у 11-недельных сеянцев карельской березы (табл.) свидетельствует о переориентации на процессы вторичного метаболизма, что коррелирует со снижением темпов роста (рис. 2). Предполагается, что высокие значения активности ПОД и ПФО могут понижать интенсивность ростовых процессов [Laukkanen et al., 1999]. Все эти факты подтверждают ранее обнаруженную у взрослых растений обратную корреляцию между ростовыми процессами и пероксидазной активностью в тканях ствола [Галибина и др., 2013].

Изучение активности ферментов АОС, которые, возможно, могут иметь индикаторную роль в стебле уже в раннем онтогенезе при рассмотрении процессов нормального и аномального ксилогенеза, в листе приобретает особое значение. Лист функционирует в целостной системе донорно-акцепторных отношений. Акцепторные зоны (зоны роста или запасаения) – в случае изучения древесных растений это формирующиеся ствольные ткани – получают ассимиляты, которые образовались в листе в ходе различных процессов жизнедеятельности (например, фотосинтеза и дыхания) [Шелякин и др., 2016]. Мы предположили, что активность ферментов АОС, определяемая в листовом аппарате, могла бы стать удобным биохимическим маркером для идентификации процессов нормального и аномального ксилогенеза. Однако в этом случае особое значение имеет выбор определенной фазы развития листа, поскольку значения активности ферментов могут отличаться между фазами [Никерова и др., 2016]. Несоблюдение этого условия не позволит обнаружить четких отличий по ферментативной активности.

У 6- и 11-недельных сеянцев активность СОД в листе ниже у карельской березы, что, вероятно, связано с акцепторными функциями стебля, где активность СОД выше (табл.).

Активность КАТ количественно значительно снижается от возраста 6 недель к возрасту 11 недель. Это объясняется тем, что фермент показывает высокую активность в молодых жизненноспособных органах и тканях [Карасев и др., 2015] на самых ранних этапах развития растений [Половникова, Воскресенская, 2008], особенно важна роль каталазы в процессах, происходящих в клетках и тканях молодых сеянцев [Willekens et al., 1995]. У 11-недельных растений количественные значения активности КАТ близки в стебле и листе. Это, возможно, свидетельствует о некоем пределе активности фермента, который может быть обуслов-

лен возрастными ограничениями и количеством субстрата, что обнаруживается примерно с возраста 7–9 недель (наши неопубликованные данные).

Таким образом, в возрасте 6 недель активность КАТ выше у сеянцев карельской березы; ПОД, напротив, выше у сеянцев обычной березы. К 11 неделям тенденция приобретает обратную закономерность ввиду качественных перестроек в активности ферментов АОС, что мы уже отмечали на более взрослых сеянцах [Никерова и др., 2016]. На основании полученных данных можно предположить, что активность ферментов АОС в листовом аппарате может быть биохимическим индикатором узорчатости. Дальнейшие исследования в этом направлении и верификация высказанной гипотезы, вероятно, позволят использовать активность ферментов АОС в листовом аппарате для обнаружения узорчатости на ранних стадиях развития структурных аномалий.

Заключение

В результате проведенного исследования выяснено, что ферменты АОС могут быть биохимическими маркерами для определения нормального и аномального ксилогенеза у карельской березы. Наиболее важен тот факт, что отличия по активности ферментов обнаруживаются уже на ранних стадиях онтогенеза, когда видимые признаки аномальной древесины, конечно, отсутствуют. Поэтому наши дальнейшие исследования будут направлены на выявление диапазонов количественных значений активности ферментов АОС, которые бы позволили биохимически характеризовать пути нормального и аномального ксилогенеза в онтогенезе.

Протекание процессов нормального ксилогенеза, связанного с образованием прямо-слоистой древесины, сопряжено с более интенсивными ростовыми процессами. Аномальный ксилогенез сопряжен с активными процессами вторичного метаболизма, что подтверждается высокой активностью ферментов АОС уже у сеянцев карельской березы.

Полученные данные по пониманию биохимических реакций, лежащих в основе ксилогенеза, могут быть использованы для повышения продуктивности древесных растений. Кроме того, органы и ткани с нестандартной ферментативной активностью могут служить сырьем для получения различных биологически активных препаратов.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального

бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-04-100639_р_а).

Литература

Антонова Г. Ф., Стасова В. В. Сезонное развитие флоэмы в стволах сосны обыкновенной // Онтогенез. 2006. Т. 37, № 5. С. 368–383.

Антонова Г. Ф., Стасова В. В. Сезонное развитие флоэмы в стволах лиственницы сибирской // Онтогенез. 2008. Т. 39, № 4. С. 259–272.

Галибина Н. А., Целищева Ю. Л., Андреев В. П., Софронова И. Н., Никерова К. М. Активность пероксидазы в органах и тканях деревьев березы повислой // Уч. зап. ПетрГУ. Сер. Естественные и технические науки. 2013. Т. 133, № 4. С. 7–13.

Галибина Н. А., Новицкая Л. Л., Красавина М. С., Мощенская Ю. Л. Активность сахарозосинтазы в тканях ствола карельской березы в период камбиального роста // Физиология растений. 2015а. Т. 62, № 3. С. 1–10. doi: 10.7868/S0015330315030057

Галибина Н. А., Новицкая Л. Л., Красавина М. С., Мощенская Ю. Л. Активность инвертазы в тканях ствола карельской березы // Физиология растений. 2015б. Т. 62, № 6. С. 804–813. doi: 10.7868/S0015330315060068

Галибина Н. А., Мошкина Е. В., Никерова К. М., Мощенская Ю. Л., Знаменский С. Р. Активность пероксидазы как индикатор степени узорчатости древесины карельской березы // Лесоведение. 2016а. № 4. С. 294–304.

Галибина Н. А., Новицкая Л. Л., Никерова К. М. Избыток экзогенных нитратов подавляет формирование аномальной древесины у карельской березы // Онтогенез. 2016б. Т. 47, № 2. С. 83–91. doi: 10.7868/S047514501602004X

Гарифзянов А. Р., Жуков Н. Н., Иванищев В. В. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений // Современ. проблемы науки и образования. 2011. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/96-4600> (дата обращения: 01.02.2018).

Донцов В. И., Крутько В. Н., Мрикаев Б. М., Уханов С. В. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // Труды ИСА РАН. 2006. Т. 19. С. 50–69.

Еремин А. Н., Метелица Д. И. Каталитические свойства каталазы в микроэмульсиях поверхностно-активных веществ в октане // Биохимия. 1996. Т. 61, № 9. С. 1672–1686.

Жукова Л. А., Воскресенская О. Л., Грошева Н. П. Морфологические и физиологические особенности онтогенеза календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) в посевах разной плотности // Экология. 1996. Т. 2. С. 104–110.

Карасев В. Н., Карасева М. А., Серебрякова Н. Е., Абрамова Д. А. Активность каталазы как показатель жизненного состояния древесных растений в городских условиях // Актуальные проблемы лесного комплекса. 2015. № 43. С. 88–90.

Коровин В. В., Новицкая Л. Л., Курносков Г. А. Структурные аномалии стебля древесных растений. М.: МГУЛ, 2003. 280 с.

Минибаева Ф. В., Гордон Л. Х. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 459–464.

Мощенская Ю. Л., Галибина Н. А., Топчиева Л. В., Новицкая Л. Л. Экспрессия генов, кодирующих изоформы сахарозосинтазы, в ходе аномального ксилогенеза карельской березы // Физиология растений. 2017. Т. 64, № 3. С. 301–310. doi: 10.7868/S0015330317030101

Мощенская Ю. Л., Галибина Н. А., Никерова К. М., Новицкая Л. Л. Активность ферментов диссимиляции сахарозы в раннем онтогенезе разных форм березы повислой // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 11. С. 78–87. doi: 10.17076/eb461

Никерова К. М., Галибина Н. А. Влияние нитратного азота на пероксидазную активность в тканях *Betula pendula* Roth var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) // Сибирский лесной журнал. 2017. № 1. С. 15–24.

Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л., Подгорная М. Н., Софронова И. Н. Каталазная активность в листовом аппарате у сеянцев березы повислой разных форм (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* и var. *carelica* (Mercklin) // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 11. С. 68–77. doi: 10.17076/eb460

Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л. Ферменты антиоксидантной системы в разных сценариях ксилогенеза // Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений. Роль активных форм кислорода в жизни растений: матер. II Междунар. симпоз. (Уфа, 26 июня – 1 июля 2017 г.). Уфа: Первая тип., 2017а. С. 188–192.

Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л. Древесные растения, произрастающие на разных по уровню плодородия почвах, отличаются по активности ферментов АОС // Годичное собрание общества физиологов растений России. Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты: тезисы докл. всерос. конф. (Крым, Судак, 18–24 сентября 2017 г.). Москва, 2017б. 242 с.

Никишов В. Д. Комплексное использование древесины. М.: Лесн. пром., 1985. 264 с.

Новицкая Л. Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.

Новицкая Л. Л., Галибина Н. А., Никерова К. М. Транспорт и запасание сахаров во флоэме *Betula pendula* Roth var. *pendula* и var. *carelica* // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 11. С. 35–47. doi: 10.17076/eb216

Половникова М. Г., Воскресенская О. Л. Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 5. С. 777–785.

Прадедова Е. В., Ишеева О. Д., Саляев Р. К. Супероксиддисмутаза вакуолей клеток растений

// Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. 2009. Т. 26, № 1. С. 21–30.

Прадедова Е. В., Ишеева О. Д., Салаяев Р. К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей клеток корнеплодов столовой свеклы // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 1. С. 40–48. doi: 10.7868/S0015330315030057

Синькевич М. С., Дерябин А. Н., Трунова Т. И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 2. С. 186–192.

Шелякин М. А., Захожий И. Г., Головкин Т. К. Онтогенетические аспекты дыхания растений (на примере *Rubus chamaemorus* L.) // Физиология растений. 2016. Т. 63, № 1. С. 98–107. doi: 10.7868/S0015330316010164

Alici E. H., Arabaci G. Determination of SOD, POD, PPO and CAT Enzyme Activities in *Rumex obtusifolius* L. // ARRB. 2016. Vol. 11, no. 3. P. 1–7. doi: 10.9734/ARRB/2016/29809

Barnett J., Jeronimidis G. Wood quality and its biological basis. Blackwell Publishing Ltd., 2003. 226 p.

Borges C. V., Minatel I. O., Gomez-Gomez H. A., Lima G. P. P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites // Medicinal Plants and Environmental Challenges / Eds. M. Ghorbanpour, A. Varma, Cham: Springer, 2017. P. 259–278. doi: 10.1007/978-3-319-68717-9_15

Burton S. G. Oxidizing enzymes as biocatalysts // Trends Biotechnol. 2003. Vol. 21, no. 12. P. 543–549. doi: 10.1016/j.tibtech.2003.10.006

Chen Y., Zhang M., Chen T., Zhang Y., An L. The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of *Sabina* // S. Afr. J. Bot. 2006. Vol. 72, no. 2. P. 272–279. doi: 10.1016/j.sajb.2005.09.004

Couee I., Sulmon C., Gouesbet G., El Amrani A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. 2006. Vol. 57, no. 3. P. 449–459. doi: 10.1093/jxb/erj027

Fernández-García N., Carvajal M., Olmos E. Graft union formation in tomato plants. Peroxidase and catalase involvement // Ann. Bot. 2004. Vol. 93, no. 1. P. 53–60. doi: 10.1093/aob/mch014

Fukuda H. Xylogenesis: initiation, progression, and cell death // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1996. Vol. 47, no. 1. P. 299–325. doi: 10.1146/annurev.arplant.47.1.299

Gaspar Th. The concept of cancer in in vitro plant cultures and the implication of habituation to hormones and hyperhydricity // Plant Tissue Cult. Biotechnol. 1995. Vol. 1. P. 126–136.

Hu M., Shi Z., Zhang Z., Zhang Y., Li H. Effects of exogenous glucose on seed germination and anti-

oxidant capacity in wheat seedlings under salt stress // Plant Growth Regul. 2012. Vol. 68. P. 177–188. doi: 10.1007/s10725-012-9705-3

Iqbal A., Wang T., Wu G., Tang W., Zhu C., Wang D., Li Yi., Wang H. Physiological and transcriptome analysis of heteromorphic leaves and hydrophilic roots in response to soil drying in desert *Populus euphratica* // Scientific Reports. 2017. Vol. 7, no. 1. Article number 12188. doi: 10.1038/s41598-017-12091-2

Jakovljević D. Z., Stanković M. S., Topuzović M. D. Seasonal variability of *Chelidonium majus* L. secondary metabolites content and antioxidant activity // EXCLI J. 2013. Vol. 12. P. 260–268.

Laukkanen H., Haggman H., Kontunen-Soppela S., Hohtola A. Tissue browning of in vitro culture of Scots pine: role of peroxidase and polyphenol oxidase // Physiol. Plant. 1999. Vol. 106. P. 337–343. doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.106312.x

Novitskaya L. L., Kushnir F. V. The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // J. Plant Growth Regul. 2006. Vol. 25, no. 1. P. 18–29. doi: 10.1007/s00344-004-0419-2

Olson P. O., Varner J. E. Hydrogen peroxide and lignification // Plant J. 1993. Vol. 4, no. 5. P. 887–892. doi: 10.1046/j.1365-313X.1993.04050887.x

Ros Barcelo A. Xylem parenchyma cells deliver the H₂O₂ necessary for lignification in differentiating xylem vessels // Planta. 2005. Vol. 220, no. 5. P. 747–756. doi: 10.1007/s00425-004-1394-3

Savidge R. A. Xylogenesis, genetic and environmental regulation // JAWA J. 1996. Vol. 17, no. 3. P. 269–310. doi: 10.1163/22941932-90001580

Srivastava O. P., Van Huystee R. B. An Interrelationship among Peroxidase, IAA Oxidase and Polyphenol Oxidase from Peanut Cells // Can. J. Bot. 1977. Vol. 55, no. 20. P. 2630–2635.

Thipyapong P., Hunt M. D., Steffens J. C. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility // Planta. 2004. Vol. 220, no. 1. P. 105–107. doi: 10.1007/s00425-004-1330-6

Toivonen P. M. A., Brummell D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables // Postharv. Biol. and Technol. 2008. Vol. 48, no. 1. P. 1–14. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.09.004

Wellen K. E., Thompson C. B. Cellular metabolic stress: Considering how cells respond to nutrient excess // Mol. Cell. 2010. Vol. 40, no. 2. P. 323–332. doi: 10.1016/j.molcel.2010.10.004

Willekens H., Inzé D., Van Montagu M., Van Camp W. Catalases in plants // Molecular Breeding. 1995. Vol. 1, no. 3. P. 207–228. doi: 10.1007/BF02277422

Поступила в редакцию 26.02.2018

References

Antonova G. F., Stasova V. V. Seasonal development of phloem in Scots pine stems. *Russ. J. Dev. Biol.* 2006. Vol. 37, no. 5. P. 306–320. doi: 10.1134/S1062360406050043

Antonova G. F., Stasova V. V. Seasonal development of phloem in Siberian larch stems. *Russ. J. Dev. Biol.* 2008. Vol. 38, no. 4. P. 207–218. doi: 10.1134/S1062360408040024

Dontsov V. I., Krutko V. N., Mrikaev B. M., Ukhanov S. V. Aktivnye formy kisloroda kak sistema: znachenie v fiziologii, patologii i estestvennom starenii [Reactive oxygen species as a system: the role in physiology, pathology, and natural ageing]. *Tr. Inst. sist. analiza RAN* [Proceed. Inst. for Systems Analysis RAS]. 2006. Vol. 19. P. 50–69.

Eremin A. N., Metelitsa D. I. Kataliticheskie svoystva katalazy v mikroemul'siyakh poverkhnostno-aktivnykh veshchestv v oktane [Catalytic properties of catalase in microemulsions of surface-active agents in octane]. *Biokhim.* [Biochem.]. 1996. Vol. 61, no. 9. P. 1672–1686.

Galibina N. A., Tselishcheva Yu. L., Andreev V. P., Sofronova I. N., Nikerova K. M. Aktivnost' peroksidazy v organakh i tkanyakh derev'ev berezy povislou [Peroxidase activity in organs and tissues of silver birch trees]. *Uch. zapiski PetrGU. Ser. Estestvennyye i tehicheskie nauki* [Proceed. Petrozavodsk St. Univ. Nat. Tech. Sci. Ser.]. 2013. Vol. 133, no. 4. P. 7–13.

Galibina N. A., Novitskaya L. L., Krasavina M. S., Moshchenskaya Yu. L. Activity of sucrose synthase in trunk tissues of Karelian birch during cambial growth. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015a. Vol. 62, no. 3. P. 381–389. doi: 10.1134/S102144371503005X

Galibina N. A., Novitskaya L. L., Krasavina M. S., Moshchenskaya Yu. L. Invertase activity in trunk tissues of Karelian birch. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015b. Vol. 62, no. 6. P. 804–813. doi: 10.1134/S1021443715060060

Galibina N. A., Moshkina E. V., Nikerova K. M., Moshchenskaya Yu. L., Znamenskii S. R. Aktivnost' peroksidazy kak indikator stepeni uzorchatosti drevesiny karel'skoi berezy [Peroxidase activity indicates veining of curly birch]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 2016a. No. 4. P. 294–304.

Galibina N. A., Novitskaya L. L., Nikerova K. M. Excess of exogenous nitrates inhibits formation of abnormal wood in the Karelian birch. *Russ. J. Dev. Biol.* 2016b. Vol. 47, no. 2. P. 69–76. doi: 10.1134/S106236041602003X

Garifzyanov A. R., Zhukov N. N., Ivanishchev V. V. Obrazovanie i fiziologicheskie reaktsii aktivnykh form kisloroda v kletkakh rastenii [Formation and physiological reactions of oxygen active forms in plants cells]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern Problems of Science and Education]. 2011. No. 2. URL: <http://www.science-education.ru/96-4600> (accessed: 01.02.2018).

Karasev V. N., Karaseva M. A., Serebryakova N. E., Abramova D. A. Aktivnost' katalazy kak pokazatel' zhiznennogo sostoyaniya drevesnykh rastenii v gorodskikh usloviyakh [Catalase activity as an indicator of the vital state of woody plants in urban environments]. *Aktual'nye problemy les. kompleksa* [Topica Iss. of Timber Complex]. 2015. No. 43. P. 88–90.

Korovin V. V., Novitskaya L. L., Kurnosov G. A. Strukturnye anomalii steblya drevesnykh rastenii [Structural abnormalities of woody plants stems]. Moscow: Moscow State Forest University, 2003. 280 p.

Minibaeva F. V., Gordon L. Kh. Superoxide Production and the Activity of Extracellular Peroxidase in Plant Tissues under Stress Conditions. *Russ. J. Plant Physiol.* 2003. Vol. 50, no. 3. P. 168–174. doi: 10.1023/A:1023842808624

Moshchenskaya Yu. L., Galibina N. A., Nikerova K. M., Novitskaya L. L. Aktivnost' fermentov dissimilyatsii sakharozy v rannem ontogeneze raznykh form berezy povislou [Activity of sucrose dissimilating enzymes in early ontogeny in different forms of silver birch]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2016. No. 11. P. 78–87. doi: 10.17076/eb461

Moshchenskaya Yu. L., Galibina N. A., Topchieva L. V., Novitskaya L. L. Expression of genes encoding sucrose synthase isoforms during anomalous xylogenesis in Karelian birch. *Russ. J. Plant Physiol.* 2017. Vol. 64, no. 4. P. 616–624. doi: 10.1134/S1021443717030104

Nikerova K. M., Galibina N. A. Vliyanie nitratnogo azota na peroksidaznuyu aktivnost' v tkanyakh *Betula pendula* Roth var. *pendula* i *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) [The influence of nitrate on the peroxidase activity in tissues of *Betula pendula* Roth var. *pendula* and *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin)]. *Sibirskii lesnoi zhurn.* [Siberian J. Forest Sci.]. 2017. No. 1. P. 15–24.

Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L., Podgornaya M. N., Sofronova I. N. Katalaznaya aktivnost' v listovom apparate u seyantsev berezy povislou raznykh form (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* i var. *carelica* (Mercklin) [Catalase activity in leaves of silver birch seedlings of different forms (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* and var. *carelica* (Mercklin)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2016. No. 11. P. 78–87. doi: 10.17076/eb460

Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L. Fermenty antioksidantnoi sistemy v raznykh stsensariyakh ksilogeneza [Antioxidant enzymes in different xylogenesis scenarios]. Molekulyarnye aspekty redoks-metabolizma rastenii. Rol' aktivnykh form kisloroda v zhizni rastenii: mat. II Mezhdunar. simpoziuma (Ufa, 26 iyunya – 1 iyulya 2017 g.). [Molecular Aspects of Plant Redox Metabolism. The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life: Mat. II Int. Symposium (Ufa, June 26 – July 1, 2017)]. Ufa, 2017a. P. 188–192.

Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L. Drevesnye rasteniya, proizrastayushchie na raznykh po urovnyu plodorodiya pochvakh, otlichayutsya po aktivnosti fermentov AOS [Woody plants grown at different fertility level soils differ in enzymatic activity of AOS]. Godichnoe sobr. obshch. fiziologov rastenii Rossii. Eksperimental'naya biol. rast.: fundamental'nye i prikladnye asp.: tezis dokl. vseros. konf. (Krym, Sudak, 18–24 sent. 2017 g.). [Annual Meeting of the Russ. Society of Plant Physiologists. Experimental Plant Biol.: Fundamental and Applied Aspects: Abs. All-Russ. Conf. (Crimea, Sudak, Sept. 18–24, 2017)]. Moscow, 2017b. 242 p.

Nikishov V. D. Kompleksnoe ispol'zovanie drevesiny [Comprehensive use of wood]. Moscow: Lesn. Prom. Publ., 1985. 264 p.

Novitskaya L. L. Karel'skaya bereza: mekhanizmy rosta i razvitiya strukturnykh anomalii [Karelian birch: mechanisms of growth and development of structural abnormalities]. Petrozavodsk: Verso, 2008. 144 p.

Novitskaya L. L., Galibina N. A., Nikerova K. M. Transport i zapasanie sakharov vo floeme *Betula pendula* Roth var. *pendula* i var. *carelica* [Sugar transport and storage in the phloem of *Betula pendula* Roth var. *pendula* and var. *carelica*]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans.

KarRC RAS]. 2015. No. 11. P. 35–47. doi: 10.17076/eb216

Polovnikova M. G., Voskresenskaya O. L. Activities of antioxidant system components and polyphenol oxidase in ontogeny of lawn grasses under megapolis conditions. *Russ. J. Plant Physiol.* 2008. Vol. 55, no. 5. P. 699–705. doi: 10.1134/S1021443708050154.

Pradedova E. V., Isheeva O. D., Salyaev R. K. Superoxide dismutase of plant cell vacuoles. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology.* 2009. Vol. 3, no. 1. P. 24–32. doi: 10.1134/S1990747809010048

Pradedova E. V., Isheeva O. D., Salyaev R. K. Antioxidant defense enzymes in cell vacuoles of red beet roots. *Russ. J. Plant Physiol.* 2011. Vol. 58, no. 1. P. 363–344. doi: 10.1134/S1021443711010110

Shelyakin M. A., Zakhzhii I. G., Golovko T. K. Ontogenetic aspects of plant respiration (by the example of *Rubus chamaemorus* L.). *Russ. J. Plant Physiol.* 2016. Vol. 63, no. 1. P. 92–100. doi:10.1134/S1021443716010167

Sin'kevich M. S., Deryabin A. N., Trunova T. I. Characteristics of oxidative stress in potato plants with modified carbohydrate metabolism. *Russ. J. Plant Physiol.* 2009. Vol. 56, no. 2. P. 168–174. doi: 10.1134/S1021443709020046

Zhukova L. A., Voskresenskaya O. L., Grosheva N. P. Morfologicheskie i fiziologicheskie osobennosti ontogeneza kalenduly lekarstvennoi (*Calendula officinalis* L.) v posevakh raznoi plotnosti [Morphological and physiological features of the ontogenesis of the pot marigold (*Calendula officinalis* L.) in crops of different density]. *Ekologiya [Ecology]*. 1996. Vol. 2. P. 104–110.

Alici E. H., Arabaci G. Determination of SOD, POD, PPO and CAT Enzyme Activities in *Rumex obtusifolius* L. *ARRB*. 2016. Vol. 11, no. 3. P. 1–7. doi: 10.9734/ARRB/2016/29809

Barnett J., Jeronimidis G. Wood quality and its biological basis. Blackwell Publishing Ltd., 2003. 226 p.

Borges C. V., Minatel I. O., Gomez-Gomez H. A., Lima G. P. P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Cham: Springer, 2017. P. 259–278. doi: 10.1007/978-3-319-68717-9_15

Burton S. G. Oxidizing enzymes as biocatalysts. *Trends Biotechnol.* 2003. Vol. 21, no. 12. P. 543–549. doi: 10.1016/j.tibtech.2003.10.006

Chen Y., Zhang M., Chen T., Zhang Y., An L. The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of *Sabina*. *S. Afr. J. Bot.* 2006. Vol. 72, no. 2. P. 272–279. doi: 10.1016/j.sajb.2005.09.004

Couee I., Sulmon C., Gouesbet G., El Amrani A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 2006. Vol. 57, no. 3. P. 449–459. doi: 10.1093/jxb/erj027

Fernández-García N., Carvajal M., Olmos E. Graft union formation in tomato plants. Peroxidase and catalase involvement. *Ann. Bot.* 2004. Vol. 93, no. 1. P. 53–60. doi: 10.1093/aob/mch014

Fukuda H. Xylogenesis: initiation, progression, and cell death. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1996. Vol. 47, no. 1. P. 299–325. doi: 10.1146/annurev.arplant.47.1.299

Gaspar Th. The concept of cancer in in vitro plant cultures and the implication of habituation to hormones and hyperhydricity. *Plant Tissue Cult. Biotechnol.* 1995. Vol. 1. P. 126–136.

Hu M., Shi Z., Zhang Z., Zhang Y., Li H. Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regul.* 2012. Vol. 68. P. 177–188. doi: 10.1007/s10725-012-9705-3

Iqbal A., Wang T., Wu G., Tang W., Zhu C., Wang D., Li Yi., Wang H. Physiological and transcriptome analysis of heteromorphic leaves and hydrophilic roots in response to soil drying in desert *Populus euphratica*. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, no. 1. Article number 12188. doi: 10.1038/s41598-017-12091-2

Jakovljević D. Z., Stanković M. S., Topuzović M. D. Seasonal variability of *Chelidonium majus* L. secondary metabolites content and antioxidant activity. *EXCLI J.* 2013. Vol. 12. P. 260–268.

Laukkanen H., Haggman H., Kontunen-Soppe-la S., Hohtola A. Tissue browning of in vitro culture of Scots pine: role of peroxidase and polyphenol oxidase. *Physiol. Plant.* Vol. 106. P. 337–343. doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.106312.x

Novitskaya L. L., Kushnir F. V. The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth. *J. Plant Growth Regul.* 2006. Vol. 25, no. 1. P. 18–29. doi: 10.1007/s00344-004-0419-2

Olson P. O., Varner J. E. Hydrogen peroxide and lignifications. *Plant J.* 1993. Vol. 4, no. 5. P. 887–892. doi: 10.1046/j.1365-313X.1993.04050887.x

Ros Barcelo A. Xylem parenchyma cells deliver the H₂O₂ necessary for lignification in differentiating xylem vessels. *Planta*. 2005. Vol. 220, no. 5. P. 747–756. doi: 10.1007/s00425-004-1394-3

Savidge R. A. Xylogenesis, genetic and environmental regulation. *JAWA J.* 1996. Vol. 17, no. 3. P. 269–310. doi: 10.1163/22941932-90001580

Srivastava O. P., Van Huystee R. B. An Interrelationship among Peroxidase, IAA Oxidase and Polyphenol Oxidase from Peanut Cells. *Can. J. Bot.* 1977. Vol. 55, no. 20. P. 2630–2635. doi: 10.1139/b77-301

Thipyapong P., Hunt M. D., Steffens J. C. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. *Planta*. 2004. Vol. 220, no. 1. P. 105–107. doi: 10.1007/s00425-004-1330-6

Toivonen P. M. A., Brummell D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharv. Biol. Technol.* 2008. Vol. 48, no. 1. P. 1–14. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.09.004

Wellen K. E., Thompson C. B. Cellular metabolic stress: Considering how cells respond to nutrient excess. *Mol. Cell.* 2010. Vol. 40, no. 2. P. 323–332. doi: 10.1016/j.molcel.2010.10.004

Willekens H., Inzé D., Van Montagu M., Van Camp W. Catalases in plants. *Molecular Breeding*. 1995. Vol. 1, no. 3. P. 207–228. doi: 10.1007/BF02277422

Received February 26, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Никерова Ксения Михайловна

руководитель аналитической лаб.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: knikerova@yandex.ru
тел.: (8142) 768160

Галибина Наталия Алексеевна

и. о. заместителя директора по научной работе, к. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: galibina@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Мощенская Юлия Леонидовна

младший научный сотрудник лаб. физиологии
и цитологии древесных растений, к. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tselishcheva.yulia@mail.ru
тел.: (8142) 568216

Новицкая Людмила Львовична

заведующая лаб. физиологии и цитологии
древесных растений, д. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: novits@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 568216

Подгорная Марина Николаевна

ведущий биолог лаб. физиологии и цитологии
древесных растений
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: marishka89.11@list.ru
тел.: (8142) 568216

Софронова Ирина Николаевна

ведущий биолог лаб. физиологии и цитологии
древесных растений
Институт леса КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sofronova_ira@mail.ru
тел.: (8142) 568216

CONTRIBUTORS:

Nikerova, Kseniya

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

Galibina, Natalia

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

Moshchenskaya, Yuliya

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tselishcheva.yulia@mail.ru
tel.: (8142) 568216

Novitskaya, Ludmila

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: novits@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 568216

Podgornaya, Marina

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: marishka89.11@list.ru
tel.: (8142) 568216

Sofronova, Irina

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sofronova_ira@mail.ru
tel.: (8142) 568216

УДК 577.115:594.124:576.895.122

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО СОСТАВА И НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАРАЖЕНИЯ МЕТАЦЕРКАРИЯМИ *HIMASTHLA ELONGATA*

Н. Н. Фокина¹, И. В. Суховская¹, Т. Р. Руоколайнен¹, А. А. Кочнева¹,
И. Н. Бахмет¹, К. Е. Николаев², И. А. Левакин²

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

² Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

Проведено исследование длительного эффекта экспериментального заражения метацеркариями *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (*Himasthliidae*) на некоторые биохимические показатели второго промежуточного хозяина – мидии *Mytilus edulis* (содержание восстановленной формы глутатиона, структурных и запасных липидов, жирных кислот общих липидов, а также активность ферментов глутатион-S-трансферазы, каталазы и пероксидазы). Показано, что паразитарная инвазия оказывает влияние на активность каталазы в жабрах и ноге у мидий, а также на содержание некоторых фосфолипидов и жирных кислот преимущественно в их жабрах, гепатопанкреасе и ноге. В ноге инвазированных мидий пониженная активность каталазы и повышенное содержание лизофосфатидилхолина и сфингомиелина, а также низкий уровень полиненасыщенных жирных кислот (преимущественно докозагексаеновой 22:6n-3 кислоты) отражают главным образом присутствие метацеркарий *H. elongata* в исследуемом органе. В то же время изменения некоторых биохимических показателей в жабрах у инвазированных мидий (прежде всего повышенная активность каталазы, сниженное содержание эфиров холестерина и модификации на уровне жирнокислотного спектра) указывают на наличие стрессового воздействия, оказываемого метацеркариями *H. elongata* на моллюсков. Предполагается, что исследуемые биохимические показатели подвергаются значительному воздействию непосредственно в момент внедрения паразитов в ткани хозяина (в течение первых суток), тогда как длительный эффект нахождения паразита в организме второго промежуточного хозяина (на протяжении года) приводит к стабилизации в системе «паразит – хозяин», в том числе на уровне исследуемых биохимических показателей. Данное предположение требует проведения дополнительных исследований.

Ключевые слова: фосфолипиды; жирные кислоты; восстановленный глутатион; каталаза; глутатион-S-трансфераза; двустворчатые моллюски; трематоды.

N. N. Fokina, I. V. Sukhovskaya, T. R. Ruokolainen, A. A. Kochneva, I. N. Bakhmet, K. E. Nikolaev, I. A. Levakin. ASSESSMENT OF THE LIPID COMPOSITION AND SOME COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN BLUE MUSSELS *MYTILUS EDULIS* EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *HIMASTHLA ELONGATA* METACERCARIAE

The long-term effect of experimental infection with metacercariae of *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (*Himasthliidae*) on some biochemical indices of its second intermediate

host, *Mytilus edulis* (the content of reduced glutathione, structural and storage lipids, fatty acids of total lipids, and the activity of glutathione-S-transferase, catalase and peroxidase) was investigated. It was shown that the parasitic invasion affects catalase activity in mussel gills and foot, as well as alters the content of some phospholipids and fatty acids, mainly in mussel gills, digestive gland and foot. The decreased catalase activity and elevated levels of lysophosphatidylcholine and sphingomyelin, as well as the low content of polyunsaturated fatty acids (primarily docosahexaenoic acid, 22:6n-3) in the foot of infected mussels generally reflect the presence of *H. elongata* metacercariae in this organ. At the same time, changes in several biochemical indices in the gills of infected mussels (essentially higher catalase activity, reduced content of cholesterol esters and modifications in the fatty acid composition) indicate a stress effect caused by *H. elongata* metacercariae. It is assumed that the studied biochemical indices are significantly affected immediately, during penetration of the parasites in the host tissues (within the first day), while the long-term effect of the parasite infection on the second intermediate host (during a year) eventually leads to a stabilization of the host-parasite relationship, including the investigated components of the antioxidant system, as well as the lipid composition. This assumption requires additional research.

Key words: phospholipids; fatty acids; reduced glutathione; glutathione-S-transferase; catalase; bivalves; trematodes.

Введение

Исследования взаимодействий в системе «паразит – хозяин» на примере различных видов трематод и двусторчатых моллюсков проводились начиная с 1960-х годов [Cheng, 1967; Lauckner, 1983; De Montaudouin et al., 2012]. Среди многообразия аспектов во взаимоотношениях «паразит – хозяин» актуальным остается вопрос о влиянии паразитов на биохимический статус хозяина. Достаточно подробно описаны метаболические модификации, вызванные инвазией трематод, у брюхоногих моллюсков [Lunetta, Vernberg, 1971; Thompson, 1983; Fried et al., 1993a, б; Arakelova et al., 2004, 2007; Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013; Tyutin, Izvekova, 2013], однако исследования биохимических параметров двусторчатых моллюсков, зараженных трематодами, фактически отсутствуют. Считается, что патогенное воздействие метацеркарий трематод на организм второго промежуточного хозяина минимально [Bower et al., 1994; Laruelle et al., 2002], поскольку в большинстве случаев метацеркарии представляют собой покоящуюся стадию, «ожидающую» попадания в организм окончательного хозяина [Werding, 1969]. При этом известно, что внедрение паразита индуцирует значительные метаболические перестройки в организме хозяина, инициируя формирование активных форм кислорода (АФК) и тем самым вызывая окислительный стресс и активацию антиоксидантной системы (АОС) [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013; Tyutin, Izvekova, 2013]. В связи с этим с помощью биохимических маркеров, в том числе показателей, отражающих работу АОС, а также

состав липидов и их жирных кислот (которые служат основной мишенью для действия АФК), можно оценить влияние паразитарной инвазии на организм промежуточного хозяина [Fried, Bradford, 1984; Fried et al., 1995; Arakelova et al., 2004, 2007; Руднева и др., 2004; Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013].

В настоящей работе изучали длительный эффект экспериментального заражения метацеркариями *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (Himasthliidae) на биохимические показатели второго промежуточного хозяина – мидии (*Mytilus edulis*), а именно: содержание структурных и запасных липидов, жирнокислотный спектр общих липидов, работу некоторых компонентов АОС (активность ферментов глутатион-S-трансферазы, каталазы, пероксидазы и содержание восстановленной формы глутатиона). *H. elongata* – типичный представитель паразитофауны мидий, обитающих в литоральной зоне Белого моря [Galaktionov, 2001]. Первым промежуточным хозяином этого вида служат литоральные гастроподы *Littorina* spp., а окончательным – птицы прибрежного комплекса [Werding, 1969].

Материалы и методы

Проведение эксперимента по заражению мидий Mytilus edulis церкариями Himasthla elongata

Для эксперимента были использованы мидии *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758), выращенные на искусственных субстратах марикультуры в районе о. Соностров (Кандалакшский залив, Белое море). Ранее было показано, что

мидии, обитающие в условиях аквакультуры, свободны от инвазии метацеркариями трематод [Kulatchkova, 1985]. В нашей работе анализ случайным образом выбранных 100 экземпляров мидий с искусственных субстратов также показал отсутствие их заражения трематодами. Были отобраны моллюски с длиной раковины $2,5 \pm 0,4$ мм ($N = 30$), для того чтобы исключить влияние размера моллюска на степень заражения паразитами, а также на исследуемые биохимические показатели [Poulin, 2010].

Для получения церкарий *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) использованы моллюски *Littorina littorea* (Linnaeus, 1758), собранные в литоральной зоне Чупинской губы Кандалакшского залива в июле 2013 года. После сбора улитки в пластиковых пакетах были помещены в изотермические условия ($t = 10^\circ\text{C}$) на 24 ч, а затем их размещали индивидуально в 100-мл пластиковые стаканы с морской водой и держали в условиях солнечного освещения на протяжении 1 ч. В дальнейшем стаканы проверяли на наличие церкарий с помощью бинокуляра (МБС-10, Россия). Выявлены 50 особей *L. littorea*, инфицированные редиями *H. elongata*, которые были заняты в дальнейшем эксперименте. Для заражения церкариями *H. elongata* использованы 15 экземпляров мидий *M. edulis*, которых индивидуально помещали в 100-мл стакан с морской водой, после чего добавляли по 40–50 экземпляров церкарий *H. elongata* и выдерживали в течение суток [Nikolaev et al., 2006]. В качестве контрольной группы были выбраны 15 особей незараженных мидий *M. edulis*. Затем зараженную и контрольную группы моллюсков поместили в садки, расположенные на глубине 3 м в Кривозерском заливе Чупинской губы Кандалакшского залива. Срок экспозиции зараженных и контрольных особей составил 1 год.

В сентябре 2014 года проводился отбор тканей жабр, краевой части мантии, гепатопанкреаса и ноги у мидий *M. edulis* контрольной группы и зараженных церкариями *H. elongata* на биохимический анализ. При отборе проб проверяли наличие метацеркарий *H. elongata* и проводили подсчет их количества во всех исследуемых тканях при помощи бинокуляра (МБС-10, Россия).

Биохимический анализ

Анализ выполняли на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Анализ активности некоторых ферментов антиоксидантной системы, а также определение концентрации восстановленной формы глутатиона. В день исследования замороженные образцы тканей мидий весом 0,1–0,4 г гомогенизировали с помощью гомогенизатора Digital Disruptor Genie (США) в 50-мМ буферном растворе Трис-НСI (pH 7,5) при 5-кратном разбавлении. Гомогенат центрифугировали при 50 000 g в течение 1 часа при 4°C на центрифуге Beckman Coulter Allegra® 64R (США). Супернатант использовали для определения следующих биохимических показателей: активность глутатион S-трансферазы, каталазы, гваякол-зависимой пероксидазы, а также содержание восстановленной формы глутатиона. Измерения проводили на многофункциональном ридере CLARIOstar BasicUnit (BMG Labtech, Германия).

Активность глутатион S-трансферазы (КФ 2.5.1.18, GST) определяли по скорости связывания восстановленного глутатиона с субстратом 1-хлор-2,4-динитробензолом (CDNB) [Habig et al., 1974]. Относительную активность фермента в тканях мидий выражали в количестве μM продукта реакции, образовавшихся за минуту, в пересчете на мг белка в ткани (μM продукта/мг растворимого белка в ткани * мин).

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6, CAT) определяли спектрофотометрическим методом согласно Beers and Sizer [1952] с модификациями. Относительную активность выражали в μM продукта/мг растворимого белка в ткани * мин.

Активность гваякол-зависимой пероксидазы (КФ 1.11.1.7, Px) определяли по методу Chance and Maehly [1955] с модификациями. Относительную активность выражали в μM продукта/мг растворимого белка в ткани * мин.

Для определения концентрации восстановленного глутатиона (GSH) растворимые белки исходного гомогената осаждали с помощью 5% трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием при 2500 g в течение 15 мин. Концентрацию восстановленного глутатиона в полученном супернатанте определяли, используя модифицированные методики Cohn, Lyle [1966] и Hissin, Hilf [1976]. Концентрацию глутатиона вычисляли с помощью калибровочного графика, построенного по результатам измерений серии растворов GSH (Sigma-Aldrich, Австрия) с концентрацией от 0,5 до 20 мкг/мл на 0,4 М трис-НСI буфере (pH 8,5) с 5 мМ ЭДТА. Относительную концентрацию

глутатиона выражали в мкг GSH в пересчете на мг белка в ткани.

Концентрацию растворимого белка определяли в супернатанте спектрофотометрически по поглощению пептидной связи при длине волны 220 нм при 26 °С [Noble, Bailey, 2009; Суховская и др., 2010].

Анализ состава общих липидов и их жирных кислот. Липиды исследуемых тканей мидий экстрагировали по методу Folch et al. [1957] в смеси хлороформ/метанол (2:1, по объему). Разделение общих липидов на основные классы (фосфолипиды, холестерин и его эфиры, триацилглицерины) проводили методом тонкослойной хроматографии с использованием силикагельных пластин Silica gel 60 F254 plates 200×100 мм (Merck, Германия) в системе растворителей: петролейный эфир/серный эфир/уксусная кислота (90:10:1, по объему) при комнатной температуре. Идентификация исследуемых фракций основных классов липидов осуществлялась при помощи стандартов: смесь фосфолипидов (P3817, Supelco, США), холестерин (C8667, Sigma, США), триолеатглицерин (92860, Sigma, США) и пальмитат холестерина (C78607, Aldrich, США). Количественное содержание общих фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина определяли по методу В. С. Сидорова с соавторами [1972], а холестерин – по методу Engelbrecht et al. [1974]. Количественное определение исследуемых фракций общих липидов проводили при 540 нм для фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина, а также при 550 нм для холестерина, используя спектрофотометр СФ-2000 (Россия).

Состав отдельных фракций фосфолипидов (фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин и сфингомиелин) определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии по методу Arduini et al. [1996] на колонке Nucleosil 100–7 (Elsiko, Россия) с подвижной фазой: ацетонитрил/гексан/метанол/фосфорная кислота (918:30:30:17.5, по объему) и УФ-спектрофотометром при длине волны 206 нм на изократическом жидкостном хроматографе «Стайер» («Аквилон», Россия). Идентификацию пиков проводили с использованием аналитических стандартных растворов: смесь фосфолипидов (P3817, Supelco, США), фосфатидилсерин (P7769, Sigma, США) и сфингомиелин (S7004, Sigma, США).

Общие липиды исследуемых тканей мидий подвергали прямому метанолизу с использованием метанола и хлористого ацетила. Получен-

ные смеси метиловых эфиров жирных кислот разделяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Agilent 7890A (США), оборудованном пламенно-ионизационными детекторами, с использованием капиллярных колонок DB-23 (60 м – 0,25 мм) (Agilent Technologies, США) и азота в качестве подвижной фазы. Метиловые эфиры жирных кислот, полученные из общих липидов тканей мидий, идентифицировали путем сравнения с аналитическим стандартом FAME Mix 37 Components (Supelco, США).

Статистическая обработка

Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft Statistica v 7.0. Тест Колмогорова – Смирнова и Лиллиефорса был использован для определения нормальности распределения исследуемых биохимических показателей мидий. Поскольку распределение большинства исследуемых показателей отклоняется от нормального, достоверность различий оценивали непараметрическим критерием Манна – Уитни U ($p < 0,05$). Корреляцию в изменениях между исследуемыми биохимическими показателями и количеством метацеркарий в ноге мидий оценивали с помощью коэффициентов ранговой корреляции Спирмена [Hill, Lewicki, 2007].

Результаты и обсуждение

Несмотря на то что большинство видов *Echinostomatidae*, инфицирующих двустворчатых моллюсков, не являются патогенными [Bower et al., 1994], показано, что заражение моллюсков церкариями приводит к повреждению тканей, снижению скорости фильтрации и бисусообразования, к аккумуляции гемоцитов и фиброзной ткани вокруг инцистировавшихся церкарий [Lauckner, 1983; Wegerberg, 1998; Jensen et al., 1999; Laruelle et al., 2002]. Мы предполагаем, что изучение состава липидов и их жирных кислот, а также компонентов АОС у инвазированных мидий позволит определить степень влияния экспериментального заражения трематодами *H. elongata* на их биохимический статус. Исследование тканей мидий *M. edulis* на наличие паразитов показало, что в результате проведенного экспериментального заражения у всех исследуемых моллюсков метацеркарии *H. elongata* были локализованы в ноге и их количество составляло от 3 до 40 экземпляров.

Липиды и их жирные кислоты являются структурными компонентами клеточных мем-

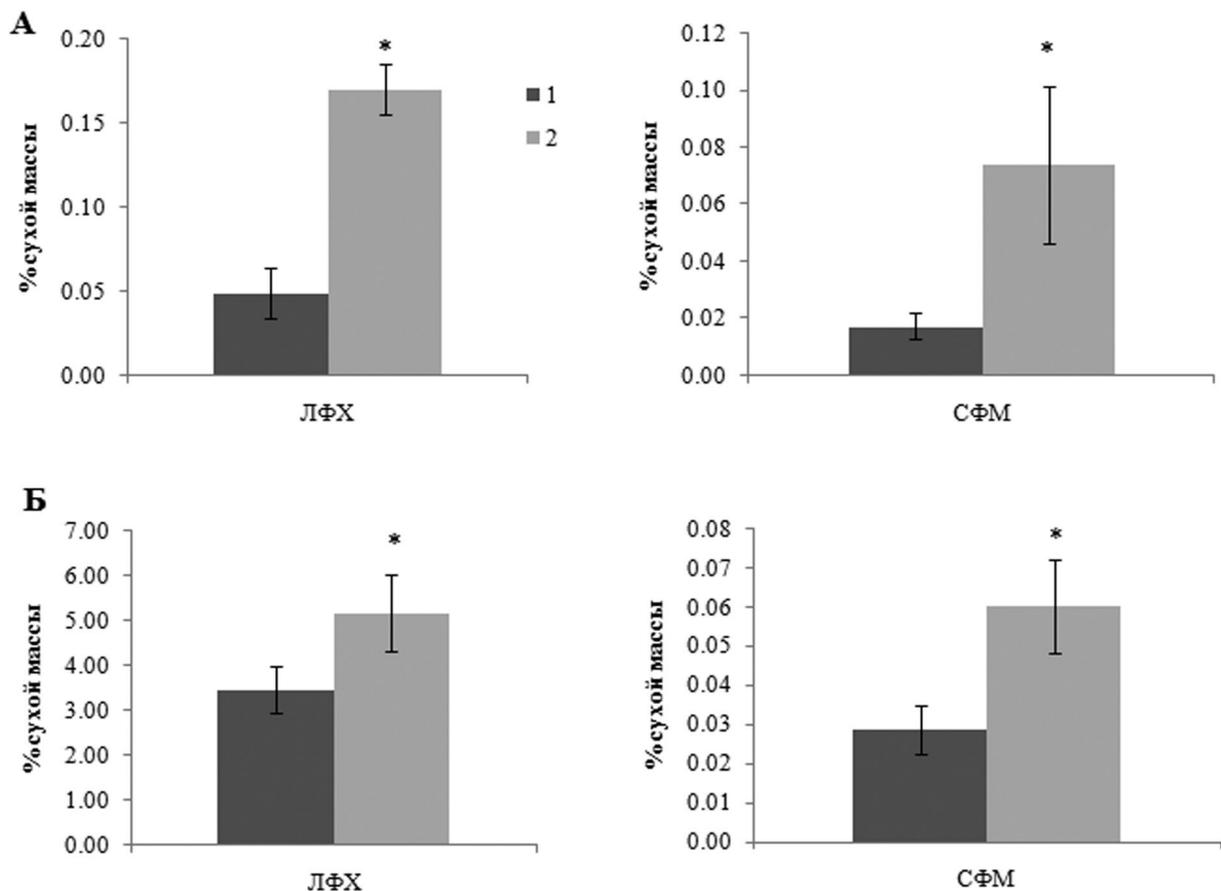


Рис. 1. Содержание лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и сфингомиелина (СФМ) в % сухой массы в ноге (А) и гепатопанкреасе (Б) неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*. Здесь и далее: * – различия достоверны, критерий Манна – Уитни U ($p < 0,05$)

Fig. 1. Content of lysophosphatidylcholine (ЛФХ) and sphingomyelin (СФМ) in % of dry mass in the foot (А) and digestive gland (Б) of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*. Here and hereinafter: * – differences are significant, Mann-Whitney U test ($p < 0,05$)

бран, источниками метаболической энергии, а также предшественниками для синтеза биологически активных веществ, в том числе эйкозаноидов [Vance, Vance, 2002]. Трематоды, как и большинство паразитов, не могут *de novo* синтезировать липиды и полиненасыщенные жирные кислоты, и они получают их из окружающей среды, а затем встраивают в свой метаболизм [Hoskin et al., 1974; Furlong, 1991; Smith, 1994; Ghosh et al., 2005; Kubata et al., 2007; Mondal, Dey, 2013]. В то же время паразиты могут синтезировать эйкозаноиды, необходимые для подавления иммунного ответа хозяина [Belley, Chadee, 1995; Kubata et al., 2007]. Арахидоновая кислота – метаболический предшественник для синтеза эйкозаноидов, находится в составе фосфолипидов, преимущественно фосфатидилхолина и фосфатидилинозитола [Vance, Vance, 2002]. Высвобождение полиненасыщенных жирных кислот, в том числе арахидоновой кислоты, и лизоформ фосфолипидов отмечается в организме хозяина посредством деятель-

ности ферментов фосфолипаз паразитарного происхождения [Kubata et al., 2007]. Так, в настоящей работе показано, что в гепатопанкреасе и ноге инвазированных мидий повышена концентрация лизофосфатидилхолина (ЛФХ, рис. 1). Поскольку были выявлены положительные корреляции между содержанием ЛФХ и количеством метацеркарий в ноге у инвазированных мидий ($r = 0,61$; $p = 0,0086$), отмеченное повышение уровня ЛФХ в ноге служит, вероятно, результатом метаболической активности церкарий, требующих наличия жирных кислот – предшественников для синтеза эйкозаноидов, подавляющих иммунную систему хозяина [Belley, Chadee, 1995; Kubata et al., 2007]. Напротив, в гепатопанкреасе инвазированных мидий корреляций в содержании всех исследуемых фракций фосфолипидов с количеством метацеркарий в ноге выявлено не было. Вероятно, в гепатопанкреасе свободные полиненасыщенные жирные кислоты могут быть необходимы для синтеза эйкозаноидов, обеспечивающих

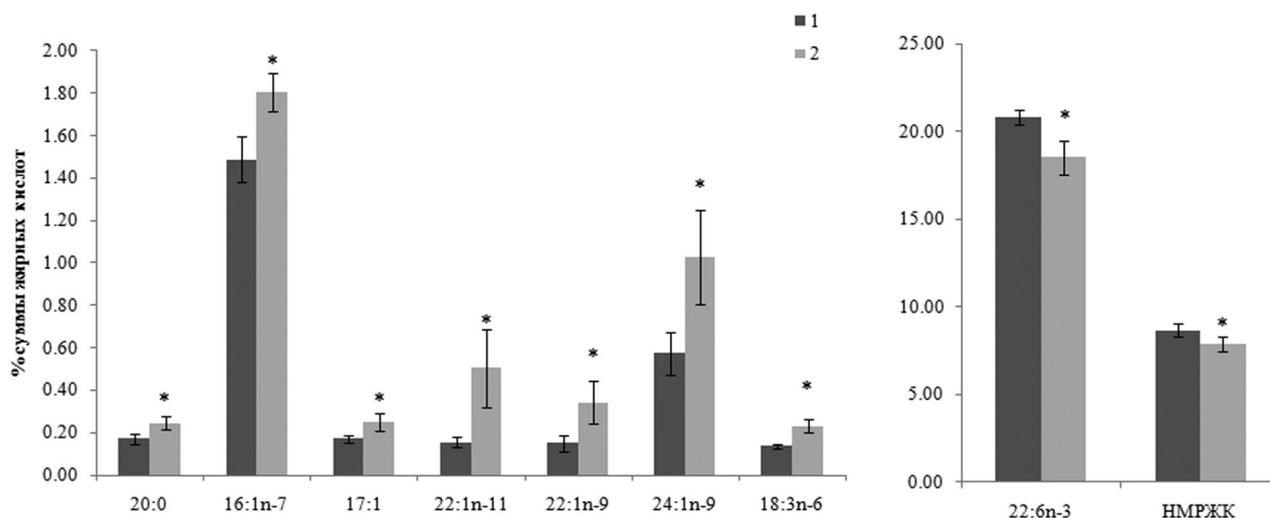


Рис. 2. Жирнокислотный спектр общих липидов (% суммы жирных кислот) ноги неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*

Fig. 2. Fatty acid composition of total lipids (% of the total fatty acids) of the foot of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*

работу собственной иммунной системы. Наряду с повышенным содержанием ЛФХ в ноге и гепатопанкреасе инвазированных мидий отмечено увеличение концентрации сфингомиелина (СФМ, рис. 1). При этом в ноге инвазированных мидий повышение уровня СФМ положительно коррелировало с числом метацеркарий ($r = 0,62$; $p = 0,0076$). Известно, что данный фосфолипид «заменяет» доминирующий фосфолипид клеточных мембран – фосфатидилхолин – в случае его недостаточного содержания в составе клеточных мембран [Vance, Vance, 2002].

В жирнокислотном спектре гепатопанкреаса инвазированных мидий достоверных отличий, связанных с воздействием метацеркарий *H. elongata*, отмечено не было, за исключением разнонаправленных изменений в составе некоторых минорных мононенасыщенных жирных кислот (14:1, 18:1n-5 и 22:1n-7), суммарный процент которых не превышал 1% от суммы всех жирных кислот в составе общих липидов. Наряду с этим в ноге у инвазированных мидий отмечалось повышение концентрации насыщенной 20:0 кислоты, мононенасыщенных жирных кислот (17:1, 22:1n-11, 22:1n-9 и 24:1n-9), гамма-линоленовой кислоты 18:3n-6, а также снижение содержания докозагексаеновой кислоты (22:6n-3) и метилэтиленразделенных жирных кислот (рис. 2). В то же время содержание следующих жирных кислот в составе общих липидов ноги инвазированных мидий коррелировало с количеством метацеркарий *H. elongata*: 20:0 ($r = 0,60$; $p = 0,02$), 24:0 ($r = 0,69$; $p = 0,005$), 18:1n-11 ($r = 0,61$; $p = 0,01$),

24:1n-9 ($r = 0,71$; $p = 0,0039$), 18:3n-6 ($r = 0,63$; $p = 0,01$) и 22:6n-3 ($r = -0,78$; $p = 0,0015$). Мы предполагаем, что данный жирнокислотный спектр ноги у инвазированных мидий обусловлен преимущественно составом жирных кислот метацеркарий *H. elongata*. Известно, что редии *Echinostoma trivolvis* содержат повышенные концентрации мононенасыщенных жирных кислот, а также гамма-линоленовой кислоты, по сравнению со взрослой формой паразита [Fried et al., 1993a]. Вместе с тем пониженное содержание докозагексаеновой кислоты и метилэтиленразделенных жирных кислот (рис. 2) в ноге инвазированных мидий указывает на отсутствие данных жирных кислот в составе липидов метацеркарий [Lunetta, Vernberg, 1971; Fried et al., 1993a, b; Mondal, Dey, 2013].

Необходимо отметить, что корреляции состава некоторых фосфолипидов и жирных кислот в зависимости от количества метацеркарий были обнаружены только в ноге. В остальных исследуемых органах инвазированных мидий корреляций между изменениями в составе липидов и их жирных кислот и количеством метацеркарий в ноге выявлено не было. В жабрах инвазированных мидий (рис. 3) отмечены следовые количества эфиров холестерина, а также повышенное содержание 20:0 кислоты, мононенасыщенной жирной кислоты (20:1n-7) и некоторых n-3 полиненасыщенных жирных кислот (18:4 и 20:3). При этом пониженное содержание вакценовой 18:1n-7 кислоты в жабрах инвазированных мидий, вероятно, указывает на дополнительный синтез продукта ее элонгации – 20:1n-7 кислоты [Bergé, Barnathan, 2005].

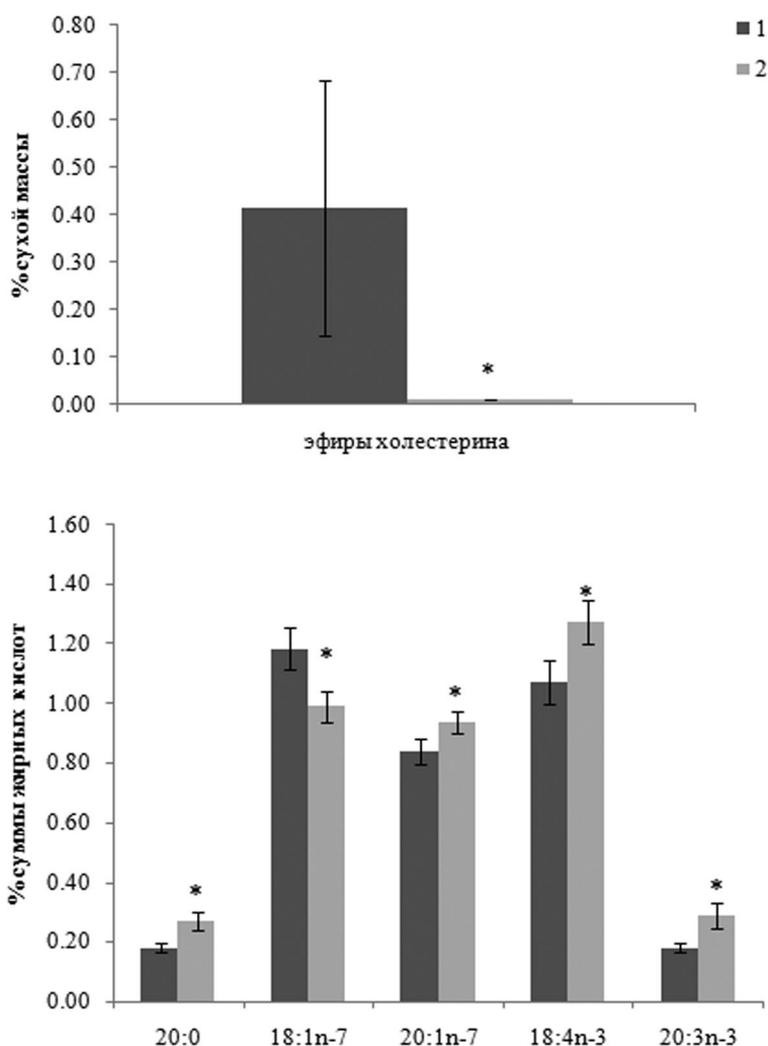


Рис. 3. Содержание эфиров холестерина (% сухой массы) и некоторых жирных кислот (% суммы жирных кислот) в жабрах неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*

Fig. 3. Content of cholesterol esters (% of dry mass) and some fatty acids (% of the total fatty acids) in the gills of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*

В краевой части мантии инвазированных мидий было отмечено снижение в содержании минорных мононенасыщенных жирных кислот (14:1 и 22:1n-9) и полиненасыщенной 22:5n-6 кислоты, содержание которых не превышало 1 % от суммы жирных кислот.

Одной из универсальных реакций на действие негативных факторов, в том числе влияние паразитарной инвазии, является развитие окислительного стресса и, как следствие, активация компонентов антиоксидантной защиты [Руднева и др., 2004; Mahmoud, Rizk, 2004; Vorontsova et al., 2010; Żbikowska, 2011; Gornowicz et al., 2013]. Так, у брюхоногих моллюсков, инфицированных трематодами, показана активация таких ферментов АОС, как Pх, супероксиддисмутазы (SOD), а также GST [Goodall et al.,

2004; Zelck et al., 2005; Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013]. Однако данная ответная реакция наблюдалась у улиток непосредственно после инвазии или по истечении нескольких дней (до 22 дней) [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013]. В настоящей работе, изучив длительное воздействие экспериментальной паразитарной инвазии на мидий, мы не обнаружили достоверных различий в активности таких компонентов АОС, как GST и Pх, во всех исследуемых органах (табл.). Вероятно, данные ферменты АОС участвуют в развитии первичного защитного механизма, направленного на подавление окислительного стресса, вызванного инвазией паразита в ткани [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013], тогда как длительный эффект нахождения паразита в организме

Активность глутатион-S-трансферазы (GST, $\mu\text{M}/\text{мин}/\text{мг}$ белка), гваякол-зависимой пероксидазы (Px, μM перекиси/ мг белка * мин), каталазы (CAT, μM перекиси/ мг белка * мин), а также содержание восстановленной формы глутатиона (GSH, $\mu\text{g}/\text{мг}$ белка) в исследуемых органах неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*

Activity of glutathione-S-transferase (GST, $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ of protein), guaiacol-depended peroxidase (Px, μM of peroxide/ mg of protein * min), catalase (CAT, μM of peroxide/ mg of protein * min), as well as the content of reduced glutathione (GSH, $\mu\text{g}/\text{mg}$ of protein) in the studied organs of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*

Показатель Index	Исследуемый орган Studied organ							
	Жабры Gills		Гепатопанкреас Digestive gland		Нога Foot		Край мантии Edge of mantle	
	1	2	1	2	1	2	1	2
GST	35,8 ± 7,1	26,8 ± 5,2	8,0 ± 0,6	8,2 ± 0,7	12,0 ± 1,7	9,7 ± 1,4	11,2 ± 2,3	12,7 ± 3,3
Px	0,04 ± 0,01	0,034 ± 0,01	0,32 ± 0,08	0,31 ± 0,04	не определяли no research			
GSH	2,95 ± 1,49	2,99 ± 1,86	0,27 ± 0,06	0,21 ± 0,03	0,42 ± 0,07	0,57 ± 0,13	0,36 ± 0,16	0,33 ± 0,08
CAT	0,08 ± 0,03	0,12 ± 0,04*	11,7 ± 2,4	15,1 ± 3,2	4,038 ± 1,1	1,83 ± 0,87*	4,7 ± 1,1	4,81 ± 0,86

хозяина приводит к стабилизации в системе «паразит – хозяин» и отсутствию ответной реакции на уровне GST и Px.

В ноге инвазированных мидий была отмечена пониженная активность каталазы по сравнению с «контрольной» группой, что, вероятно, связано с наличием в данном органе метацеркарий *H. elongata*, изменяющих активность данного фермента. При этом повышенный уровень восстановленного глутатиона (GSH, $p = 0,06$) в ноге у инвазированных мидий (табл.) является, по-видимому, адаптивной реакцией на нахождение в данном органе паразита. Известно, что GSH одним из первых компонентов АОС реагирует на изменения, происходящие в клетке [Britten, Green, 1989], вступая в реакции с глутатион-зависимыми ферментами, в том числе GST. Вероятно, относительно стабильный уровень GSH во всех исследуемых тканях инвазированных мидий указывает на отсутствие у них окислительных процессов спустя год после заражения.

В жабрах двустворчатых моллюсков, которые, как известно, выполняют барьерную функцию и первыми реагируют на изменения во внешней среде [Смирнов и др., 2017], обнаружен высокий уровень активности GST и концентрации GSH по сравнению с другими исследованными органами. При этом активность пероксидазы в жабрах исследуемых мидий была на порядок ниже, чем в гепатопанкреасе. Известно, что GST играет важную роль в биотрансформации ксенобиотиков [Nare et al., 1990; Milhon et al., 1997], а также участвует в антиоксидантной защите, проявляя при этом пероксидазную активность, и предотвращает окисление ненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов мембран [Prohaska, Ganther, 1977].

Активность каталазы в жабрах инвазированных мидий в 2,2 раза выше по сравнению с контрольными образцами (табл.). Известно, что каталаза играет важную роль в разложении перекиси водорода, предупреждая процессы перекисного окисления мембранных липидов [Regoli, Giuliani, 2014]. У моллюсков повышение активности каталазы отмечалось в ответ на действие факторов различной природы, вызывающих окислительный стресс [Geret et al., 2002; Vlahogianni et al., 2007; Maria, Bebianno, 2011]. По-видимому, полученные нами результаты указывают на наличие окислительного стресса в жабрах инвазированных мидий.

Заключение

Таким образом, исследование длительного воздействия экспериментального заражения метацеркариями *H. elongata* на некоторые биохимические показатели мидий *M. edulis* показало, что паразитарная инвазия оказывает влияние на активность каталазы в жабрах и ноге, а также на содержание некоторых фосфолипидов и жирных кислот преимущественно в жабрах, гепатопанкреасе и ноге. Выявленные схожие изменения на уровне фосфолипидов мембран (главным образом лизофосфатидилхолина и сфингомиелина) в гепатопанкреасе и ноге инвазированных мидий обусловлены, по-видимому, разными явлениями: в ноге они отражают потребности паразита, тогда как в гепатопанкреасе – ответную реакцию хозяина на внедрение паразита. Оценка компонентов антиоксидантной системы у мидий, инвазированных метацеркариями *H. elongata*, показала, что жабры наиболее чувствительны к паразитарной инвазии. Повышенная активность каталазы в жабрах

указывает на наличие стрессового воздействия, оказываемого метацеркариями *H. elongata* на мидий. При этом изменения на уровне эфиров холестерина и жирнокислотного спектра жабр инвазированных мидий свидетельствуют об ответной реакции на уровне липидного состава. В ноге инвазированных мидий обнаруженные изменения на уровне активности каталазы, а также липидного и жирнокислотного состава связаны главным образом с наличием метацеркарий *H. elongata* в исследуемом органе. Поскольку считается, что наибольший стресс испытывает организм хозяина в момент внедрения паразита в его ткани [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013], мы предполагаем, что именно на этом этапе происходит активация компонентов антиоксидантной системы и значительные модификации в спектре липидов и жирных кислот. Дальнейшее изучение ответной реакции исследуемых компонентов антиоксидантной системы, а также липидного состава различных тканей мидий в зависимости от сроков экспериментального заражения метацеркариями *H. elongata*, преимущественно в течение первых дней после заражения, позволит подтвердить или опровергнуть высказанное предположение об участии исследуемых биохимических показателей хозяина в ответной реакции на внедрение паразита в его ткани.

Авторы благодарят сотрудников Беломорской биологической станции «Картеш» Зоологического института РАН за возможность проводить исследования на биостанции.

Работа выполнена при финансовой поддержке федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0050 (№ АААА-А17-117031710039-3)), а также гранта РФФИ № 16-04-00820_а.

Литература

Руднева И. И., Солонченко А. И., Мельникова Е. Б. Влияние паразитарной инвазии на активность некоторых антиоксидантных ферментов печени и мышц хозяина черноморского калкана *Psetta maxima maotica* // Паразитология. 2004. Т. 38, № 6. С. 557–561.

Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Нефедова З. А. Липиды рыб. 1. Методы анализа // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Вып. 1. Экология. Паразитофауна. Биохимия. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1972. С. 150–163.

Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В., Кочнева А. А. Некоторые биохимические показатели биотрансформации ксенобиотиков в тканях жемчужницы европейской *Margaritifera margaritifera* // Изв. РАН. Сер. биол. 2017. № 1. С. 30–34. doi: 10.7868/S0002332917010143

Суховская И. В., Борвинская Е. В., Смирнов Л. П., Немова Н. Н. Сравнительный анализ методов определения концентрации белка – спектрофотометрии в диапазоне 200–220 нм Бредфорд // Труды КарНЦ РАН. 2010. № 2. С. 68–71.

Arakelova E. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A., Shukolyukova E. P. Changes of phospholipid fatty acid composition in the digestive gland of the mollusc *Littorina saxatilis*, caused by trematode larvae // J. Evol. Biochem. Physiol. 2007. Vol. 43, no. 4. P. 388–397. doi: 10.1134/S0022093007030035

Arakelova K. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A. Physiology and lipid metabolism of *Littorina saxatilis* infected with trematodes // Dis. Aqua. Org. 2004. Vol. 60, no. 3. P. 223–231. doi: 10.3354/dao060223

Arduini A., Pescechera A., Dottori S., Sciarroli A. F., Serafini F., Calvani M. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // J. Lipid Res. 1996. Vol. 37. P. 684–689.

Beers R. F., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase // Biol. Chem. 1952. Vol. 195, no. 1. P. 133–40.

Belley A., Chadee K. Eicosanoid production by parasites: From pathogenesis to immunomodulation? // Parasitol. Today. 1995. Vol. 11, no. 9. P. 327–334. doi: 10.1016/0169-4758(95)80185-5

Bergé J. P., Barnathan G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects // In: Y. Le Gal, R. Ulber, eds. Marine biotechnology I. Berlin Heidelberg: Springer. 2005. P. 49–125. doi: 10.1007/b135782

Bower S. M., McGladdery S. F., Price I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish // Ann. Rev. Fish Dis. 1994. Vol. 4. P. 1–199. doi: 10.1016/0959-8030(94)90028-0

Britten R. A., Green J. A. Changes in glutathione metabolism following exposure to alkylating-agents in human ovarian tumor-biopsies // Br. J. Cancer. Houndmills, Basingstoke, Hampshire, England RG21 6XS: Stockton Press. 1989. Vol. 60, no. 3. P. 497–497.

Chance B., Maehly A. C. Assay of catalase and peroxidases // Methods Enzymol. 1955. Vol. 2. P. 764–775.

Cheng T. C. Marine molluscs as hosts for symbioses, with a review of known parasites of commercially important species // Advances in Marine Biology. 1967. Vol. 5. P. 1–424.

Cohn V. H., Lyle J. A. Fluorometric assay for glutathione // Anal. Biochem. 1966. Vol. 14. P. 434–440.

De Montaudouin X., Bazairi H., Culloty S. Effect of trematode parasites on cockle *Cerastoderma edule* growth and condition index: a transplant experiment // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2012. Vol. 471. P. 111–121. doi: 10.3354/meps10033

Engelbrecht F. M., Mari F., Anderson J. T. Cholesterol. Determination in serum. A rapid direction method // South Afr. Med. J. 1974. Vol. 48(7). P. 250–256.

Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497–509.

- Fried B., Bradford J. D. Histochemical and thin-layer chromatographic analyses of neutral lipids in various host sites infected with *Leucochloridiomorpha constantiae* (Trematoda) // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1984. Vol. 78, no. 1. P. 175–177.
- Fried B., Lewis Jr. P. D., Beers K. Thin-layer chromatographic and histochemical analyses of neutral lipids in the intramolluscan stages of *Leucochloridium variae* (Digenea, Leucochloridiidae) and the snail host, *Succinea ovalis* // *J. Parasitol.* 1995. P. 112–114. doi: 10.2307/3284019
- Fried B., Rao K. S., Sherma J., Huffman J. E. Fatty acid composition of *Echinostoma trivolvis* (Trematoda) rediae and adults and of the digestive gland-gonad complex of *Helisoma trivolvis* (Gastropoda) infected with the intramolluscan stages of this echinostome // *Parasitol. Res.* 1993a. Vol. 79(6). P. 471–474. doi: 10.1007/BF00931585
- Fried B., Sherma J., Rao K. S., Ackman R. G. Fatty acid composition of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) experimentally infected with the intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1993b. Vol. 104(3). P. 595–598. doi: 10.1016/0305-0491(93)90287-F
- Furlong S. T. Unique roles for lipids in *Schistosoma mansoni* // *Parasitol. Today.* 1991. Vol. 7, no. 2. P. 59–62. doi: 10.1016/0169-4758(91)90192-Q
- Galaktionov K. V. Parasites of common animals and animals of market value // White Sea, ecology and environment. *Derzsavets, St. Petersburg.* 2001. P. 95–110.
- Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M. J. Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates* // *Mar. Environ. Res.* 2002. Vol. 54(3–5). P. 413–417. doi: 10.1016/S0141-1136(02)00164-2
- Ghosh D., Dey C., Misra K. K. Host-parasite relationship: fatty acid compositions of a trematode, *Paramphistomum cervi* and common Indian goat, *Capra hircus* // *J. Parasitic Disease.* 2005. Vol. 29. P. 119–123.
- Goodall C. P., Bender R. C., Broderick E. J., Bayne C. J. Constitutive differences in Cu/Zn superoxide dismutase mRNA levels and activity in hemocytes of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) that are either susceptible or resistant to *Schistosoma mansoni* (Trematoda) // *Mol. Biochem. Parasitol.* 2004. Vol. 137, no. 2. P. 321–328.
- Gornowicz D., Dmochowska K., Żbikowska E., Żółtowska K. Total antioxidative status and the activity of peroxidase and superoxide dismutase in the haemolymph of *Lymnaea stagnalis* (L.) naturally infected with digenean trematodes // *J. Mollus. Stud.* 2013. Vol. 79(3). P. 225–229. doi: 10.1093/mollus/eyt019
- Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249, no. 22. P. 7130–7139.
- Hill T., Lewicki P. Statistics: methods and applications // A comprehensive reference for science, industry, and data mining: StatSoft Inc. 2007. 719 p.
- Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74(1). P. 214–226.
- Hoskin G. P., Cheng T. C., Shapiro I. L. Fatty acid compositions of three lipid classes of *Himasthla quissetensis* rediae before and after starvation // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1974. Vol. 47, no. 4. P. 821–830.
- Jensen K. T., Castro N. F., Bachelet G. Infectivity of *Himasthla* spp. (Trematoda) in cockle (*Cerastoderma edule*) spat // *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 1999. Vol. 79, no. 2. P. 265–271.
- Kubata B. K., Duszenko M., Martin K. S., Urade Y. Molecular basis for prostaglandin production in hosts and parasites // *Trends Parasitol.* 2007. Vol. 23(7). P. 325–331. doi: 10.1016/j.pt.2007.05.005
- Kulatchkova V. G. Parasites of blue mussels – the aquaculture object in the White Sea // Investigation of the blue mussel of the White Sea. L.: Zoological Institute, 1985. P. 88–97.
- Laruelle F., Molloy D. P., Roitman V. A. Histological analysis of trematodes in *Dreissena polymorpha*: their location, pathogenicity, and distinguishing morphological characteristics // *J. Parasitol.* 2002. Vol. 88, no. 5. P. 856–863. doi: 10.1645/0022-3395(2002)088[0856:HAOTID]2.0.CO;2
- Lauckner G. Diseases of mollusca: Bivalvia // In: Kinne O. (Ed.). *Diseases of Marine Animals.* Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Federal Republic of Germany. 1983. P. 477–962.
- Lunetta J. E., Vernberg W. B. Fatty acid composition of parasitized and nonparasitized tissue of the mud-flat snail, *Nassarius obsoletus* (Say) // *Exp. Parasitol.* 1971. Vol. 30, no. 2. P. 244–248.
- Mahmoud A. H., Rizk M. Z. Free Radical Scavengers in Susceptible/Resistant *Biomphalaria alexandrina* Snails before and after Infection // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2004. Vol. 138. P. 523–530. doi: 10.1016/j.cca.2004.08.012
- Maria V. L., Bebianno M. J. Antioxidant and lipid peroxidation responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to mixtures of benzo (a) pyrene and copper // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2011. Vol. 154(1). P. 56–63. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.02.004
- Milhon J. L., Thiboldeaux R. L., Glowac K., Tracy J. W. *Schistosoma japonicum* GSH S-transferase Sj26 is not the molecular target of praziquantel action // *Exp. Parasitol.* 1997. Vol. 87(3). P. 268–274. doi: 10.1006/expr.1997.4231
- Mondal J., Dey C. Lipid and fatty acid compositions of a trematode, *Isoparorchis hypselobagri* Billet, 1898 (Digenea: Isoparorchidae) infecting swim bladder of *Wallago attu* in the district North 24-Parganas of West Bengal // *J. Parasit. Dis.* 2013. Vol. 39, no. 1. P. 67–72. doi: 10.1007/s12639-013-0283-8
- Nare B., Smith J. M., Prichard R. K. *Schistosoma mansoni*: levels of antioxidants and resistance to oxidants increase during development // *Exp. Parasitol.* 1990. Vol. 70(4). P. 389–97. doi: 10.1016/0014-4894(90)90122-S
- Nikolaev K. E., Sukhotin A. A., Galaktionov K. V. Infection patterns in White Sea blue mussels *Mytilus edulis* of different age and size with metacercariae of *Himasthla elongata* (Echinostomatidae) and *Cercaria parvicaudata* (Rencolidae) // *Dis. Aqua Org.* 2006. Vol. 71, no. 1. P. 51–58. doi: 10.3354/dao071051

Noble J. E., Bailey M. J. A. Quantitation of Protein // *Methods Enzymol.* 2009. Vol. 463. P. 73–95.

Poulin R. The selection of experimental doses and their importance for parasite success in metacercarial infection studies // *Parasitol.* 2010. Vol. 137, no. 5. P. 889–898. doi: 10.1017/S0031182009991624

Prohaska J. R., Ganther H. E. Glutathione peroxidase activity of glutathione-s-transferases purified from rat liver // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1977. Vol. 76(2). P. 437–45.

Regoli F., Giuliani M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms // *Mar. Environ. Res.* 2014. Vol. 93. P. 106–17. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.07.006

Smith J. D. *Animal parasitology.* Cambridge University Press, Cambridge. 1994.

Thompson S. N. Biochemical and physiological effects of metazoan endoparasites on their host species // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1983. Vol. 74, no. 2. P. 183–211.

Tyutin A. V., Izvekova G. I. Infection of mollusks and fish by the trematode *Apophallus muehlingi* (Jagerskiold, 1898) and its interrelations with intermediate hosts // *Inland Water Biology.* 2013. Vol. 6, no. 1. P. 52–56. doi: 10.1134/S1995082912030157

Vance D. E., Vance J. E., eds. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* 4th ed. th ed. Amsterdam: Elsevier, 2002. 610 p.

Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullou M. J., Valavanidis A. Integrated use of biomarkers (superoxide

dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece // *Mar. Pollut. Bull.* 2007. Vol. 54(9). P. 1361–71. doi: 10.1016/j.marpolbul.2007.05.018

Vorontsova Y. A., Yurlova N. I., Vodyanitskaya S. N., Glupov V. V. Activity of detoxifying and antioxidant enzymes in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda: Pulmonata) during invasion by Trematode Cercariae // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2010. Vol. 46(1). P. 28–34. doi: 10.1134/S0022093010010032

Wegeberg A. M. Digene trematoder (Echinostomatidae) infectionsokologi og effekt pa Cerastoderma edule. University of Aarhus. 1998.

Werdning B. Morphologie, Entwicklung und Ökologie digener Trematoden-Larven der Strandschnecke Littorina littorea // *Marine Biology.* 1969. Vol. 3, no. 4. P. 306–333.

Zbikowska E. One snail – three Digenea species, different strategies in host-parasite interaction // *Animal Biology.* 2011. Vol. 61, no. 1. P. 1–19. doi: 10.1163/157075511X554383

Zelck U. E., Janje B., Schneider O. Superoxide dismutase expression and H₂O₂ production by hemocytes of the trematode intermediate host *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) // *Dev. Comp. Immunol.* 2005. Vol. 29, no. 4. P. 305–314. doi: 10.1016/j.dci.2004.09.002

Поступила в редакцию 09.11.2017

References

Rudneva I. I., Solonchenko A. I., Mel'nikova E. B. Vliyaniye parazitarnoi invazii na aktivnost' nekotorykh antioksidantnykh fermentov pecheni i myshts khozyaina chernomorskogo kalkana *Psetta maxima maeotica* [The influence of the parasite invasion on antioxidant enzyme activity in the liver and muscles of a host, the Black Sea flounder *Psetta maxima maeotica*]. *Parazitol.* [Parasitol.]. 2004. Vol. 38, no. 6. P. 557–561.

Sidorov V. S., Lizenko E. I., Bolgova O. M., Nefedova Z. A. Lipidy ryb. 1. Metody analiza [Lipids of fish. 1. Methods of analysis]. *Lososevye (Salmonidae) Karelii. Vyp. 1. Ekol. Parazitofauna. Biokhim.* [Salmonidae of Karelia. Iss. 1. Ecol. Parasitofauna. Biochem.]. Petrozavodsk: Karel. f. AN SSSR, 1972. P. 150–163.

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Kochneva A. A. Nekotorye biokhimicheskie pokazateli biotransformatsii ksenobiotikov v tkanyakh zhemchuzhnitsy evropeiskoi *Margaritifera margaritifera* [Some biochemical parameters of the transformation of xenobiotics in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*]. *Izv. RAN. Ser. Biol.* [Biol. Bull.]. 2017. No. 1. P. 30–34.

Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Smirnov L. P., Nemova N. N. Sravnitel'nyi analiz metodov opredeleniya kontsentratsii belka – spektrofotometrii v diapazone 200–220 nm Bredford [Comparative analysis of the methods for determination of protein concentration – spectrophotometry in the 200–220 nm range and the Bradford protein assay]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2010. No. 2. P. 68–71.

Arakelova E. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A., Shukolyukova E. P. Changes of phospholipid fatty acid composition in the digestive gland of the mollusc *Littorina saxatilis*, caused by trematode larvae. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2007. Vol. 43, no. 4. P. 388–397. doi: 10.1134/S0022093007030035

Arakelova K. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A. Physiology and lipid metabolism of *Littorina saxatilis* infected with trematodes. *Dis. Aqua. Org.* 2004. Vol. 60, no. 3. P. 223–231. doi: 10.3354/dao060223

Arduini A., Peschechera A., Dottori S., Sciarroni A. F., Serafini F., Calvani M. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies. *J. Lipid. Res.* 1996. Vol. 37. P. 684–689.

Beers R. F., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biol. Chem.* 1952. Vol. 195, no. 1. P. 133–140.

Belley A., Chadee K. Eicosanoid production by parasites: From pathogenesis to immunomodulation? *Parasitol. Today.* 1995. Vol. 11, no. 9. P. 327–334. doi: 10.1016/0169-4758(95)80185-5

Bergé J. P., Barnathan G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. In: *Yves Le Gal, Roland Ulber*, eds. *Marine biotechnology I.* Berlin Heidelberg: Springer. 2005. P. 49–125. doi: 10.1007/b135782

- Bower S. M., McGladdery S. F., Price I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. *Ann. Rev. Fish Dis.* 1994. Vol. 4. P. 1–199. doi: 10.1016/0959-8030(94)90028-0
- Britten R. A., Green J. A. Changes in glutathione metabolism following exposure to alkylating-agents in human ovarian tumor-biopsies. *Br. J. Cancer.* Houndmills, Basingstoke, Hampshire, England RG216XS: Stockton Press. 1989. Vol. 60, no. 3. P. 497–497.
- Chance B., Maehly A. C. Assay of catalase and peroxidases. *Methods Enzymol.* 1955. Vol. 2. P. 764–775.
- Cheng T. C. Marine molluscs as hosts for symbioses, with a review of known parasites of commercially important species. *Advances in Marine Biology.* 1967. Vol. 5. P. 1–424.
- Cohn V. H., Lyle J. A Fluorometric assay for glutathione. *Anal. Biochem.* 1966. Vol. 14. P. 434–440.
- De Montaudouin X., Bazairi H., Culloty S. Effect of trematode parasites on cockle *Cerastoderma edule* growth and condition index: a transplant experiment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2012. Vol. 471. P. 111–121. doi: 10.3354/meps10033
- Engelbrecht F. M., Mari F., Anderson J. T. Cholesterol. Determination in serum. A rapid direction method. *South Afr. Med. J.* 1974. Vol. 48(7). P. 250–256.
- Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. P. 497–509.
- Fried B., Bradford J. D. Histochemical and thin-layer chromatographic analyses of neutral lipids in various host sites infected with *Leucochloridiomorpha constans* (Trematoda). *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1984. Vol. 78, no. 1. P. 175–177.
- Fried B., Lewis Jr. P. D., Beers K. Thin-layer chromatographic and histochemical analyses of neutral lipids in the intramolluscan stages of *Leucochloridium variae* (Digenea, Leucochloridiidae) and the snail host, *Succinea ovalis*. *J. Parasitol.* 1995. P. 112–114. doi: 10.2307/3284019
- Fried B., Rao K. S., Sherma J., Huffman J. E. (a) Fatty acid composition of *Echinostoma trivolvis* (Trematoda) rediae and adults and of the digestive gland-gonad complex of *Helisoma trivolvis* (Gastropoda) infected with the intramolluscan stages of this echinostome. *Parasitol. Res.* 1993. Vol. 79(6). P. 471–474. doi: 10.1007/BF00931585
- Fried B., Sherma J., Rao K. S., Ackman R. G. Fatty acid composition of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) experimentally infected with the intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda). *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1993. Vol. 104(3). P. 595–598. doi: 10.1016/0305-0491(93)90287-F
- Furlong S. T. Unique roles for lipids in *Schistosoma mansoni*. *Parasitol. Today.* 1991. Vol. 7, no. 2. P. 59–62. doi: 10.1016/0169-4758(91)90192-Q
- Galaktionov K. V. Parasites of common animals and animals of market value. *White Sea, Ecology and Environment.* Derzsavets, St. Petersburg. 2001. P. 95–110.
- Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M. J. Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Mar. Environ. Res.* 2002. Vol. 54(3–5). P. 413–417. doi: 10.1016/S0141-1136(02)00164-2
- Ghosh D., Dey C., Misra K. K. Host-parasite relationship: fatty acid compositions of a trematode, *Paraphistomum cervi* and common Indian goat, *Capra hircus*. *J. Parasit. Dis.* 2005. Vol. 29. P. 119–123.
- Goodall C. P., Bender R. C., Broderick E. J., Bayne C. J. Constitutive differences in Cu/Zn superoxide dismutase mRNA levels and activity in hemocytes of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) that are either susceptible or resistant to *Schistosoma mansoni* (Trematoda). *Mol. Biochem. Parasitol.* 2004. Vol. 137, no. 2. P. 321–328.
- Gornowicz D., Dmochowska K., Żbikowska E., Żółtowska K. Total antioxidative status and the activity of peroxidase and superoxide dismutase in the haemolymph of *Lymnaea stagnalis* (L.) naturally infected with digenean trematodes. *J. Mollus. Stud.* 2013. Vol. 79(3). P. 225–229. doi: 10.1093/mollus/eyt019
- Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249, no. 22. P. 7130–7139.
- Hill T., Lewicki P. Statistics: Methods and Applications. *A comprehensive reference for science, industry, and data mining:* StatSoft Inc. 2007. 719 p.
- Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74(1). P. 214–226.
- Hoskin G. P., Cheng T. C., Shapiro I. L. Fatty acid compositions of three lipid classes of *Himasthla quissetensis* rediae before and after starvation. *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1974. Vol. 47, no. 4. P. 821–830.
- Jensen K. T., Castro N. F., Bachelet G. Infectivity of *Himasthla* spp. (Trematoda) in cockle (*Cerastoderma edule*) spat. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 1999. Vol. 79, no. 2. P. 265–271.
- Kubata B. K., Duszenko M., Martin K. S., Urade Y. Molecular basis for prostaglandin production in hosts and parasites. *Trends Parasitol.* 2007. Vol. 23(7). P. 325–331. doi: 10.1016/j.pt.2007.05.005
- Kulatchkova V. G. Parasites of blue mussels – the aquaculture object in the White Sea. *Investigation of the blue mussel of the White Sea.* Leningrad: Zoological Institute, 1985. P. 88–97.
- Laruelle F., Molloy D. P., Roitman V. A. Histological analysis of trematodes in *Dreissena polymorpha*: their location, pathogenicity, and distinguishing morphological characteristics. *J. Parasitol.* 2002. Vol. 88, no. 5. P. 856–863. doi: 10.1645/0022-3395(2002)088[0856:HAOTID]2.0.CO;2
- Lauckner G. Diseases of mollusca: Bivalvia. In: Kinne O. (Ed.). *Diseases of Marine Animals.* Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Federal Republic of Germany. 1983. P. 477–962.
- Lunetta J. E., Vernberg W. B. Fatty acid composition of parasitized and nonparasitized tissue of the mud-flat snail, *Nassarius obsoletus* (Say). *Exp. Parasitol.* 1971. Vol. 30, no. 2. P. 244–248.
- Mahmoud A. H., Rizk M. Z. Free Radical Scavengers in Susceptible/Resistant *Biomphalaria alexandrina* Snails before and after Infection. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2004. Vol. 138. P. 523–530. doi: 10.1016/j.cca.2004.08.012

Maria V. L., Bebianno M. J. Antioxidant and lipid peroxidation responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to mixtures of benzo (a) pyrene and copper. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2011. Vol. 154(1). P. 56–63. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.02.004

Milhon J. L., Thiboldeaux R. L., Glowac K., Tracy J. W. Schistosoma japonicum GSH S-transferase Sj26 is not the molecular target of praziquantel action. *Exp. Parasitol.* 1997. Vol. 87(3). P. 268–74. doi: 10.1006/expr.1997.4231

Mondal J., Dey C. Lipid and fatty acid compositions of a trematode, *Isoparorchis hypselobagri* Billet, 1898 (Digenea: Isoparorchidae) infecting swim bladder of Wallago attu in the district North 24-Parganas of West Bengal. *J. Parasit. Dis.* 2015. Vol. 39, no. 1. P. 67–72. doi: 10.1007/s12639-013-0283-8

Nare B., Smith J. M., Prichard R. K. Schistosoma mansoni: levels of antioxidants and resistance to oxidants increase during development. *Exp. Parasitol.* 1990. Vol. 70(4). P. 389–397. doi: 10.1016/0014-4894(90)90122-S

Nikolaev K. E., Sukhotin A. A., Galaktionov K. V. Infection patterns in White Sea blue mussels *Mytilus edulis* of different age and size with metacercariae of Himasthla elongata (Echinostomatidae) and Cercaria parvicaudata (Renicolidae). *Dis. Aqua. Org.* 2006. Vol. 71, no. 1. P. 51–58. doi: 10.3354/dao071051

Noble J. E., Bailey M. J. A. Quantitation of Protein. *Methods Enzymol.* 2009. Vol. 463. P. 73–95.

Poulin R. The selection of experimental doses and their importance to parasite success in metacercarial infection studies. *Parasitol.* 2010. Vol. 137, no. 5. P. 889–898. doi: 10.1017/S0031182009991624

Prohaska J. R., Ganther H. E. Glutathione peroxidase activity of glutathione-s-transferases purified from rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1976. Vol. 76(2). P. 437–45.

Regoli F., Giuliani M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Mar. Environ. Res.* 2014. Vol. 93. P. 106–17. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.07.006

Smith J. D. Animal parasitology. Cambridge University Press, Cambridge. 1994.

Thompson S. N. Biochemical and physiological effects of metazoan endoparasites on their host species. *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1983. Vol. 74, no. 2. P. 183–211.

Tyutin A. V., Izvekova G. I. Infection of mollusks and fish by the trematode Apophallus muehlingi (Jagerskiold, 1898) and its interrelations with intermediate hosts. *Inland Water Biology.* 2013. Vol. 6, no. 1. P. 52–56. doi: 10.1134/S1995082912030157

Vance D. E., Vance J. E., eds. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. Amsterdam: Elsevier, 2002. 610 p.

Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullou M. J., Valavanidis A. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Mar. Pollut. Bull.* 2007. Vol. 54(9). P. 1361–1371. doi: 10.1016/j.marpolbul.2007.05.018

Vorontsova Y. A., Yurlova N. I., Vodyanitskaya S. N., Glupov V. V. Activity of detoxifying and antioxidant enzymes in the pond snail Lymnaea stagnalis (Gastropoda: Pulmonata) during invasion by Trematode Cercariae. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2010. Vol. 46(1). P. 28–34. doi: 10.1134/S0022093010010032

Wegeberg A. M. Digene trematodes (Echinostomatidae) infectionsokologi og effekt pa Cerastoderma edule. *University of Aarhus.* 1998.

Werding B. Morphologie, Entwicklung und Ökologie digener Trematoden-Larven der Strandschnecke Littorina littorea. *Mar. Biol.* 1969. Vol. 3, no. 4. P. 306–333.

Żbikowska E. One snail-three Digenea species, different strategies in host-parasite interaction *Animal Biology.* 2011. Vol. 61, no. 1. P. 1–19. doi: 10.1163/157075511X554383

Zelck U. E., Janje B., Schneider O. Superoxide dismutase expression and H₂O₂ production by hemocytes of the trematode intermediate host Lymnaea stagnalis (Gastropoda). *Dev. Comp. Immunol.* 2005. Vol. 29, no. 4. P. 305–314. doi: 10.1016/j.dci.2004.09.002

Received November 09, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Фокина Наталья Николаевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр РАН» ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: fokinann@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Суховская Ирина Викторовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр РАН» ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: sukhovskaya@inbox.ru
тел.: (8142) 769810

CONTRIBUTORS:

Fokina, Natalia

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

Руоколайнен Татьяна Рудольфовна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: truok@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769810

Кочнева Альбина Александровна

аспирант
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: kochnevaalbina@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Бахмет Игорь Николаевич

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: igor.bakhmet@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Николаев Кирилл Евгеньевич

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

Левакин Иван Андреевич

научный сотрудник, к. б. н.
Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, Россия, 199034
эл. почта: levakin2@gmail.com
тел.: (812) 3280311

Ruokolainen, Tatiana

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

Kochneva, Albina

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

Bakhmet, Igor

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

Nikolaev, Kirill

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

Levakin, Ivan

Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences
1 Universitetskaya Nab., 199034 St. Petersburg, Russia
e-mail: levakin2@gmail.com
tel.: (812) 3280311

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.115:597.5

ЛИПИДЫ ТКАНЕЙ РЫБ ИЗ АКВАТОРИЙ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

О. Б. Васильева¹, М. А. Назарова², Н. В. Ильмаст¹, Н. Н. Немова¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, ФИЦ КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

² Вологодский государственный университет, Россия

Проведено исследование содержания общих липидов и индивидуальных фосфолипидов в тканях окуня *Perca fluviatilis* L. и ерша *Gymnocephalus cernuus* L. из двух акваторий Онежского озера (Петрозаводская губа и Повенецкий залив) с разной степенью антропогенного влияния. Анализ гидрохимических данных воды показал, что Петрозаводская губа по сравнению с Повенецким заливом более загрязнена: акватория Онежского озера в районе города Петрозаводска характеризуется более высоким (в 2–3 раза) содержанием биогенных элементов, нефтепродуктов в воде и донных отложениях. Выявлены различия в содержании практически всех исследованных липидных показателей в печени окуня и ерша из разных акваторий Онежского озера. Установлено более высокое содержание общих липидов в печени окуня и ерша из Петрозаводской губы, чем из Повенецкого залива, обусловленное возрастанием доли запасных липидов, накопление которых в печени свидетельствует о дисфункции гепатоцитов. Показано снижение содержания основных фосфолипидов (фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина) в печени окуня и ерша из акватории Петрозаводского промузла. Обнаружены модификации некоторых липидных компонентов в жабрах рыб из Петрозаводской губы, что, вероятно, обусловлено формированием адаптивных механизмов осморегуляции в условиях повышенной концентрации органических элементов. На фоне различий в уровне липидных показателей практически для всех изученных тканей окуня и ерша из двух акваторий сравнительно низкая чувствительность к антропогенному воздействию выявлена для мышечной ткани рыб. Сравнение межвидовых особенностей липидного статуса рыб из разных акваторий показало, что наиболее выраженные различия биохимических параметров установлены в тканях окуня.

Ключевые слова: липиды; фосфолипиды; окунь; ерш; антропогенное загрязнение.

O. B. Vasil'eva, M. A. Nazarova, N. V. Ilmast, N. N. Nemova. LIPIDS OF FISH FROM LAKE ONEGO AREAS WITH DIFFERENT LEVELS OF ANTHROPOGENIC POLLUTION

The content of total lipids and individual phospholipids was studied in perch *Perca fluviatilis* L. and ruffe *Gymnocephalus cernus* L. from two areas of Lake Onego differing in

human impact (Petrozavodsk Bay and Povenets Bay). The analysis of hydrochemical data showed that Petrozavodsk Bay is more polluted than Povenets Bay: Lake Onego near the city of Petrozavodsk has a higher (2–3-fold) content of nutrients and oil products in the water and bottom sediments. The content of total lipids in the liver of perch and ruffe from Petrozavodsk Bay was higher than in Povenets Bay. This is explained by an increase in the share of storage lipids, whose accumulation in the liver indicates a dysfunction of hepatocytes. A decrease in the content of basic phospholipids (phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine) was observed in the liver of perch and ruffe from the lake area at the Petrozavodsk industrial hub. Modifications were detected in some lipid components in the gills of the fish from Petrozavodsk Bay, probably due to the formation of adaptive osmoregulatory mechanisms under exposure to elevated concentrations of organic elements. As opposed to the variation of the lipid indices in nearly all the studied tissues of perch and ruffe from the two areas, the muscle tissue of the fish demonstrated a comparatively low sensitivity to human impact. The comparison scope of the lipid status variation between the fish species showed that differences in biochemical parameters between the areas were more pronounced in perch.

Key words: lipids; phospholipids; perch; ruffe; anthropogenic pollution.

Введение

Онежское озеро является вторым по величине пресноводным водоемом Европы. На его долю приходится около 40 % общего улова рыбы в пресных водах Карелии [Состояние..., 2007]. Ихтиофауна водоема довольно разнообразна и представлена 36 видами (15 семейств), в том числе и ценными промысловыми – лососевыми и сиговыми рыбами [Ильмаст и др., 2010]. Однако их ареал пространственно неоднороден: наиболее многообразен видовой состав в центральной части Онежского озера, которая сохраняет черты олиготрофного водоема, а в загрязненных губах прослеживается тенденция к снижению разнообразия и численности гидробионтов. Поэтому среди всех рыбных ресурсов особое значение приобретают виды, массово не используемые в промышленном рыболовстве, – окуневые, карповые и другие.

Одним из основных источников загрязнения Онежского озера являются сточные воды промышленных центров, к которым относятся Петрозаводск и Медвежьегорск. Большой объем хозяйственно-бытовых сточных вод Петрозаводского промцентра обуславливает сравнительно высокое содержание биогенных и взвешенных веществ в Петрозаводской губе Онежского озера, и, напротив, вклад Медвежьегорского промцентра в общее поступление антропогенных продуктов в Повенецкий залив незначителен [Состояние..., 2007]. Локальное влияние на качество вод в губах оказывают дренажные и ливневые воды, поступающие с территорий данных городов [Состояние..., 2007].

В настоящее время ведется активный поиск универсальных биологических маркеров,

дающих достоверную информацию о развитии общих и специфических механизмов адаптивного ответа у гидробионтов из антропогенно-трансформированных водоемов [Немова, Высоцкая, 2004]. В эколого-токсикологических исследованиях в качестве биомаркеров часто используются липиды, поскольку их концентрация в органах и тканях рыб меняется уже на ранних этапах влияния различных факторов среды [Hochachka, Somero, 2002; Tkatcheva et al., 2004]. Фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилэтанолламин (ФЭА) являются основными компонентами биологических мембран и играют структурообразующую роль, а также определяют жидкость бислоя, тем самым влияя на функциональную активность многих мембраносвязанных ферментов. Минорные фосфолипиды, такие как фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидилсерин (ФС) и лизофосфатидилхолин (ЛФХ), относятся к биоэфекторам, которые участвуют в регуляции многих физиологически значимых процессов [Tocher et al., 2008]. В данной работе проведен сравнительный анализ липидного состава тканей окуня и ерша, обитающих в акваториях, непосредственно примыкающих к основным промышленным центрам Онежского озера.

Материалы и методы

В данной работе проведен сравнительный анализ состава общих липидов и индивидуальных фосфолипидов печени, мышц и жабр окуня *Perca fluviatilis* L. и ерша *Gymnocephalus cernuus* L. из Петрозаводской губы, куда поступают сточные воды Петрозаводского промузла, и из Повенецкого залива – акватории Медвежьегорского промузла. Районы отбора проб

Таблица 1. Среднегодовые показатели водоотведения и выноса химических веществ со сточными водами основных промцентров в Онежское озеро

Table 1. Average annual indices of wastewater disposal and influx of chemicals to Lake Onego with wastewater from major industrial hubs

Показатель Index	Промцентр Industrial hub	
	Петрозаводский Petrozavodsk	Медвежьегорский Medvezhyegorsk
Водоотведение, млн м ³ Wastewater disposal, mln m ³	49,2	0,9
Взвешенное вещество, тыс. т/год Suspended matter, kt/year	1,2	0,2
Сухой остаток, тыс. т/год Dry residue, kt/year	9,1	0,5
БПК _{полн.} , тыс. т/год BOD _{total} , kt/year	0,5	0,2
Фосфор общ., т/год Total phosphorus, t/year	103,6	4,8
Азот общ., т/год Total nitrogen, t/year	543,0	17,8
Азот аммонийный, т/год Ammonia nitrogen, t/year	59,0	16,2

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 данные по: [Состояние..., 2007].

Note. Data here and in Tables 2 and 3 are given after [Sostojanie vodnyh ..., 2007]

Таблица 2. Некоторые гидрохимические показатели Петрозаводской губы и Повенецкого залива Онежского озера

Table 2. Some hydrochemical indices for Petrozavodsk Bay and Povenets Bay of Lake Onego

Район Area	Показатели Index			
	ПО, мг О/л permanganate index, mg O/l	БПК ₅ , мг О ₂ /л BOD ₅ , mg O ₂ /l	P _{общ.} , мкг/л P _{tot} , µg/l	N _{общ.} , мг/л N _{tot} , mg/l
Петрозаводская губа Petrozavodsk Bay	9,3	1,7	30,0	0,7
Повенецкий залив Povenets Bay	4,6	0,7	10,0	0,5

Таблица 3. Химический состав донных отложений исследуемых районов Онежского озера, % от в.-с. н.

Table 3. Chemical composition of bottom sediments of Lake Onego, % of air-dry sample

Район Area	Показатели Index					
	N _{орг.}	N-NH ₄ ⁺	P _{общ.}	P _{лаб.}	Fe	Mn
Петрозаводская губа Petrozavodsk Bay	0,12–0,77	0,01–0,03	0,09–0,90	0,03–0,89	0,38–0,91	0,08–1,60
Повенецкий залив Povenets Bay	0,09–0,51	0,01–0,03	0,05–0,27	0,02–0,15	0,11–0,90	0,05–0,32

значительно отличаются по гидрохимическим показателям (табл. 1, 2, 3). Выборка рыб была однородна по линейно-весовым, возрастным и иным характеристикам и составляла 10 особей в каждой из исследованных групп рыб (табл. 4).

С помощью стандартных биохимических методов проведен анализ липидных показателей в печени, жабрах и мышцах рыб. Экстракцию липидов проводили по методу Фолча [Folch

et al., 1957]. Содержание общих фосфолипидов (ФЛ), триацилглицеринов (ТАГ), холестерина (ХС) и его эфиров (ЭХС) определяли спектрофотометрическим методом [Сидоров и др., 1972; Engelbrecht et al., 1974]. Анализ фракций фосфолипидов проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии [Arduini et al., 1996]. Полученные данные анализировали с помощью стандартных методов статистики, применяя при сравнении двух

Таблица 4. Характеристика объектов исследования

Table 4. Characteristics of study objects

Показатели Index	Район Area			
	Петрозаводская губа Petrozavodsk Bay		Повенецкий залив Povenets Bay	
Рыба Fish	Окунь Perch	Ерш Ruffe	Окунь Perch	Ерш Ruffe
Выборка, n Sample, n	10	10	10	10
Возраст рыб, лет Age of fish, years	4+...6+	3+...5+	4+... 6+	3+... 6+
Длина, см Length, cm	14,4 ± 2,7	9,8 ± 3,1	15,7 ± 3,1	10,4 ± 2,9
Масса, г Weight, g	25,6 ± 4,3	17,5 ± 3,1	29,2 ± 3,5	19,1 ± 4,3

Таблица 5. Содержание липидов (% сухой массы) в тканях окуня *Perca fluviatilis* L. из разных акваторий Онежского озера

Table 5. Lipid content (% dry mass) in tissues of perch *Perca fluviatilis* L. from different areas of Lake Onego

Показатели Index	Печень Liver		Жабры Gills		Мышцы Muscles	
	П	М	П	М	П	М
Общие липиды Total lipids	19,54 ± 1,2	15,44 ± 1,3*	10,56 ± 1,5	10,38 ± 1,1	16,04 ± 0,9	16,87 ± 1,2
Триацилглицеролы Triacylglycerols	6,09 ± 0,8	3,94 ± 0,5*	2,90 ± 0,8	3,25 ± 0,5*	3,83 ± 0,7	3,15 ± 0,8
Холестерин Cholesterol	3,32 ± 0,4	2,06 ± 0,4*	0,94 ± 0,2	2,10 ± 0,6*	2,82 ± 0,5	3,37 ± 0,4
Эфиры холестерина Cholesterol esters	2,15 ± 0,6	0,52 ± 0,1*	2,74 ± 0,2	3,02 ± 0,1*	3,74 ± 0,3	2,52 ± 0,2
Общие фосфолипиды Total phospholipids	7,68 ± 0,3	8,80 ± 0,4	5,54 ± 0,4	6,11 ± 0,5	3,01 ± 0,5	3,75 ± 0,8
Фосфатидилхолин Phosphatidylcholine	3,71 ± 0,7	5,5 ± 0,5*	2,69 ± 0,5	4,47 ± 0,6*	2,01 ± 0,3	2,51 ± 0,4
Фосфатидилэтанолламин Phosphatidylethanolamine	1,28 ± 0,4	2,17 ± 0,3*	0,91 ± 0,3	1,92 ± 0,4*	0,62 ± 0,1	0,88 ± 0,1*
Фосфатидилсерин Phosphatidylserine	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1*	0,09 ± 0,03	0,07 ± 0,04	0,11 ± 0,06	0,10 ± 0,05
Фосфатидилинозитол Phosphatidylinositol	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,20 ± 0,04
Сфингомиелин Sphingomyelin	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,07 ± 0,03	0,13 ± 0,03*	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Лизофосфатидилхолин Lysophosphatidylcholine	0,8 ± 0,1	0,1 ± 0,1*	0,56 ± 0,08	0,31 ± 0,06*	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Неидентифицированные фосфолипиды Unidentified phospholipids	0,9 ± 0,2	0,2 ± 0,1*	1,19 ± 0,11	0,17 ± 0,04*	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,01

Примечание. *Различия достоверны при $p \leq 0,05$ при сравнении показателей у окуня из двух акваторий. Здесь и в табл. 6: П – Петрозаводский промцентр, М – Медвежьегорский промцентр.

Note. *Differences are significant at $p \leq 0.05$ when comparing perch from the two water areas. Here and in Table 6: П – Petrozavodsk hub, М–Medvezhyegorsk hub.

выборок критерий Вилкоксона – Манна – Уитни ($p \leq 0,05$) [Елисеева, 2007].

Исследования выполнены с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Окунь *Perca fluviatilis* L. и ерш *Gymnocephalus cernuus* L. (семейство окуневые) являются одними из самых распространенных и массовых видов, обитающих почти во всех реках и озерах Карелии. Они относятся к промысловым видам,

Таблица 6. Содержание липидов (% сухой массы) в тканях ерша *Gymnocephalus cernuus* L. из разных акваторий Онежского озера

Table 6. Lipid content (%dry mass) in tissues of ruffe *Gymnocephalus cernuus* L. from different areas of Lake Onego

Показатели Index	Печень Liver		Жабры Gills		Мышцы Muscles	
	П	М	П	М	П	М
Общие липиды Total lipids	19,81 ± 1,2	16,31 ± 1,1*	5,69 ± 1,1	6,42 ± 0,9	22,78 ± 1,2	23,53 ± 1,4
Триацилглицерины Triacylglycerols	9,19 ± 1,3	2,51 ± 0,9*	1,88 ± 0,7	2,43 ± 0,9*	9,34 ± 1,4	8,15 ± 1,1
Холестерин Cholesterol	2,13 ± 0,2	1,29 ± 0,3*	0,39 ± 0,1	0,42 ± 0,1	1,67 ± 0,6	1,97 ± 0,7
Эфиры холестерина Cholesterol esters	0,83 ± 0,1	0,94 ± 0,1	0,18 ± 0,1	0,66 ± 0,1*	0,73 ± 0,1	0,77 ± 0,1
Общие фосфолипиды Total phospholipids	7,55 ± 1,0	11,53 ± 1,3*	3,01 ± 0,7	2,91 ± 0,6	11,02 ± 1,4	12,67 ± 1,3
Фосфатидилхолин Phosphatidylcholine	3,65 ± 0,7	6,77 ± 1,1*	1,33 ± 0,6	1,55 ± 0,4	6,44 ± 0,9	6,90 ± 1,3
Фосфатидилэтаноламин Phosphatidylethanolamine	1,25 ± 0,6	3,43 ± 0,9*	0,62 ± 0,1	0,99 ± 0,1*	2,54 ± 0,3	4,12 ± 0,4*
Фосфатидилсерин Phosphatidylserine	0,24 ± 0,05	0,17 ± 0,05*	0,11 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,44 ± 0,06	0,49 ± 0,09
Фосфатидилинозитол Phosphatidylinositol	0,27 ± 0,09	0,23 ± 0,07	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,54 ± 0,11	0,38 ± 0,04
Сфингомиелин Sphingomyelin	0,42 ± 0,04	0,40 ± 0,05	0,05 ± 0,01	0,11 ± 0,02*	0,85 ± 0,07	0,71 ± 0,04
Лизофосфатидилхолин Lysophosphatidylcholine	0,81 ± 0,07	0,22 ± 0,04*	0,29 ± 0,09	0,09 ± 0,01*	0,08 ± 0,02	0,06 ± 0,01
Неидентифицированные фосфолипиды Unidentified phospholipids	0,90 ± 0,08	0,31 ± 0,03*	0,58 ± 0,06	0,09 ± 0,01*	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,02

Примечание. *Различия достоверны при $p \leq 0,05$ при сравнении показателей у ерша из двух акваторий.

Note. *Differences are significant at $p \leq 0.05$ when comparing ruffe from the two water areas.

и основная доля уловов окуня приходится на Онежское озеро, составляя около 7 % общего вылова (порядка 130 тонн в год) [Состояние..., 2007]. В промысловом отношении ерш большой ценности не представляет. Однако его вылов в Онежском озере достигает 70 и более тонн в год, или около 4 % общего вылова рыбы [Ильмаст и др., 2010].

Анализ гидрохимических данных показывает, что Петрозаводская губа Онежского озера по сравнению с Повенецким заливом более загрязнена – в ней наблюдается повышенное содержание (в 2–3 раза) биогенных элементов, нефтепродуктов в воде и донных отложениях (табл. 1, 2, 3).

Установлены различия в содержании практически всех исследованных липидных показателей в печени окуня и ерша из разных акваторий Онежского озера. Показано более высокое содержание общих липидов в печени окуня и ерша из Петрозаводской губы, чем из Повенецкого залива (табл. 5, 6). Увеличение содержания липидов в печени рыб обусловлено возрастанием доли триацилглицеринов (ТАГ). Кроме того, у окуня из акватории Петрозаводского

промцентра выявлено возрастание и других запасных липидов – эфиров холестерина. Накопление запасных липидов в печени свидетельствует о дисфункции гепатоцитов, что со временем может привести к жировому перерождению [Speranza, Colombo, 2009].

Биохимические механизмы адаптации рыб при техногенном воздействии прежде всего связаны с изменением функционирования биологических мембран, одним из критериев которого является содержание структурных липидов – холестерина и фосфолипидов [Tkatcheva et al., 2004]. Обнаружены различия ($p \leq 0,05$) в содержании данных компонентов в печени рыб из двух водоемов (табл. 5, 6). Более высокий уровень холестерина в печени окуня и ерша из Петрозаводской губы, возможно, связан с индукцией синтеза стероидных компонентов при неблагоприятном воздействии внешней среды. Согласно литературным данным, влияние техногенного загрязнения на метаболизм печени рыб активирует синтез холестерина и жирных кислот, что в дальнейшем приводит к дисфункции печени и ее жировому перерождению [Speranza, Colombo, 2009].

Выявлены различия в содержании фосфолипидов в печени рыб из двух водоемов (табл. 5, 6). Обнаружен низкий уровень основных фосфолипидов (фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА)) и более высокое содержание сфингомиелина (СФМ) и лизофосфатидилхолина (ЛФХ) в печени окуня и ерша из акватории Петрозаводского промузла. Известно, что данные модификации связаны с жировой дистрофией печени [Tocher et al., 2008]. Лизофосфатидилхолин играет моделирующую роль в биомембранах и в небольших концентрациях выполняет медиаторную функцию, однако значительное возрастание доли ЛФХ по отношению к своему метаболическому предшественнику (ФХ/ЛФХ) может свидетельствовать о деструкции биомембран гепатоцитов [Tocher et al., 2008]. Аналогичные модификации фосфолипидных компонентов в тканях рыб, обитающих в условиях техногенного загрязнения, нами были показаны в ранее проведенных исследованиях [Васильева и др., 2011, 2012].

Сравнительный анализ состава общих липидов жабр у изученных видов рыб достоверных различий не выявил (табл. 5, 6). Однако установлены изменения в концентрации запасных липидных компонентов. Показан более низкий уровень ($p \leq 0,05$) триацилглицеринов и эфиров холестерина в жабрах окуня и ерша из Петрозаводской губы по сравнению с рыбами из Повенецкого залива (табл. 5, 6). Следует отметить, что наиболее выражены данные отличия у окуня. Высокий уровень органических элементов в Петрозаводской губе, вероятно, негативно влияет на оксигенацию жабр и приводит к снижению аэробного обмена; как следствие, происходит снижение содержания одного из основных субстратов окисления – триацилглицеринов в жабрах рыб [Моисеенко, 2009]. Возможно, недостаток поступления кислорода также определяет и низкое содержание холестерина (ХС) и его эфиров в жабрах окуня из акватории Петрозаводского промузла (табл. 5, 6), поскольку количество стероидных компонентов в клеточных мембранах во многом зависит от уровня кислорода [Hochachka, Somero, 2002]. Снижение ХС в жабрах влияет на изменение микровязкостности биомембран, что может привести к нарушению осморегуляторной функции данного органа. Подобные модификации структурных и запасных липидов у гидробионтов в условиях стресса были уже установлены [Tkatcheva et al., 2004; Speranza, Colombo, 2009; Васильева и др., 2011], что позволяет уверенно использовать данные параметры как критерий оценки токсического воздействия на организм рыб. Обнаруженные различия в

концентрации ФЭА, СФМ, ЛФХ и неидентифицированных фосфолипидов в жабрах окуня и ерша из разных акваторий Онежского озера аналогичны распределению фосфолипидного спектра в печени рыб и свидетельствуют о негативном эффекте гидрохимического состава Петрозаводской губы на регуляцию газообмена, поддержание ионного и осмотического гомеостаза у рыб из этой акватории.

Интересно отметить, что при анализе липидного и фосфолипидного состава мышц не установлено существенных различий между исследуемыми группами рыб (табл. 5, 6). Учитывая крайнюю чувствительность фосфолипидных компонентов к различного рода воздействиям, можно сделать предположение о достаточно высокой адаптивной устойчивости мышц изученных видов рыб к влияниям, исследуемым в данной работе.

Таким образом, наиболее выраженные различия в содержании изученных липидных компонентов обнаружены в печени рыб, что, возможно, определяется высокой метаболической активностью этого органа. Установленные изменения в содержании липидов в жабрах рыб из Петрозаводской губы, вероятно, связаны с регуляцией осмотического давления и поддержанием ионообмена в условиях повышенной концентрации органических элементов. Согласно полученным данным, мышцы рыб наименее подвержены токсической нагрузке. Сравнение межвидовых особенностей липидного статуса рыб из разных акваторий показало, что наиболее выраженные различия биохимических параметров установлены в тканях окуня.

Исследования осуществлялись при финансовой поддержке федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0050 (№ АААА-А17-117031710039-3)) и Программы Президиума РАН «Биоразнообразии природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» № 0221-2015-0003: «Динамика изменений ихтиофауны пресноводных экосистем Европейского Севера России при климатическом и антропогенном воздействии».

Литература

Васильева О. Б., Назарова М. А., Немова Н. Н. Влияние техногенных стоков Костомукшского ГОКа на некоторые липидные показатели тканей сига *Coregonus lavaretus* L. // Современное состояние биоресурсов внутренних водоемов: Матер. докл.

I Всерос. конф. с междунар. участием (Борок, 12–16 сентября 2011 г.). М., 2011. Т. 1. С. 108–112.

Васильева О. Б., Назарова М. А., Рипатти П. О., Немова Н. Н. Липидный состав и некоторые показатели перекисного окисления липидов в печени рыб в условиях антропогенной нагрузки // Матер. Всерос. конф. с международным участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации гидробионтов» (Борок, 22–27 сентября 2012 г.). Борок, 2012. С. 60–65.

Елисеева И. И. Статистика. М.: Высш. образ., 2007. 566 с.

Ильмаст Н. В., Стерлигова О. П., Первозванский В. Я. Ресурсные виды // Мониторинг и сохранение биоразнообразия таежных экосистем Европейского Севера России. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2010. С. 81–85.

Моисеенко Т. И. Водная экотоксикология: теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.

Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 215 с.

Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Неведова З. А. Липиды рыб. 1. Методы анализа. Тканевая специфичность ряпушки *Coregonus albula* L. // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1972. Вып. 1. С. 152–163.

Состояние водных объектов Республики Карелия. По результатам мониторинга 1998–2006 гг. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 210 с.

References

Eliseeva I. I. Statistika [Statistics]. Moscow: Vyssh. obraz., 2007. 566 p.

Il'mast N. V., Sterligova O. P., Pervozvanskii V. Ya. Resursnye vidy [Resource species]. *Monitoring i sokhranenie bioraznoobraziya taezhnykh ekosistem Evropeiskogo Severa Rossii* [Monitoring and Conservation of Biological Diversity of the Taiga Ecosystems in the European North of Russia]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2010. P. 81–85.

Moiseenko T. I. Vodnaya ekotoksikologiya: teoreticheskie i prikladnye aspekty [Water ecotoxicology: theoretical and applied aspects]. Moscow: Nauka, 2009. 400 p.

Nemova N. N., Vysotskaya R. U. Biokhimicheskaya indikatsiya sostoyaniya ryb [Biochemical indication of fish state]. Moscow: Nauka, 2004. 215 p.

Sidorov V. S., Lizenko E. I., Bolgova O. M., Nefedova Z. A. Lipidy ryb. 1. Metody analiza. Tkanevaya spetsifichnost' ryapushki *Coregonus albula* L. [Lipids of fish. 1. Methods of analysis. The tissue specificity of the vendace *Coregonus albula* L.]. *Lososevye (Salmonidae) Karelii [Salmonidae in Karelia]*. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1972. Vol. 1. P. 152–163.

Sostoyanie vodnykh ob'ektov Respubliki Kareliya. Po rezul'tatam monitoringa 1998–2006 gg. [The state of the water bodies in the Republic of Karelia (according to the monitoring in 1998–2006)]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2007. 210 p.

Vasil'eva O. B., Nazarova M. A., Nemova N. N. Vliyanie tekhnogennykh stokov Kostomukshskogo GOKa

Arduini A., Peschechera A., Dottori S. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // *J. Lipid Res.* 1996. Vol. 37, no. 2. P. 684–689.

Engelbrecht F. M., Mari F., Anderson J. T. Cholesterol determination in serum. A rapid direction method // *Med. J.* 1974. Vol. 48, no. 7. P. 250–356.

Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. P. 497–509.

Hochachka P. W., Somero G. N. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. New York: Oxford University Press, 2002. 466 p.

Speranza E. D., Colombo J. C. Biochemical composition of a dominant detritivorous fish *Prochilodus lineatus* along pollution gradients in the Paraná-Río de la Plata Basin // *J. of Fish Biol.* 2009. Vol. 74, no. 6. P. 1226–1244. doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02191.x

Tkatcheva V., Hyvärinen H., Kukkonen J., Ryzhkov L. P., Holopainen I. J. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia // *Ecotoxicol Environ Saf.* 2004. No. 57 (3). P. 278–89. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00079-4

Tocher D. R., Bendiksen E. Å., Campbell P. J., Bell J. G. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish // *Aquaculture*. 2008. Vol. 280. P. 21–34. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.034

Поступила в редакцию 12.10.2017

na nekotorye lipidnye pokazateli tkanei sigov *Coregonus lavaretus* L. [Influence of industrial effluents of the Kostomuksha ore mining and processing enterprise (GOK) on some lipid indices of the freshwater whitefish *Coregonus lavaretus* L.]. *Sovremennoe sostoyanie biosferosov vnutrennikh vodoemov: Materialy dokladov I Vseros. konf. s mezhdunar. uchastiem (Borok, 12–16 sentyabrya 2011 g.)* [The Current State of the Biological Resources of Inland Water Bodies: Proceed. of the I All-Russ. Conf. with Int. Part. (Borok, September 12–16, 2011)]. Moscow, 2011. Vol. 1. P. 108–112.

Vasil'eva O. B., Nazarova M. A., Ripatti P. O., Nemova N. N. Lipidnyi sostav i nekotorye pokazateli perekisnogo okisleniya lipidov v pecheni ryb v usloviyakh antropogennoi nagruzki [Lipid composition and some parameters of lipid peroxidation in the liver of fish under anthropogenic load]. *Materialy Vseros. konf. s mezhdunar. uchastiem "Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy adaptatsii gidrobiontov"* (Borok, 22–27 sentyabrya 2012 g.) [Proceed. of the All-Russ. Conf. with Int. Part. "Physiological, Biochemical, and Molecular Genetic Mechanisms of Hydrobionts Adaptation" (Borok, September 22–27, 2012)]. Borok, 2012. P. 60–65.

Arduini A., Peschechera A., Dottori S. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies. *J. Lipid Res.* 1996. Vol. 37, no. 2. P. 684–689.

Engelbrecht F. M., Mari F., Anderson J. T. Cholesterol determination in serum. A rapid direction method. *Med. J.* 1974. Vol. 48, no. 7. P. 250–356.

Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. P. 497–509.

Hochachka P. W., Somero G. N. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution.* New York: Oxford University Press, 2002. 466 p.

Speranza E. D., Colombo J. C. Biochemical composition of a dominant detritivorous fish *Prochilodus lineatus* along pollution gradients in the Paraná-Río de la Plata Basin. *Journal of Fish Biology.* 2009. Vol. 74, no. 6. P. 1226–1244. doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02191.x

Tkatcheva V., Hyvärinen H., Kukkonen J., Ryzhkov L. P., Holopainen I. J. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2004. No. 57(3). P. 278–89. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00079-4

Tocher D. R., Bendiksen E. Å., Campbell P. J., Bell J. G. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture.* 2008. Vol. 280. P. 21–34. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.034

Received October 12, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Васильева Ольга Борисовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: vasil@krc.karelia.ru
тел.: 89114114742

Назарова Марина Александровна

доцент, к. б. н.
Вологодский государственный университет
ул. Ленина, 15, Вологда, Россия, 160000
эл. почта: marinamarina35@yandex.ru

Ильмаст Николай Викторович

заведующий лаб., доцент, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: ilmast@krc.karelia.ru

Немова Нина Николаевна

главный научный сотрудник, чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Vasil'eva, Olga

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: vasil@krc.karelia.ru
tel.: +79114114742

Nazarova, Marina

Vologda State University
15 Lenin St., 160000 Vologda, Russia
marinamarina35@yandex.ru

Ilmast, Nikolai

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

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

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО СНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ВОДНЫЙ ОБМЕН ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОПТИМАЛЬНОГО И ИЗБЫТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЦИНКА

Н. М. Казнина, Ю. В. Батова, Г. Ф. Лайдинен, А. Ф. Титов

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
Петрозаводск, Россия

В условиях контролируемой среды исследовали влияние кратковременного снижения температуры воздуха (до 4 °С в течение 1 сут) на показатели роста и водного обмена у растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при оптимальном (2 мкМ) и избыточном (1000 мкМ) содержании цинка в корнеобитаемой среде. Показано, что суточное воздействие температуры 4 °С на растения, произрастающие в условиях оптимального содержания цинка, приводит к уменьшению размеров устьичной щели, снижению устьичной проводимости и замедлению транспирации. Предполагается, что указанные изменения носят защитно-приспособительный характер и направлены на поддержание высокого уровня оводненности тканей листа и накопление надземной биомассы. При избытке металла в корнеобитаемой среде наблюдалось более сильное замедление устьичной проводимости и скорости транспирации, а оводненность тканей листа, несмотря на это, несколько снижалась. Кроме того, в данном варианте опыта у растений отмечено частичное закрытие устьиц и сокращение их количества. Указанные изменения в устьичном аппарате, а также торможение процесса накопления биомассы корней, свидетельствующее о задержке их роста, по-видимому, явились основными причинами нарушения водного обмена у растений пшеницы, испытывающих воздействие низкой температуры в условиях избыточного содержания цинка в корнеобитаемой среде.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; цинк; низкая положительная температура; сырая и сухая биомасса; оводненность; устьичная проводимость; транспирация.

N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, G. F. Laidinen, A. F. Titov. THE EFFECT OF SHORT-TERM CHILLING ON THE WATER METABOLISM IN WHEAT AS RELATED TO OPTIMAL AND EXCESSIVE ZINC CONTENT

The effect of short-term chilling (to 4 °C for 1 day) on the growth and water metabolism in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) when combined with optimal (2 μM) and excessive (1000 μM) zinc content in the root area was studied in a controlled environment. In the plants growing in a medium with optimal zinc content a 1 day exposure to the 4 °C temperature caused a reduction of the stomatal pore size, a decline in stomatal conductance and transpiration rate. These modifications supposedly act as defensive adaptations meant to maintain a high water content in the leaves and support the increment of the above-ground biomass. Where the metal concentration in the root area was excessive, there was a heavier decline in stomatal conductance and transpiration rate, and yet the water content in the leaves somewhat decreased. Furthermore, plants in this treatment

demonstrated a partial closure of stomata and a considerable decrease in their number. The above changes in the stomatal system together with a slower increment of the root biomass pointing to inhibition of their growth must have been the main reasons for a disruption of the water metabolism in the wheat plants exposed to a low temperature coupled with excessive zinc content in the root area.

Key words: *Triticum aestivum* L.; zinc; low temperature; fresh and dry biomass; water content; stomatal conductance; transpiration.

Введение

Водный обмен играет чрезвычайно важную роль в жизнедеятельности растений. Даже небольшие его нарушения отрицательно сказываются на всех физиологических процессах, приводя к замедлению роста и снижению продуктивности. У культурных видов, в том числе у злаков, именно от способности поддерживать стабильность водного обмена при постоянных флуктуациях факторов внешней среды во многом зависит процесс формирования урожая.

Известно, что на территории России примерно треть посевных площадей, занятых зерновыми культурами, находятся в районах, для которых характерны кратковременные понижения температуры в течение значительной части вегетационного периода. Поскольку низкая температура является одним из факторов, оказывающих наиболее сильное влияние на водный обмен растений [Жолкевич и др., 1989; Зялалов, 2004], вероятность снижения урожая зерновых вследствие его нарушений довольно велика. Однако пока этой проблеме уделяется недостаточно внимания. Добавим, что изучение влияния низких температур на показатели водного режима обычно проводится в оптимальных или близких к ним эдафических условиях, в том числе при сбалансированном микроэлементном составе. Между тем в природных условиях содержание отдельных микроэлементов, в частности относящихся к группе тяжелых металлов, может быть гораздо выше необходимого для растений уровня, например, вследствие техногенного загрязнения окружающей среды. Доказано, что увеличение содержания в почвах агроценозов таких микроэлементов, как железо, медь, никель и цинк, оказывает отрицательное воздействие на состояние растений [Hossian et al., 2012], и в этом случае даже кратковременное понижение температуры может оказаться для них сильным дополнительным стресс-фактором, существенно снижающим продуктивность.

Исходя из вышеизложенного, целью данной работы явилось изучение влияния кратковременного снижения температуры воздуха (до

4 °С в течение 1 сут) на некоторые показатели водного обмена у растений пшеницы при оптимальном и высоком содержании цинка в корнеобитаемой среде.

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 °С, 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 оптимальной (2 мкМ) (контроль) или в избыточной (1000 мкМ) концентрации. Спустя 7 сут часть растений переносили на 1 сут в камеру с температурой 4 °С, остальные оставляли в прежних условиях. О влиянии данной температуры на некоторые показатели роста и водный обмен растений в условиях оптимального и высокого содержания цинка в корнеобитаемой среде судили по накоплению сырой и сухой биомассы корня и побега, оводненности тканей, состоянию устьичного аппарата и интенсивности транспирации.

Сухую биомассу измеряли после высушивания при 105 °С до постоянного сухого веса. Оводненность тканей вычисляли как отношение сухой и сырой биомассы, выраженное в процентах. Количество устьиц и размеры устьичной щели определяли на нижнем эпидермисе листа методом отпечатков с использованием светового микроскопа Микмед 2 (ЛОМО, Россия) и окуляр-микрометра [Жолкевич, Пильщикова, 1989]. Устьичную проводимость и интенсивность транспирации анализировали на установке для исследования CO₂-газообмена и водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия).

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 $p < 0,05$.

Влияние температуры 4 °С на некоторые показатели водного обмена растений пшеницы с. Московская 39 при оптимальной (2 мкМ) и высокой (1000 мкМ) концентрации цинка в корнеобитаемой среде

Effect of a low (4 °C) temperature on some parameters of the water metabolism in the wheat plants cv. Moskovskaya 39 when combined with optimal (2 μM) and high (1000 μM) zinc concentrations in the root area

Показатель Index	22 °C, 2 μM Zn ²⁺	4 °C, 2 μM Zn ²⁺	4 °C, 1000 μM Zn ²⁺
Сырая биомасса побега, мг Fresh shoot biomass, mg	145,11 ± 4,60	134,21 ± 5,70*	108,62 ± 6,81*
Сухая биомасса побега, мг Dry shoot biomass, mg	14,52 ± 0,51	12,52 ± 0,71	12,31 ± 0,70
Оводненность тканей листа, % Leaf water content, %	90,00 ± 0,11	90,00 ± 0,20	88,71 ± 0,12*
Сырая биомасса корня, мг Fresh root biomass, mg	45,10 ± 2,91	47,31 ± 2,20	34,12 ± 0,80*
Сухая биомасса корня, мг Dry root biomass, mg	4,60 ± 0,21	4,91 ± 0,31	3,62 ± 0,10*
Оводненность тканей корня, % Root water content, %	89,71 ± 0,61	89,10 ± 0,30	88,61 ± 0,41
Кол-во устьиц, шт./мм ² Stomata number, p/mm ²	114,72 ± 1,61	110,41 ± 4,90	86,32 ± 1,32*
Площадь устьичной щели, мкм ³ Stomatal pore area, μm ³	576,51 ± 26,60	540,91 ± 26,60*	488,10 ± 16,91*
Устьичная проводимость, ммоль/(м ² ·с) Stomatal conductance, mmol (m ² ·s) ⁻¹	156,61 ± 1,90	63,02 ± 7,51*	48,52 ± 2,90*
Скорость транспирации, ммоль/(м ² ·с) Transpiration rate, mmol (m ² ·s) ⁻¹	1,85 ± 0,03	0,46 ± 0,06*	0,28 ± 0,02*

Примечание. *Различия по отношению к контролю достоверны при p < 0,05.

Note. *Differences from the control are significant at p < 0.05.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что суточное воздействие температуры 4 °С на растения пшеницы в условиях оптимального содержания цинка в корнеобитаемой среде приводит к некоторому уменьшению сырой и сухой биомассы побега, при этом оводненность тканей листа не изменяется (табл.). Биомасса корня и содержание воды в тканях корня также сохранялись на уровне контрольных растений (табл.). В отличие от этого в условиях избытка цинка наблюдалось более сильное снижение биомассы побега, которое сопровождалось уменьшением содержания воды в листьях. Замедлялось и накопление сырой и сухой биомассы корней, свидетельствуя о задержке их роста в данных условиях. При этом оводненность тканей корня не изменялась.

Доказано, что в условиях гипотермии поддержание высокого уровня оводненности тканей обеспечивается благодаря закрыванию устьиц, что приводит к уменьшению устьичной

проводимости и замедлению транспирации, и/или за счет увеличения гидравлической проводимости корней, в результате чего усиливается поступление воды в побеги [Фархутдинов, 2005; Aghaee et al., 2011; Lukatkin et al., 2012]. В наших исследованиях в обоих вариантах опыта уменьшались размеры устьичной щели, при этом снижались устьичная проводимость и скорость транспирации (табл.). Однако при высокой концентрации цинка в корнеобитаемой среде воздействие низкой температуры на растения было выражено более явно. Кроме того, в этом варианте опыта зафиксировано и меньшее количество устьиц на единицу площади листа.

Как известно, в ответ на воздействие холода в растении происходит быстрое повышение уровня эндогенной АБК в замыкающих клетках, приводящее к закрыванию устьиц. Уменьшение же вследствие этого устьичной проводимости и замедление скорости транспирации являются важными защитно-приспособительными реакциями, позволяющими растениям избежать значительного обезвоживания в этих условиях [Bloom et al., 2004; Mahajan, Tuteja, 2005]. Такая адаптивная реакция очевидно наблюдалась и в наших опытах при действии на проростки пшеницы температуры 4 °С в условиях оптимального содержания цинка.

В присутствии же металла в высокой концентрации замедление скорости транспирации сопровождалось некоторым снижением оводненности тканей листа и уменьшением его сырой биомассы. На наш взгляд, подобный эффект был во многом связан с отрицательным воздействием цинка на устьичный аппарат, в частности, на размеры устьичной щели и количество устьиц, о чем ранее указывалось и в работах других авторов. Например, обнаружено, что при высоких концентрациях цинка закрытие устьиц может быть вызвано не только увеличением уровня АБК, но и нарушением регуляции K⁺-каналов в результате утечки ионов калия из клеток [Demidchik et al., 2014], уменьшение же числа устьиц является следствием разрушения замыкающих клеток [Subba et al., 2014].

Нельзя также не учитывать и отрицательное влияние избытка цинка на корневую систему. В частности, под его влиянием у растений уменьшаются размеры корня и биомасса корневой системы, что было обнаружено и в нашем опыте, изменяется эластичность клеточных стенок проводящих сосудов, снижается гидравлическая проводимость корней, уменьшается число и размеры сосудов ксилемы, что приводит к нарушениям поглощения воды растением и ее транспорта в надземные органы [Bonnet et al., 2000; Vaillant et al., 2005; Sagardoy et al., 2010].

Заключение

Проведенные исследования показали, что при воздействии температуры 4 °С в течение 1 сут в условиях оптимального содержания цинка (2 мкМ) в корнеобитаемой среде у растений пшеницы происходит быстрое закрытие устьиц, что приводит к снижению устьичной проводимости и резкому замедлению скорости транспирации, обеспечивая тем самым поддержание высокого уровня оводненности тканей листа и накопление надземной биомассы. При избыточном содержании цинка (1000 мкМ) в корнеобитаемой среде понижение температуры приводит к нарушению водного обмена растений, что, в частности, проявляется в некотором снижении оводненности тканей листа и уменьшении сырой биомассы побега, несмотря на уменьшение устьичной проводимости и скорости транспирации. Очевидно, в этом случае негативный эффект низкой температуры накладывался на отрицательное воздействие высокой концентрации цинка на устьичный аппарат и рост корней, тем самым усиливая его.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБ КарНЦ РАН (тема № 0221-2017-0051).

Литература

Жолкевич В. Н., Пильщикова Н. В. Методы изучения транспирации и состояния устьиц // Водный обмен растений / Ред. И. А. Тарчевский, В. Н. Жолкевич. М.: Наука, 1989. С. 152–167.

Жолкевич В. Н., Гусев Н. А., Капля А. В., Пахомова Г. И., Пильщикова Н. В., Самуилов Ф. Д., Славный П. С., Шматько И. Г. Водный обмен растений / Ред. И. А. Тарчевский, В. Н. Жолкевич. М.: Наука, 1989. 256 с.

Зялалов А. А. Водный ток в высших растениях: физиология, эволюционное становление, системный анализ // Физиология растений. 2004. Т. 51, № 4. С. 607–616.

Фархутдинов Р. Г. Температурный фактор в гормональной регуляции водного обмена растений: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Уфа, 2005. 46 с.

Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Pour Irandoost H., Sharifi P. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage // Afr. J. Biotechnol. 2011. Vol. 10. P. 7617–7621.

Bloom A. J., Zwieniecki M. A., Passioura J. B., Randall L. B., Holbrook N. M., St. Crair D. A. Water relations under root chilling in a sensitive and tolerant tomato species // Plant Cell Environ. 2004. Vol. 27, no. 8. P. 971–979.

Bonnet M., Camares O., Veisseire P. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv Apollo) // J. Exp. Bot. 2000. Vol. 51, no. 346. P. 945–953.

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 // J. Exp. Bot. 2014. Vol. 65, no. 5. P. 1259–1270.

Hossian M. A., Piyatida P., da Silva J. A. T., Fujita M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: Central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation // J. Bot. 2012. Article ID 872875, 37 p. doi: 10.1155/2012/872875

Lukatkin A. S., Brazaityte A., Bobinas Č., Duchovskis P. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review // Žemdirbyste=Agriculture. 2012. Vol. 99, no. 2. P. 111–124.

Mahajan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: an overview // Archives of Biochemistry and Biophysics. 2005. Vol. 444. P. 139–158.

Sagardoy R., Vázquez S., Florez-Sarasa I. D., Albacete A., Ribas Carbó M., Flexas J., Abadía J., Morales F. Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc // New Phytol. 2010. Vol. 187. P. 145–158.

Subba P., Mukhopadhyay M., Mahato S. K., Bhutia K. D., Mondal T. K., Ghosh S. K. Zinc stress induces physiological, ultra-structural and biochemical changes in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) seedlings // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2014. Vol. 20, no. 4. P. 461–473.

Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon H., Cou-dret A. Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress // *Chemosphere*. 2005. Vol. 59. P. 1005–1013.

Поступила в редакцию 22.09.2017

References

Farkhutdinov R. G. Temperaturnyi faktor v gormonal'noi regulatsii vodnogo obmena rastenii [The temperature factor in hormonal regulation of water exchange in plants]: Summary of PhD (Dr. of Biol.) thesis. Ufa, 2005. 46 p.

Zholkevich V. N., Pil'shchikova 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.

Zholkevich V. N., Gusev N. A., Kaplya A. V., Pakhomova G. I., Pil'shchikova N. V., Samuilov F. D., Slavnyi P. S., Shmat'ko I. G. *Vodnyi obmen rastenii* [Water exchange in plants]. Moscow: Nauka, 1989. 256 p.

Zyalalov A. A. *Vodnyi tok v vysshikh rasteniyakh: fiziologiya, evolyutsionnoe stanovlenie, sistemnyi analiz* [Water flow in higher plants: physiology, evolution, and system analysis]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2004. Vol. 51, no. 4. C. 607–616.

Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Pour Irandoost H. P., Sharifi P. Physiological responds of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. *Afr. J. Biotechnol.* 2011. Vol. 10. P. 7617–7621.

Bloom A. J., Zwieniecki M. A., Passioura J. B., Randall L. B., Holbrook N. M., Clair D. A. Water relations under root chilling in a sensitive and tolerant tomato species. *Plant Cell Environ.* 2004. Vol. 27, no. 8. P. 971–979.

Bonnet M., Camares O., Veisseire P. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv Apollo). *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51, no. 346. P. 945–953.

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. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65, no. 5. P. 1259–1270.

Hossian M. A., Piyatida P., da Silva J. A. T., Fujita M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: Central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *J. Bot.* 2012. Article ID 872875, 37 p. doi: 10.1155/2012/872875

Lukatkin A. S., Brazaityte A., Bobinas Č., Duchovskis P. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. *Žemdirbyste = Agriculture*. 2012. Vol. 99, no. 2. P. 111–124.

Mahajan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2005. Vol. 444. P. 139–158.

Sagardoy R., Vázquez S., Florez-Sarasa I. D., Albacete A., Ribas-Carbó M., Flexas J., Abadía J., Morales F. Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytol.* 2010. Vol. 187. P. 145–158.

Subba P., Mukhopadhyay M., Mahato S. K., Bhutia K. D., Mondal T. K., Ghosh S. K. Zinc stress induces physiological, ultra-structural and biochemical changes in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) seedlings. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2014. Vol. 20, no. 4. P. 461–473.

Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon H., Cou-dret A. Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere*. 2005. Vol. 59. P. 1005–1013.

Received September 22, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Казнина Наталья Мстиславовна
ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: kaznina@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

Батова Юлия Валерьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: batova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706

Лайдинен Галина Федоровна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: laidinen@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706

Титов Александр Федорович

руководитель лаб. экологической
физиологии растений, чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

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

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

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

УДК 612.115:591.11:546.26

ТРОМБОГЕННОСТЬ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ШУНГИТА *IN VITRO*

А. Г. Борисова

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

При проникновении наночастиц в живой организм велика вероятность их появления в кровотоке, в связи с чем возникает вопрос о гемосовместимости различных наноматериалов. Изучено влияние углеродных наночастиц (шунгитового наноуглерода и наноалмазов) на систему свертывания крови человека и норки *in vitro*. Время свертывания плазмы в результате реакции рекальцификации использовалось в качестве исследуемого параметра для оценки состояния внутренних путей активации системы свертывания. Показано, что влияние шунгитового углерода в концентрации от 3 до 6 мкг/мл на активность свертывающей системы человека проявлялось в существенном снижении времени рекальцификации. В случае добавления углеродных наночастиц к плазме норки значительное уменьшение времени рекальцификации наблюдалось начиная с концентрации 6 мкг/мл. В присутствии 9 мкг/мл наноалмазов сгусток образовывался заметно быстрее, чем в контроле. Мы предполагаем, что гиперкоагуляция в присутствии шунгитового углерода и наноалмазов может быть связана с более быстрой полимеризацией фибрина. Возможно, это следствие взаимодействия фибрина с наночастицами шунгитового углерода и наноалмазами, которые могут таким образом индуцировать активацию тромбоцитов и/или их агрегацию. Обсуждается молекулярный механизм выявленной тромбогенности углеродных наночастиц.

Ключевые слова: наноматериалы; шунгитовый углерод; наноалмазы; свертываемость крови; белки.

A. G. Borisova. THROMBOGENICITY OF SHUNGITE CARBON NANOPARTICLES *IN VITRO*

When nanoparticles enter a living organism, it is very likely they will appear in the bloodstream, which raises the question of the hemocompatibility of various nanomaterials. The effect of carbon nanoparticles (shungite nanocarbon and nanodiamonds) on the human and mink blood coagulation system *in vitro* was studied. The time of plasma clotting triggered by recalcification was used as a test parameter for assessing the state of the internal coagulation system activation pathways. The effect of shungite nanocarbon at 3 to 6 µg/ml concentrations on the activity of the human coagulation system manifest itself in a significant decrease in the recalcification time. When carbon nanoparticles were added to the mink plasma, a significant decrease in the recalcification time was observed starting at a concentration of 6 µg/ml. The presence of nanodiamonds in the 9 µg/ml concentration significantly accelerated the formation of a human plasma clot. We suppose that hypercoagulation in the presence of shungite carbon and nanodiamonds can be associated with a faster fibrin polymerization. This may be a result of fibrin interaction with shungite carbon nanoparticles and nanodiamonds, which can thus induce platelet activation

and/or aggregation. The molecular mechanism behind the revealed thrombogenicity of carbon nanoparticles is discussed.

Key words: nanomaterials; shungite carbon; nanodiamonds; blood clotting ability; proteins.

Введение

Быстрое развитие нанотехнологий постоянно повышает вероятность контакта живых организмов с вновь разработанными наноматериалами, которые проявляют при этом разного рода биологическую активность. Хотя современные представления о токсичности углеродных наночастиц (УНЧ) совершенно недостаточны для оценки биомедицинских и экологических рисков, имеющиеся результаты указывают на возможное повреждающее воздействие при проникновении наночастиц в организм, отдельные органы и системы, ткани, клетки. В случае попадания в кровоток наночастицы (НЧ) могут контактировать как с белками крови, так и с форменными элементами, влияя тем самым на систему гемостаза. Показано, что отрицательно заряженные латексные частицы и квантовые точки CdSe/ZnS активируют внешний путь свертывания крови, приводящий к образованию фибрина [Miyamoto et al., 1990; Geys et al., 2008]. Латексные и полистирольные наночастицы с положительным зарядом поверхности также обладают тромбогенностью, однако, предположительно, за счет активации тромбоцитов, т. е. путем активации внутреннего пути свертывания крови [Miyamoto et al., 1990]. Установлено также, что частицы полистирола с отрицательным зарядом и гидродинамическим диаметром более 60 нм вызывают более слабую активацию тромбоцитов, чем такие же частицы меньшего размера [Mayer et al., 2009]. Уменьшение поверхностного заряда наночастиц покрытием их полиэтиленгликолем уменьшало агрегацию и активацию тромбоцитов [Kozłara et al., 2005]. Сопоставление действия влияния фуллерена C₆₀CS (водорастворимого производного фуллерена), одностенных (SWCT) и многостенных (MWNT) углеродных нанотрубок на систему свертывания крови указывает на то, что нанотрубки стимулировали агрегацию тромбоцитов (SWNT > MWNT), в то время как для наносфер (фуллерен) такие эффекты не были отмечены [Radomski et al., 2005], что, скорее всего, связано с формой УНЧ.

Среди природных углеродных наноматериалов большой интерес вызывает углерод шунгитовых пород и его нанодисперсии. С теоре-

тической точки зрения это обусловлено тем, что в последние годы появилось большое количество свидетельств его принадлежности к графеновому семейству [Шека, Рожкова, 2016]. С практической точки зрения интерес определяется тем, что шунгит активно используется в различных косметических (мази, кремы, гели и др.), курортологических целях, в качестве биодобавок, в фильтрах для очистки воды. Такое применение пока не имеет достаточного научного обоснования, хотя требует глубокого понимания взаимодействий наноструктур с биомолекулами и клетками в физиологической среде. При этом молекулярные механизмы биологической активности шунгитового наноглерода не охарактеризованы сколько-нибудь полно, особенно если иметь в виду данные последних лет о структурной организации нано- и субмикронных частиц шунгитового углерода и свойствах их водных нанодисперсий [Rozhkova et al., 2016]. В связи с этим важное значение имеет изучение закономерностей при взаимодействии природных шунгитовых углеродных наноструктур с биологическими системами на молекулярном уровне – уровне белковых молекул и клеточных мембран.

Ранее мы исследовали влияние наночастиц ШУ на эритроциты человека и ряда позвоночных *in vitro* различными методами. Было показано, что введение нанодисперсии ШУ в суспензию клеток в случае эритроцитов как человека, так и норки приводило к образованию агрегатов из дискоцитов [Горюнов и др., 2009; Rozhkov, Goryunov, 2013].

Целью настоящей работы было выявление *in vitro* тромбогенности углеродных наноструктур шунгита – т. е. их влияния на систему свертывания крови (по показателям времени рекальцификации плазмы) в сравнении с другими формами наноглерода (фуллеренами, нанодиамазами) человека и норки.

Материалы и методы

Объектами исследования были: тромбоцитарная плазма крови человека и американской норки (*Mustela neovison*, ЗАО «Пряжинское», Карелия), приготовленная по стандартной методике; стабильные водные дисперсии наночастиц шунгитового углерода (ШУ), пригото-

Время рекальцификации плазмы крови в зависимости от концентрации наноклерода, с

Time of blood plasma recalcification depending on nanocarbon concentration, s

Объект Object	Контроль Control	3 мкг/мл ШУ 3 µg/ml SC	6 мкг/мл ШУ 6 µg/ml SC	9 мкг/мл НА 9 µg/ml ND
плазма норки mink plasma	137,5 ± 76,7	132,5 ± 54,5	58,5 ± 2,2	не исследовали no research
плазма человека human plasma	107,5 ± 2,5	95,0 ± 5,0	92,5 ± 12,5	68 ± 8,5

ленные из шунгитового горнорудного сырья Шуньга I согласно методике Н. Н. Рожковой [2011] и охарактеризованные с помощью спектрофотометрии UV-Vis, рамановского рассеяния и динамического рассеяния света с исходной концентрацией углерода 0,1 мг/мл. ШУ предлагается рассматривать как представляющий собой многоуровневую структуру, образованную графеноподобными фрагментами размером < 1 нм в качестве основных структурных элементов, агрегированных в стопки 1,5–2,5 нм, которые в свою очередь формируют глобулы ~ 6 нм. Ассоциаты глобул размером 20–100 нм завершают структуру УНЧ [Rozhkova et al., 2016]. Дисперсия детонационных ультрадисперсных алмазов (наноалмазов (НА)) содержит гидратированные частицы размером 4–9 нм, которые также могут образовывать кластеры размером до 30 нм. Методом ДРС (динамического рассеяния света) с использованием анализатора Malvern Zetasizer измеряли дзета-потенциал нанодисперсий углерода. Он составил около –30 мВ для ШУ и –37 мВ для НА, что свидетельствует о коллоидной устойчивости изученных дисперсий.

Одним из интегральных методов исследования системы свертывания для оценки состояния тромбоцитарного и плазменного звена гемостаза является реакция рекальцификации, которая заключается в определении времени свертывания тромбоцитарной плазмы после добавления к ней раствора CaCl₂ оптимальной концентрации. В пробирку, установленную на водяной бане с температурой 37 °С, внесли 0,2 мл 0,277 % раствора CaCl₂ и 0,1 мл 0,85 % NaCl. Через 1 минуту добавляли 0,1 мл плазмы крови и определяли время образования сгустка [Лабораторные методы..., 1987]. В опытные образцы добавляли дисперсии ШУ (0,015 мл и 0,025 мл с исходной концентрацией 0,1 мг/мл) и немодифицированных НА (0,04 мл с исходной концентрацией 0,1 мг/мл).

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

В таблице представлены данные по времени рекальцификации плазмы, которое обратно пропорционально скорости образования сгустка из фибрина при добавлении в плазму крови Ca²⁺. Данный показатель отражает общую активность свертывающей системы и играет важную роль в поддержании нормального гомеостаза.

В присутствии 9 мкг/мл НА сгусток образовывался заметно быстрее, чем в контроле. Это согласуется с данными о том, что карбоксилированные наноалмазы в концентрации 1–5 мкг/мл вызывали активацию тромбоцитов крови, в которой были задействованы различные механизмы вплоть до изменения морфологии кровяных пластинок [Kumari et al., 2014].

Однозначного влияния наночастиц ШУ в концентрации 3 мкг/мл на активность свертывающей системы норки не выявлено (рис. 1, справа). Однако уже при концентрации 6 мкг/мл наблюдалось существенно более быстрое образование сгустка (рис. 1, посередине), который был гораздо плотнее и темнее, чем в контроле (рис. 1, слева).

В случае добавления углеродных наночастиц к плазме крови человека их влияние оказалось слабее – при обеих использованных концентрациях наблюдалось незначительное уменьшение времени рекальцификации, при этом форма сгустка оставалась такой же, как в контроле (рис. 2).

В свертывании крови участвуют тромбоциты и факторы свертывания крови, которые в норме находятся в неактивном состоянии. Для активации каскада процессов свертывания крови необходимы ионы кальция – добавление в образец крови с цитратной плазмой хлорида кальция CaCl₂ вызывает активацию внутренней системы свертывания с участием факторов XII, XI, IX и VIII, что активирует фактор X, а затем происходит превращение неактивного протромбина (белка плазмы крови) в фактор свертывания крови (активный тромбин), который, в свою очередь, вызывает превращение фибриногена в фибрин. Полимеризация фиб-



Рис. 1. Вид фибриновых сгустков из плазмы крови норки в эксперименте с дисперсией шунгитового углерода:

слева направо – контроль, 6 мкг/мл ШУ, 3 мкг/мл ШУ

Fig. 1. Fibrin clots of mink blood plasma in the experiment with shungite carbon dispersion:

from left to right – control, 6 µg/ml SC, 3 µg/ml SC

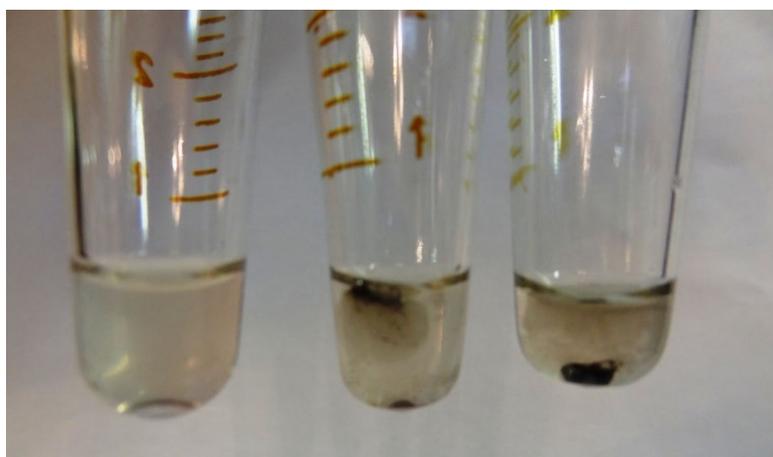


Рис. 2. Вид фибриновых сгустков из плазмы крови человека:

слева направо – контроль, 3 мкг/мл ШУ, 6 мкг/мл ШУ

Fig. 2. Fibrin clots of human blood plasma:

from left to right – control, 3 µg/ml SC, 6 µg/ml SC

рина завершает каскад реакций свертывания крови. Таким образом, скорость тромбообразования регулируется как реакциями, управляющими наработкой тромбина, так и реакциями, относящимися к непосредственной полимеризации фибрина. Поскольку время рекальцификации плазмы отражает как тромбоцитарное, так и плазменное звено гемостаза, его уменьшение может свидетельствовать об активации тромбоцитов наночастицами углерода. Нельзя исключать влияние наночастиц и на конечный этап свертывания крови – превращение фибриногена в фибрин.

Мы предполагаем, что гиперкоагуляция в присутствии шунгитового углерода может

быть связана с более быстрой полимеризацией фибрина, что является следствием его взаимодействия с углеродными наночастицами. Это взаимодействие явно прослеживается при более высокой концентрации ШУ (рис. 1, посередине), поскольку образовавшийся сгусток имеет черный цвет, в то время как при меньшей концентрации наночастиц сорбируется на поверхности фибринового сгустка (рис. 1, справа). Известно, что при внесении наночастиц в сыворотку крови *in vitro* фибриноген активно участвует в формировании белковой короны наночастиц. Так, показано, что для фибриногена при его взаимодействии с наночастицами TiO₂ и CeO₂ константа скорости свя-

звания была на два порядка больше, чем для сывороточного альбумина [Canoa et al., 2015], т. е. наночастицы в плазме крови связывались преимущественно с фибриногеном.

Можно предположить, что наночастицы шунгитового углерода способны индуцировать активацию тромбоцитов и/или их агрегацию так же, как это установлено для одностенных углеродных нанотрубок в концентрации 1–100 мкг/мл [Bihari et al., 2010]. Показано также, что оксид графена, имеющий отрицательно заряженную поверхность, активирует кровяные пластинки за счет переноса заряда на поверхность тромбоцита, вызывая изменения в мембранных белках, в то время как положительно заряженные частицы аминографена не проявляют тромботоксических свойств [Singh et al., 2012].

Таким образом, эксперименты показали, что даже при очень низких концентрациях углеродные наночастицы в среде активируют систему свертывания крови *in vitro*. Механизм действия включает активацию как начального, так и конечного пути свертывания крови. И наночастицы ШУ, и наноалмазы представляют собой кластеры наноглобул, т. е. форма и тех, и других НЧ – глобулярная, размер частиц также одного порядка – 30–100 нм. Отличия в величине эффекта, вероятно, обусловлены разницей исследованных нами наночастиц по величине поверхностного заряда, поскольку как наночастицы ШУ, так и наноалмазы в воде имеют отрицательно заряженную поверхность.

Заключение

Несмотря на привлекательность наноматериалов для биомедицинских приложений, необходимо критически оценивать их возможную токсичность, в т. ч. и тромбогенность.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0039).

Литература

Горюнов А. С., Борисова А. Г., Рожков С. П., Суханова Г. А., Рожкова Н. Н. Морфология и агрегация эритроцитов в нанодисперсиях углерода // Труды КарНЦ РАН. 2009. № 3. С. 30–37.

References

Goryunov A. S., Borisova A. G., Rozhkov S. P., Sukhanova G. A., Rozhkova N. N. Morfologiya i agre-

Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В. В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.

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

Шека Е. Ф., Рожкова Н. Н. Шунгит – природный источник наноразмерного восстановленного оксида графена // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 2. С. 89–104. doi: 10.17076/geo264

Bihari P., Holzer M., Praetner M. et al. Single-walled carbon nanotubes activate platelets and accelerate thrombus formation in the microcirculation // *Toxicology*. 2010. Vol. 269, no. 2–3. P. 148–154. doi: 10.1016/j.tox.2009.08.011

Canoa P., Simon-Vazquez R., Popplewell J. et al. A quantitative binding study of fibrinogen and human serum albumin to metal oxide nanoparticles by surface plasmon resonance // *Biosens Bioelectron*. 2015. Vol. 74. P. 376–383. doi: 10.1007/s00204-016-1797-5

Geys J., Nemmar A., Verbeken E. et al. Acute toxicity and prothrombotic effects of quantum dots: impact of surface charge // *Environ. Health Perspect*. 2008. Vol. 116, no. 12. P. 1607–1613. doi: 10.1289/ehp.11566

Koziara J. M., Oh J. J., Akers W. S. et al. Blood compatibility of cetyl alcohol/polysorbate-based nanoparticles // *Pharm. Res*. 2005. Vol. 22, no. 11. P. 1821–1828.

Kumari S., Singh M. K., Singh S. K. et al. Nanodiamonds activate blood platelets and induce thromboembolism // *Nanomedicine*. 2014. Vol. 9, no. 3. P. 427–440. doi: 10.2217/nmm.13.23

Mayer A., Vadon M., Rinner B. et al. The role of nanoparticle size in hemocompatibility // *Toxicology*. 2009. Vol. 258, no. 2–3. P. 139–147. doi: 10.1016/j.tox.2009.01.015

Miyamoto M., Sasakawa S., Ozawa T. et al. Mechanisms of blood coagulation induced by latex particles and the roles of blood cells // *Biomaterials*. 1990. Vol. 11, no. 6. P. 385–388.

Radomski A., Jurasz P., Alonso-Escolano D. et al. Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis // *Br. J. Pharmacol*. 2005. Vol. 146, no. 6. P. 882–893.

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Interaction of shungite carbon nanoparticles with blood protein and cell components // *Russian Journal of General Chemistry*. 2013. Vol. 83, no. 13. P. 2585–2595.

Rozhkova N. N., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Carbon nanomaterials sourcebook: graphene, fullerenes, nanotubes, and nanodiamonds Roca Raton London New York, 2016. P. 151–174.

Singh S. K., Singh M. K., Kulkarni P. P. et al. Amine-modified graphene: thrombo-protective safer alternative to graphene oxide for biomedical applications // *ACS Nano*. 2012. Vol. 6, no. 3. P. 2731–2740. doi: 10.1021/nl300172t

Поступила в редакцию 02.11.2017

gatsiya eritrotsitov v nanodispersiyakh ugleroda [Morphology and aggregation of erythrocytes in carbon

nanodispersions]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2009. No. 3. P. 30–37.

Laboratornye metody issledovaniya v klinike [Laboratory methods of research in clinic]. Moscow: Meditsina, 1987. 368 p.

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

Sheka E. F., Rozhkova N. N. Shungit – prirodnyi istochnik nanorazmernogo vosstanovlennogo oksida grafena [Shungite as a natural source of reduced nanosized graphene oxide]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2016. No. 2. P. 89–104. doi: 10.17076/geo264

Bihari P., Holzer M., Praetner M. et al. Single-walled carbon nanotubes activate platelets and accelerate thrombus formation in the microcirculation. *Toxicology*. 2010. Vol. 269, no. 2–3. P. 148–154. doi: 10.1016/j.tox.2009.08.011

Canoa P., Simon-Vazquez R., Popplewell J. et al. A quantitative binding study of fibrinogen and human serum albumin to metal oxide nanoparticles by surface plasmon resonance. *Biosens Bioelectron*. 2015. Vol. 74. P. 376–83. doi: 10.1007/s00204-016-1797-5

Geys J., Nemmar A., Verbeken E. et al. Acute toxicity and prothrombotic effects of quantum dots: impact of surface charge. *Environ. Health Perspect*. 2008. Vol. 116, no. 12. P. 1607–1613. doi: 10.1289/ehp.11566

Koziara J. M., Oh J. J., Akers W. S. et al. Blood compatibility of cetyl alcohol/polysorbate-based nanoparticles. *Pharm. Res*. 2005. Vol. 22, no. 11. P. 1821–1828.

Kumari S., Singh M. K., Singh S. K. et al. Nanodiamonds activate blood platelets and induce thromboembolism. *Nanomedicine*. 2014. Vol. 9, no. 3. P. 427–440. doi: 10.2217/nnm.13.23

Mayer A., Vadon M., Rinner B. et al. The role of nanoparticle size in hemocompatibility. *Toxicology*. 2009. Vol. 258, no. 2–3. P. 139–147. doi: 10.1016/j.tox.2009.01.015

Miyamoto M., Sasakawa S., Ozawa T. et al. Mechanisms of blood coagulation induced by latex particles and the roles of blood cells. *Biomaterials*. 1990. Vol. 11, no. 6. P. 385–388.

Radomski A., Jurasz P., Alonso-Escolano D. et al. Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis. *Br. J. Pharmacol*. 2005. Vol. 146, no. 6. P. 882–893.

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Interaction of shungite carbon nanoparticles with blood protein and cell components. *Russian Journal of General Chemistry*. 2013. Vol. 83, no. 13. P. 2585–2595.

Rozhkova N. N., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Carbon nanomaterials sourcebook: graphene, fullerenes, nanotubes, and nanodiamonds Roca Raton London New York, 2016. P. 151–174.

Singh S. K., Singh M. K., Kulkarni P. P. et al. Amine-modified graphene: thrombo-protective safer alternative to graphene oxide for biomedical applications. *ACS Nano*. 2012. Vol. 6, no. 3. P. 2731–2740. doi: 10.1021/nn300172t

Received November 02, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Борисова Александра Григорьевна
старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: borisova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 765264

CONTRIBUTOR:

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

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЕЖЕСУТОЧНЫХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ ЛИСТЬЕВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Е. Г. Шерудило, Т. Г. Шibaева

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Изучали влияние возраста листа на способность повышать холодоустойчивость листьев огурца (*Cucumis sativus* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) под влиянием ежесуточных кратковременных понижений температуры (ДРОП-воздействий, от англ. *drop* – «падение»). С этой целью растения в течение 6 суток подвергали кратковременным (2 ч в конце ночного периода) понижениям температуры до 12 °С (огурец) или 4 °С (пшеница) в фазе активно растущего первого (пшеница) или второго (огурец) настоящего листа (ДРОП1) или в фазе заканчивающего рост, то есть зрелого соответственно первого или второго листа (ДРОП2). Растения варианта ДРОП3 подвергали ДРОП-воздействиям на протяжении всего периода (12 суток) роста первого или второго листа соответственно. Холодоустойчивость листьев оценивали по устойчивости клеток листа к краткосрочному промораживанию. О проницаемости мембран судили по относительному выходу электролитов из ткани листьев. Установлено, что реакция растений на ДРОП-воздействия зависит от возраста листа. Молодые и зрелые листья огурца и пшеницы реагировали на ДРОП-воздействия ростом холодоустойчивости листьев. При этом у зрелых листьев холодоустойчивость достигала больших значений, чем у молодых. Относительный выход электролитов у зрелых листьев был также меньше по сравнению с молодыми листьями, что свидетельствует о большем повышении стабильности мембран зрелых листьев под влиянием ДРОП-воздействий. Предполагается, что причиной влияния возраста листа на повышение холодоустойчивости листьев под влиянием ДРОП-воздействий являются структурные (анатомо-морфологические) и метаболические особенности листьев разного возраста.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; *Triticum aestivum* L.; возраст листа; кратковременные понижения температуры; холодоустойчивость.

E. G. Sherudilo, T. G. Shibaeva. EFFECT OF A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP ON THE COLD TOLERANCE OF LEAVES OF DIFFERENT AGE

The enhancement of chilling tolerance in leaves of different age in cucumber (*Cucumis sativus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) plants treated by a daily short-term temperature drop was studied. Plants were subjected to short-term (2 h at the end of the night) temperature drops to 12 °C (cucumber) or 4 °C (wheat) for 6 days in the phase of the actively growing first (wheat) or true second (cucumber) leaf (DROP1) or growth-completing, i. e. mature first or second leaf, respectively (DROP2). DROP3 plants were treated by DROP throughout the first or second leaf growth period (12 days). The leaf cold tolerance was assessed by the resistance of leaf cells to short-term freezing. Cell membrane per-

meability was estimated by relative electrolyte leakage. Both young and mature leaves responded to DROP treatments by enhanced leaf cold tolerance, but in mature leaves that have completed their growth, cold tolerance was higher than in young, actively growing leaves. Relative electrolyte leakage from tissues of mature leaves was lower than from young leaves, which testifies to higher membrane stability of mature DROP-treated leaves. It is hypothesized that the differences detected in the tolerance of DROP-treated leaves of different age are associated with their structural (anatomical-morphological) and metabolic features.

Key words: *Cucumis sativus* L.; *Triticum aestivum* L.; leaf age; short-term temperature drop; cold tolerance.

Введение

Холодостойкость и способность растений к холодной адаптации являются видоспецифическими признаками, проявление которых зависит как от внешних (свет, влажность и др.), так и от внутренних факторов. К последним, в частности, относится возраст растения и его органов. Например, известно, что степень сформированности (зрелости) листа заметно влияет на его способность реагировать на внешние воздействия и адаптироваться к внешним условиям, включая температуру [Armstrong et al., 2006; Atkin et al., 2006; Gorsuch et al., 2010; Zhang et al., 2014]. Показано, что в листьях, формирование которых проходило в условиях действия низких температур, адаптационные изменения проявляются в большей степени, чем в листьях, испытавших воздействие холодом в зрелом состоянии. Предположительно, более низкая способность к температурной адаптации у листьев, закончивших рост, может быть связана с более ограниченными, чем у активно растущих листьев, возможностями структурной перестройки [Ow et al., 2008]. Однако в литературе наряду с данными, которые говорят о большей устойчивости молодых листьев [Schwemmler, Lange, 1959; Фельдман, Каменцева, 1963], имеются и другие, свидетельствующие о более высокой устойчивости листьев, завершивших рост [Трофимова, 1995; Kuk, Shin, 2007; Lim et al., 2014].

Необходимо отметить, что большая часть литературных данных, касающихся тех или иных аспектов холодоустойчивости, получена при изучении постоянного (и чаще всего многосуточного) действия низкой температуры на растения. Однако в природных условиях зачастую ее воздействие на растения бывает непродолжительным (от одного до нескольких часов), но периодически повторяющимся (например, ежесуточно). Важно, что при кратковременных ежесуточных воздействиях низкой температуры (ДРОП-воздействиях, от англ. *drop* – «падение») периоды, когда охлаждение

запускает в клетках и тканях надземных органов программу адаптационных изменений (сопряженную с торможением роста и развития), чередуются в суточном цикле с гораздо более продолжительными периодами действия оптимальной температуры, при которой возобновляется рост и развитие [Шибарева и др., 2018]. Ранее нами установлено, что листья, подверженные ДРОП-воздействиям в фазе активного роста, способны к большим по сравнению с более зрелыми листьями структурно-функциональным преобразованиям (содержание и соотношение фотосинтетических пигментов, эффективность использования воды, активность антиоксидантных ферментов), что обеспечивает их более высокую фотосинтетическую активность в условиях действия низких температур [Икконен и др., 2015; Шибарева и др., 2015; Ikkonen et al., 2015]. Также нами установлено, что ДРОП-воздействия эффективны в отношении повышения холодоустойчивости листьев [Марковская и др., 2013]. Однако холодоустойчивость листьев разного возраста у растений, подвергшихся ДРОП-воздействиям, не изучалась. Поэтому в данной работе ставилась цель изучить влияние возраста листа на способность повышать холодоустойчивость листьев при ДРОП-воздействиях у представителей группы теплолюбивых (огурец) и холодостойких (пшеница) растений.

Материалы и методы

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Зозуля F1) и пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Московская 39) выращивали в камере искусственного климата (Vötsch, Германия) на песчаном субстрате (огурец) или в рулонах фильтровальной бумаги (пшеница) при поливе полным питательным раствором (pH 6,2–6,4), температуре воздуха 23 °C, фотосинтетически активной радиации (ФАР) 150 мкмоль/(м²·с), фотопериоде 12 ч, влажности воздуха 60–70 %.

Растения огурца в фазе второго листа и растения пшеницы в фазе первого листа подвер-

гали ежесуточно 2-часовым ДРОП-воздействиям в конце ночного периода при температуре 12 °С (огурец) или 4 °С (пшеница).

В опыте проанализированы следующие варианты:

ДРОП1 – ДРОП-воздействия в течение 6 сут на молодые листья в фазу их активного роста. Для растений огурца это были 12–17-е сут с момента замачивания семян, развернувшийся второй лист достигал в этот момент 60–70 % от окончательной площади; для растений пшеницы – 3–8-е сут с момента проклевывания семян и площадь первого листа 60 % от максимальной. По окончании ДРОП-воздействий растения возвращали в оптимальные условия до завершения роста листьев (24 сут – огурец, 15 сут – пшеница);

ДРОП2 – ДРОП-воздействия в течение 6 сут на зрелые, заканчивающие рост листья огурца (в период 18–23-е сут) и пшеницы (9–14-е сут);

ДРОП3 – ДРОП-воздействия в течение 12 сут на протяжении всего периода роста листьев (12–23-е сут – огурец и 3–14-е сут – пшеница).

Контролем служили растения, не подвергавшиеся низкотемпературным воздействиям.

Холодоустойчивость клеток листа оценивали по температуре (LT_{50}), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток листовых высевок после их промораживания в течение 5 мин в термоэлектрическом термостате ТЖР-02/–20 («Интерм», Россия) при последовательном изменении тестирующих температур с шагом 0,4 °С [Дроздов и др., 1976]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) по коагуляции цитоплазмы и деструкции хлоропластов.

Относительный выход электролитов (ОВЭ) из тканей листа определяли кондуктометрическим способом [Гришенкова, Лукаткин, 2005] с использованием кондуктометра HANNA (Hanna Instruments, Италия).

Повторность в пределах одного варианта опыта при анализе холодоустойчивости – 6-кратная, при определении выхода электролитов – 5-кратная. Каждый опыт повторяли не менее двух (огурец) или трех (пшеница) раз. Данные обработаны статистически с использованием пакета программ Statgraphics for Windows 7.0. В статье обсуждаются величины, достоверно различающиеся при $p < 0,05$.

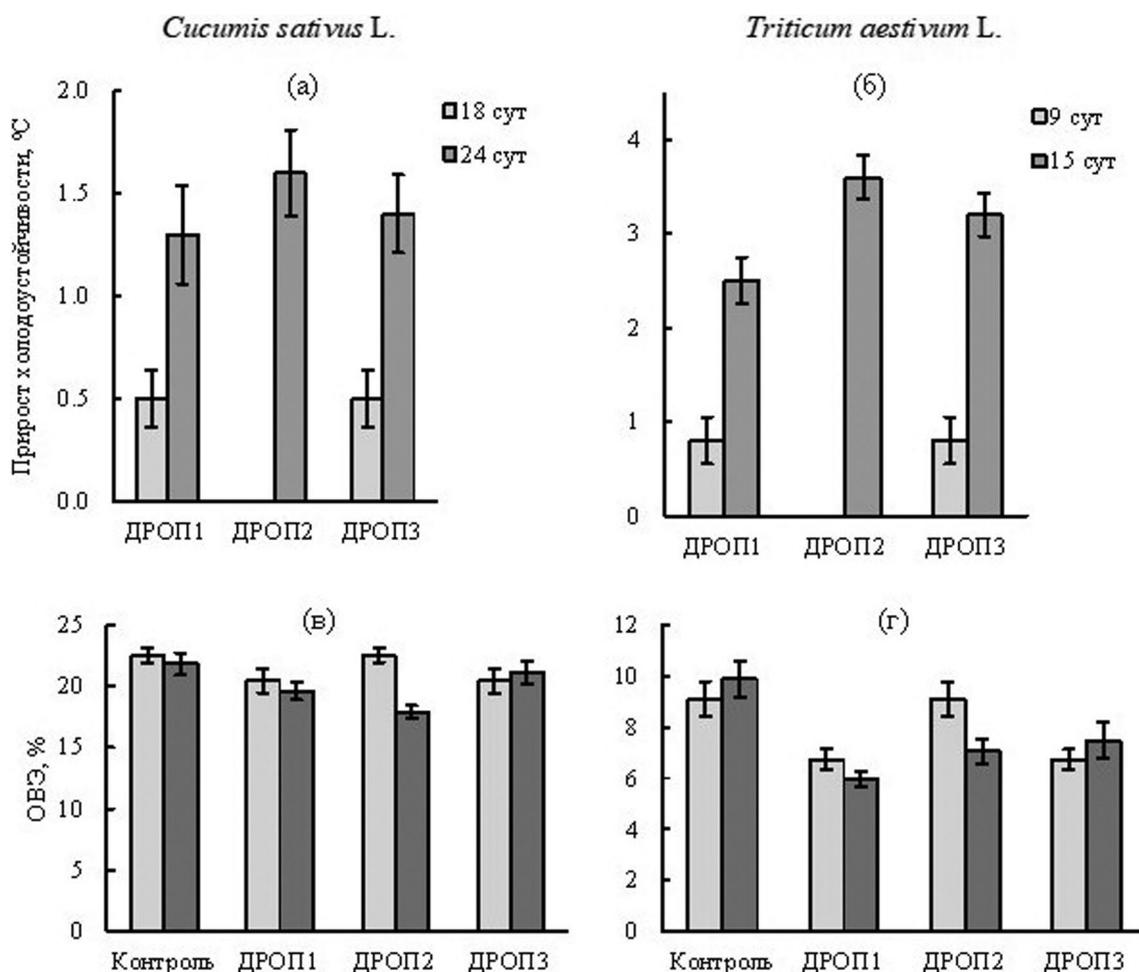
Результаты и обсуждение

Оценка холодоустойчивости клеток листьев по температуре гибели 50 % клеток (LT_{50}) при краткосрочном промораживания листовых

высечек показала, что зрелые листья как огурца, так и пшеницы (вариант ДРОП2) реагируют на ДРОП-воздействия существенным повышением устойчивости – на 1,6 и 3,6 °С соответственно (рис., а, б). Реакция молодых, активно растущих листьев (вариант ДРОП1) на ДРОП-воздействия также сопровождалась повышением холодоустойчивости клеток, но в меньшей степени, чем у зрелых листьев: на 0,5 и 0,8 °С у огурца и пшеницы соответственно. Однако после прекращения ДРОП-воздействий в варианте ДРОП1 по мере дальнейшего роста листа их устойчивость к низкой температуре продолжала возрастать, приближаясь к концу опыта на 15-е (пшеница) и 24-е (огурец) сут к уровню холодоустойчивости растений варианта ДРОП2. ДРОП-воздействия в течение всего периода роста листа (вариант ДРОП3) привели к постепенному возрастанию холодоустойчивости листьев огурца и пшеницы до уровня устойчивости зрелых листьев, подвергавшихся ДРОП-воздействиям (ДРОП2).

Одним из критериев реакции растений на стрессовые условия и показателем их устойчивости, в частности, к низким положительным температурам является изменение проницаемости клеточных мембран, оцениваемое по ОВЭ из клеток во внешнюю среду [Самрос et al., 2003; Гришенкова, Лукаткин, 2005]. ОВЭ из тканей листьев контрольных растений огурца и пшеницы на протяжении всего опыта оставался на одном уровне (рис., в, г). ДРОП-воздействия снижали ОВЭ во всех вариантах опыта. Величина уменьшения ОВЭ зависела от возраста листа. Наиболее существенные изменения установлены для зрелых листьев огурца (вариант ДРОП1, рис., в). Действие ДРОП на протяжении всего периода роста листа огурца (вариант ДРОП3) также вызывало снижение ОВЭ по сравнению с контролем, но значительно меньше, чем в варианте ДРОП2, а к концу опыта, на 24-е сут, эти изменения были статистически недостоверными. У растений пшеницы реакция на ДРОП-воздействия молодых и зрелых листьев была одинаковой и проявлялась в существенном снижении ОВЭ (рис., г). У обоих видов в последствии варианта ДРОП1 (на 24-е и 14-е сут соответственно) отмечено продолжающееся снижение ОВЭ по сравнению с контролем.

Таким образом, проведенные исследования показали, что реакция растений на ДРОП-воздействия зависит от возраста листа. Зрелые, завершившие рост листья по сравнению с молодыми, растущими листьями оказались более отзывчивыми на ДРОП-воздействия, характеризуясь наибольшим приростом холодо-



Влияние ДРОП-воздействий на холодоустойчивость листьев (ЛТ₅₀) и относительный выход электролитов (ОВЭ) из тканей листьев огурца (*Cucumis sativus* L.) (а, в) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) (б, г)

На 9-е и 18-е сут измерения проводили на молодых листьях, испытавших ДРОП-воздействия в предыдущие 6 сут в вариантах ДРОП1 и ДРОП3. На 15-е и 24-е сут измерения проводили на зрелых листьях в последствии ДРОП (через 6 сут после завершения ДРОП-воздействий) в варианте ДРОП1 и по окончании ДРОП-воздействий в вариантах ДРОП2 и ДРОП3

The effect of DROP treatments on cold tolerance of leaves (LT₅₀) and relative electrolyte leakage (REL) from cucumber (a, c) and wheat (b, d) leaves

On the 9th and 18th day, measurements were made on young leaves of plants treated by DROP during the previous 6 days in DROP1 and DROP3. On the 15th and 24th day, measurements were made on mature leaves of plants under the aftereffect of DROP treatment (in 6 days after the termination of DROP treatments) in DROP1 and immediately after the termination of DROP treatments in DROP2 and DROP3

устойчивости клеток листовой ткани и меньшим ОВЭ. Реакция молодых листьев оказалась более слабовыраженной, хотя также проявлялась в увеличении холодоустойчивости листьев и снижении ОВЭ.

Ранее было показано, что при развитии листьев растений огурца в оптимальных температурных условиях их холодоустойчивость возрастает только до момента достижения ими 40 % площади листа от максимальной, дальнейший рост листовой пластинки уже не сопровождается увеличением холодоустойчивости клеток [Трофимова, Марковская, 1994].

При постоянном же действии на растения неблагоприятной (закаливающей) температуры холодоустойчивость клеток листа возрастала не только в период роста листа, но и после его завершения [Трофимова, 1995]. По мнению авторов, рост холодоустойчивости при закаливающих температурах не зависит от этапов онтогенеза листа [Трофимова, 1995]. То есть ответная реакция и молодых, и зрелых листьев на действие закаливающей температуры однотипна и выражается в повышении их устойчивости. Этот вывод подтверждается и результатами сравнительного анализа способности

к закаливанию клеток растущих и завершивших рост листьев пшеницы [Горбань и др., 1974]. Подобная закономерность прослеживается и в настоящей работе при анализе результатов ДРОП-воздействий на растения огурца и пшеницы. В контроле при оптимальной температуре холодоустойчивость клеток листьев огурца и пшеницы оставалась неизменной с фазы активного роста до фазы зрелого листа (данные не приводятся). Однако при ДРОП-воздействиях холодоустойчивость клеток повышалась как у молодых, активно растущих, так и у зрелых, завершивших свой рост листьев, хотя и в разной степени. Различия между вариантами носили количественный характер, что связано, как нам представляется, со структурными (анатомо-морфологическими) особенностями листьев, находящихся на разных фазах роста. Зрелый, сформированный при оптимальной температуре лист отличается от молодого не только размерами листовой пластинки, но, что важнее, и значительно большей ее толщиной [Мокроносков, 1981; Ho et al., 1984; Xie, Luo, 2003; Atkin et al., 2006]. Это обеспечивает ему определенные преимущества в защите от внешних стресс-факторов [Palta, Li, 1979; Kuk et al., 2003]. Именно поэтому ДРОП-воздействия (вариант ДРОП2) оказались наиболее эффективными в отношении зрелых листьев и индуцировали именно у них максимальное повышение холодоустойчивости.

На наш взгляд, анатомо-морфологически изменения листьев, происходящими при их формировании в условиях пониженной температуры, можно объяснить динамику холодоустойчивости в варианте ДРОП3 (ее постепенное возрастание до максимального уровня), когда краткосрочным периодическим воздействием низкой температуры подвергался лист с начала его активного роста и до достижения своих окончательных размеров. Добавим, что процесс формирования листа в варианте ДРОП3 с периодическим кратковременным действием низкой температуры сходен с ростом листьев в условиях постоянного действия низкой температуры, благодаря чему такие листья отличаются повышенным адаптационным потенциалом [Gray, Heath, 2005; Jaikumar et al., 2016].

Может показаться неожиданным факт дальнейшего повышения устойчивости молодых, растущих листьев растений варианта ДРОП1 в последствии ДРОП-воздействий, происходящего в условиях температурного оптимума. Однако следует учитывать, что в последствии закалывающих температур устойчивость растений может продолжать нарастать, если

в период закалывания она не успела достичь своего максимума [Акимова и др., 1990; Egez et al., 2002]. По-видимому, данная закономерность нашла проявление и в наших опытах: прирост холодоустойчивости молодых и активно растущих в условиях ДРОП-воздействий листьев составлял всего 1/3 от максимального уровня, что и определило возможность дальнейшего ее роста при температуре 23 °С после окончания ДРОП-воздействий.

Полученные в настоящей работе данные о развитии большей холодоустойчивости у зрелых листьев под влиянием ДРОП-воздействий, на первый взгляд, противоречат ранее сделанному нами выводу о большей адаптивной способности фотосинтеза молодых, растущих листьев, подвергнутых ДРОП-воздействиям, по сравнению со зрелыми листьями [Икконен и др., 2015]. Так как адаптивные возможности связаны со способностью к структурно-функциональным преобразованиям, то более низкая способность к температурной адаптации фотосинтеза у зрелых листьев может быть связана с меньшими, чем у молодых листьев, возможностями структурной перестройки [Икконен и др., 2015]. Однако анатомо-морфологические особенности строения растущего и зрелого листьев по-разному влияют на адаптационный потенциал фотосинтеза и устойчивость листьев к неблагоприятным температурам [Palta, Li, 1979; Ogushi et al., 2003]. Так, сформированность зрелого листа, с одной стороны, ограничивает адаптивные возможности фотосинтеза [Sims, Pearcy, 1992], а с другой – обеспечивает существенное, по сравнению с растущим листом, преимущество в защите от внешних стресс-факторов за счет большей толщины и увеличенного количества слоев паренхимы [Palta, Li, 1979; Kuk et al., 2003]. Кроме того, полученные в настоящей работе данные по ОВЭ свидетельствуют о меньшей проницаемости, то есть большей стабильности мембран у зрелых листьев по сравнению с молодыми. Еще одной причиной меньшей устойчивости молодых листьев может быть более высокая у них интенсивность метаболизма, поскольку известно, что клетки с повышенным метаболизмом характеризуются пониженной устойчивостью к действию стресса [Irwin, Prica, 1983]. В то же время зрелые листья отличаются от растущих повышенным содержанием сахаров, аминокислот и ряда других веществ, участвующих в устойчивости клеток к действию неблагоприятных факторов [Bisognin et al., 2005; Cabello et al., 2006]. Приведенные выше факты могут служить причиной различий в реакции листьев разного возраста, в том числе

формировании повышенной холодоустойчивости под влиянием ДРОП-воздействий.

В целом проведенные исследования и ранее полученные данные позволяют заключить, что листья растений огурца и пшеницы реагируют на ДРОП-воздействия повышением холодоустойчивости. При этом у зрелых листьев холодоустойчивость достигает больших значений, чем у молодых, что, по-видимому, связано со структурными (анатомо-морфологическими) и метаболическими особенностями листьев разного возраста.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0051).

Литература

Акимова Т. В., Крупнова И. В., Титов А. Ф. Динамика теплоустойчивости клеток листа в последствии высокой закалывающей температуры в зависимости от продолжительности ее действия на растения // Эколого-физиологические аспекты устойчивости, роста и развития растений. Петрозаводск: КНЦ АН СССР, 1990. С. 42–47.

Горбань И. С., Завадская И. Г., Шухтина Г. Г., Щербакова А. М. Способность к тепловому закаливанию клеток у колеоптелей и листьев разного возраста // Цитология. 1974. Т. 16, № 8. С. 1036–1040.

Гришенкова Н. Н., Лукаткин А. С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал. 2005. № 1. С. 3–11.

Дроздов С. Н., Курец В. К., Будыкина Н. П., Балагурова Н. И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. Л.: Колос, 1976. С. 222–228.

Икконен Е. Н., Шibaева Т. Г., Титов А. Ф. Реакция фотосинтетического аппарата листа у *Cucumis sativus* L. на кратковременное ежесуточное понижение температуры // Физиология растений. 2015. Т. 62, № 4. С. 528–532. doi: 10.7868/S0015330315040090

Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Кратковременная гипотермия и растение. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 194 с.

Мокронос А. Т. Онтогенетическая изменчивость фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.

Трофимова С. А. Реакция растений на действие факторов внешней среды: онтогенетический аспект: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 1995. 22 с.

Трофимова С. А., Марковская Е. Ф. Формирование термоустойчивости в онтогенезе семядольных листьев огурца // Адаптация, рост и развитие растений. Петрозаводск, 1994. С. 55–59.

Фельдман Н. Л., Каменцева И. Е. Тепло- и холодоустойчивость клеток листа желтого гусиного лука на разных фазах развития // Бот. журн. 1963. Т. 48, № 3. С. 414–419.

Шibaева Т. Г., Шерудило Е. Г., Икконен Е. Н., Титов А. Ф. Влияние кратковременных ежесуточных понижений температуры на активность антиоксидантных ферментов в листьях огурца разного возраста // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 12. С. 107–115. doi: 10.17076/eb241

Шibaева Т. Г., Шерудило Е. Г., Титов А. Ф. Реакция растений *Cucumis sativus* L. на длительное постоянное и кратковременные ежесуточные воздействия низких температур // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 2. С. 143–152. doi: 10.7868/S0015330318020069

Armstrong A. F., Logan D. C., Atkin O. W. On the developmental dependence of leaf respiration: responses to short- and long-term changes in growth temperature // Amer. J. Bot. 2006. Vol. 93, no. 11. P. 1633–1639. doi: 10.3732/ajb.93.11.1633

Atkin O. K., Loveys B. R., Atkinson L. J., Pons T. L. Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability // J. Exp. Bot. 2006. Vol. 57, no. 2. P. 267–281. doi: 10.1093/jxb/erj029

Bisognin D. A., Velasquez L., Widders I. Cucumber seedling dependence on cotyledonary leaves for early growth // Pesquisa Agropecuaria Brasileira. Brasilia. 2005. Vol. 40, no. 6. P. 531–539.

Cabello P., Agüera E., dela Haba P. Metabolic changes during natural ageing in sunflower (*Helianthus annuus*) leaves: expression and activity of glutamine synthetase isoforms are regulated differently during senescence // Physiol. Plant. 2006. Vol. 128, no. 1. P. 175–185. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00722.x

Campos P. S., Quartin V., Ramalho J. C., Nunes M. A. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants // J. Plant. Physiol. 2003. Vol. 160. P. 283–292.

Erez A., Cohen E., Frenkel Ch. Oxygen-mediated cold-acclimation in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings // Physiol. Plant. 2002. Vol. 115. P. 541–549. doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150408.x

Gorsuch P. A., Pandey S., Atkin O. K. Temporal heterogeneity of cold acclimation phenotypes in *Arabidopsis* leaves // Plant Cell Environ. 2010. Vol. 33. P. 244–258. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02074.x

Gray G. R., Heath D. A global reorganization of the metabolome in *Arabidopsis* during cold acclimation is revealed by metabolic fingerprinting // Physiol. Plant. 2005. Vol. 124. P. 236–248. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00507.x

Ho L. C., Hurd R. G., Ludwing L. J., Shaw A. F., Thorneley J. H. M., Withers A. C. Changes in photosynthesis, carbon budget and mineral content during the growth of the first leaf of cucumber // Ann. Bot. 1984. Vol. 54. P. 87–101. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a086778

Ikkonen E. N., Shibaeva T. G., Titov A. F. Water use efficiency in *Cucumis sativus* L. in response to daily

short-term temperature drop // J. Agr. Sci. 2015. Vol. 7, no. 11. P. 208–215. doi: 10.5539/jas.v7n11p208

Irwin C. C., Price H. C. The relationship of radicle length to chilling sensitivity of pregerminated pepper seed // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1983. Vol. 108. P. 484–486.

Jaikummar N. S., Snapp S. S., Sharkey T. D. Older *Thinopyrum intermedium* (Poaceae) plants exhibit superior photosynthetic tolerance to cold stress and greater increases in two photosynthetic enzymes under freezing stress compared with young plants // J. Exp. Bot. 2016. Vol. 67, no. 15. P. 4743–4753. doi: 10.1093/jxb/erw253

Kuk Y. I., Shin S. J. Mechanisms of low-temperature tolerance in cucumber leaves of various ages // J. Am. Soc. Hortic. Sci. 2007. Vol. 132. P. 294–301.

Kuk Y. I., Shin S. J., Chung J. S., Kwon O. D., Kim D. K., Han O., Guh J. O. Differential tolerances and their mechanism on the response of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaves of various ages to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides and paraquat // Korean J. Weed Sci. 2003. Vol. 23. P. 100–111.

Lim C. C., Krebs S. L., Arora R. Cold hardiness increases with age in juvenile *Rhododendron* populations // Frontiers in Plant Science. 2014. Vol. 5. Article 542. 7 p. doi: 10.3399/fpls.2014.00542

Ogushi R., Hikosaka K., Hirose T. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? // Plant Cell Environ. 2003. Vol. 26. P. 505–512.

Ow L. F., Griffin K. L., Whitehead D., Walcroft A. S., Turnbull M. H. Thermal acclimation of leaf respiration but not photosynthesis in *Populus deltoids x nigra* // New Phytol. 2008. Vol. 178. P. 123–134. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02357.x

Palta J. P., Li P. H. Frost-hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several *Solanum* species // Crop Sci. 1979. Vol. 5, iss. 19. P. 665–671. doi: 10.2135/cropsci1979.0011183X001900050031x

Schwemmler B., Lange O. L. Endogen-tagesperiodische schwankungen der hitzeresistenz bei *Kalanchoë blossfeldiana* // Planta. 1959. Vol. 53(2) P. 134–144. doi: 10.1007/BF01947671

Sims D. A., Pearcy R. W. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia Macrorrhiza* (Araceae) to transfer from low to high light // Amer. J. Bot. 1992. Vol. 79. P. 449–455.

Xie S., Luo X. Effect of leaf position and age on anatomical structure, photosynthesis, stomatal conductance and transpiration of Asian pear // Bot. Bull. Acad. Sci. 2003. Vol. 44. P. 297–303.

Zhang Z.-S., Yang C., Gao H.-Y., Zhang L.-T., Fan X.-L., Liu M.-J. The higher sensitivity of PSI to ROS results in lower chilling-light tolerance of photosystems in young leaves of cucumber // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2014. Vol. 137. P. 127–134. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.12.012

Поступила в редакцию 23.03.2018

References

Akimova T. V., Krupnova I. V., Titov A. F. Dinamika teploustoichivosti kletok lista v posledestvii vysokoi zakalivayushchei temperatury v zavisimosti ot prodolzhitel'nosti ee deistviya na rasteniya [Dynamics of heat resistance of leaf cells in the aftereffect of high hardening temperature depending on the duration of its effect on plants]. *Ekologo-fiziologicheskie aspekty ustoychivosti, rosta i razvitiya rastenii* [Ecological and Physiological Aspects of Resistance, Growth, and Development of Plants]. Petrozavodsk: KNTs AN SSSR, 1990. P. 42–47.

Drozhdov S. N., Kurets V. K., Budykina N. P., Balagurova N. I. Opredelenie ustoychivosti rastenii k zamorozkam [Determination of plant resistance to light frost]. *Metody otsenki ustoychivosti rastenii k neblagopriyatnym usloviyam sredy* [Methods for the Assessment of Plant Tolerance to Unfavorable Environments]. Leningrad: Kolos, 1976. P. 222–228.

Fel'dman N. L., Kamentseva I. E. Teplo- i kholodoustoychivost' kletok lista zhel'togo gusinogo luka na raznykh fazakh razvitiya [Thermostability and cryotolerance of leaf cells of *Gagea lutea* (L.) Ker.-Gawl. at different stages of development]. *Bot. zhurn.* [Botanical J.]. 1963. Vol. 48, no. 3. P. 414–419.

Gorban' I. S., Zavadskaya I. G., Shukhtina G. G., Shcherbakova A. M. Sposobnost' k teplovomu zakalivaniyu kletok u koleoptelei i list'ev raznogo vozrasta [Heat hardening ability of cells in coleoptiles and leaves of different ages]. *Tsitologiya* [Cytology]. 1974. Vol. 16, no. 8. P. 1036–1040.

Grishenkova N. N., Lukatkin A. S. Opredelenie ustoychivosti rastitel'nykh tkanei k abioticheskim stressam s ispol'zovaniem konduktometricheskogo metoda [A conductometric technique to estimate the plant tissue stability to abiotic stresses]. *Povolzhskii ekol. zhurn.* [Povolzhskiy J. Ecol.]. 2005. No. 1. P. 3–11.

Ikkonen E. N., Shibaeva T. G., Titov A. F. Response of the photosynthetic apparatus in cucumber leaves to daily short-term temperature drops. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. Vol. 62, no. 4. P. 494–498. doi: 10.7868/S0015330315040090

Markovskaya E. F., Sysoeva M. I., Sherudilo E. G. Kratkovremennaya gipotermiya i rastenie [Short-term hypothermia and plants]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2013. 194 p.

Mokronosov A. T. Ontogeneticheskaya izmenchivost' fotosinteza [Ontogenetic variability of photosynthesis]. Moscow: Nauka, 1981. 196 p.

Shibaeva T. G., Sherudilo E. G., Ikkonen E. N., Titov A. F. Vliyanie kratkovremennykh ezhesutochnykh ponizhenii temperatury na aktivnost' antioksidantnykh fermentov [Effect of short-term daily temperature decrease on antioxidant enzymes activity]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 12. P. 107–115. doi: 10.17076/eb241

Shibaeva T. G., Sherudilo E. G., Titov A. F. Response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants to prolonged permanent and short-term daily exposures to chilling temperature. *Russ. J. Plant Physiol.* 2018. Vol. 65, no. 2. P. 143–152. doi: 10.1134/S1021443718020061

Trofimova S. A. Reaktsiya rastenii na deistvie faktorov vneshnei sredy: ontogeneticheskii aspekt [The reaction of plants to the effect of environmental factors: the ontogenetic aspect]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Petrozavodsk, 1995. 22 p.

Trofimova S. A., Markovskaya E. F. Formirovanie termoustoichivosti v ontogeneze semyadol'nykh list'ev ogurtsa [Thermoresistance in the ontogenesis of cucumber cotyledons]. *Adaptatsiya, rost i razvitie rastenii* [Adaptation, Growth, and Development of Plants]. Petrozavodsk, 1994. P. 55–59.

Armstrong A. F., Logan D. C., Atkin O. W. On the developmental dependence of leaf respiration: responses to short- and long-term changes in growth temperature. *Amer. J. Bot.* 2006. Vol. 93, no. 11. P. 1633–1639. doi: 10.3732/ajb.93.11.1633

Atkin O. K., Loveys B. R., Atkinson L. J., Pons T. L. Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability. *J. Exp. Bot.* 2006. Vol. 57, no. 2. P. 267–281. doi: 10.1093/jxb/erj029

Bisognin D. A., Velasquez L., Widders I. Cucumber seedling dependence on cotyledonary leaves for early growth. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. Brasilia. 2005. Vol. 40, no. 6. P. 531–539.

Cabello P., Agüera E., dela Haba P. Metabolic changes during natural ageing in sunflower (*Helianthus annuus*) leaves: expression and activity of glutamine synthetase isoforms are regulated differently during senescence. *Physiol. Plant.* 2006. Vol. 128, no. 1. P. 175–185. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00722.x

Campos P. S., Quartin V., Ramalho J. C., Nunes M. A. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants. *J. Plant Physiol.* 2003. Vol. 160. P. 283–292.

Erez A., Cohen E., Frenkel Ch. Oxygen-mediated cold-acclimation in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings. *Physiol. Plant.* 2002. Vol. 115. P. 541–549. doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150408.x

Gorsuch P. A., Pandey S., Atkin O. K. Temporal heterogeneity of cold acclimation phenotypes in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Environ.* 2010. Vol. 33. P. 244–258. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02074.x

Gray G. R., Heath D. A global reorganization of the metabolome in *Arabidopsis* during cold acclimation is revealed by metabolic fingerprinting. *Physiol. Plant.* 2005. Vol. 124. P. 236–248. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00507.x

Ho L. C., Hurd R. G., Ludwing L. J., Shaw A. F., Thorneley J. H. M., Withers A. C. Changes in photosynthesis, carbon budget and mineral content during the growth of the first leaf of cucumber. *Ann. Bot.* 1984. Vol. 54. P. 87–101. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a086778

Ikkonen E. N., Shibaeva T. G., Titov A. F. Water use efficiency in *Cucumis sativus* L. in response to daily short-term temperature drop. *J. Agr. Sci.* 2015. Vol. 7, no. 11. P. 208–215. doi: 10.5539/jas.v7n11p208

Irwin C. C., Price H. C. The relationship of radicle length to chilling sensitivity of pregerminated pepper seed. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1983. Vol. 108. P. 484–486.

Jaikumar N. S., Snapp S. S., Sharkey T. D. Older *Thinopyrum intermedium* (Poaceae) plants exhibit superior photosynthetic tolerance to cold stress and greater increases in two photosynthetic enzymes under freezing stress compared with young plants. *J. Exp. Bot.* 2016. Vol. 67, no. 15. P. 4743–4753. doi: 10.1093/jxb/erw253

Kuk Y. I., Shin S. J. Mechanisms of low-temperature tolerance in cucumber leaves of various ages. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 2007. Vol. 132. P. 294–301.

Kuk Y. I., Shin S. J., Chung J. S., Kwon O. D., Kim D. K., Han O., Guh J. O. Differential tolerances and their mechanism on the response of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaves of various ages to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides and paraquat. *Korean J. Weed Sci.* 2003. Vol. 23. P. 100–111.

Lim C. C., Krebs S. L., Arora R. Cold hardiness increases with age in juvenile *Rhododendron* populations. *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 5. Article 542. 7 p. doi: 10.3399/fpls.2014.00542

Ogushi R., Hikosaka K., Hirose T. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? *Plant Cell Environ.* 2003. Vol. 26. P. 505–512.

Ow L. F., Griffin K. L., Whitehead D., Walcroft A. S., Turnbull M. H. Thermal acclimation of leaf respiration but not photosynthesis in *Populus deltoids* x *nigra*. *New Phytol.* 2008. Vol. 178. P. 123–134. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02357.x

Palta J. P., Li P. H. Frost-hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several *Solanum* species. *Crop Sci.* 1979. Vol. 5, iss. 19. P. 665–671. doi: 10.2135/cropsci1979.0011183X001900050031x

Schwemmler B., Lange O. L. Endogen-tagesperiodische schwankungen der hitzeresistenz bei *Kalanchoë blossfeldiana*. *Planta*. 1959. Vol. 53(2) P. 134–144. doi: 10.1007/BF01947671

Sims D. A., Percy R. W. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia Macrorrhiza* (Araceae) to transfer from low to high light. *Amer. J. Bot.* 1992. Vol. 79. P. 449–455.

Xie S., Luo X. Effect of leaf position and age on anatomical structure, photosynthesis, stomatal conductance and transpiration of Asian pear. *Bot. Bull. Acad. Sci.* 2003. Vol. 44. P. 297–303.

Zhang Z.-S., Yang C., Gao H.-Y., Zhang L.-T., Fan X.-L., Liu M.-J. The higher sensitivity of PSI to ROS results in lower chilling-light tolerance of photosystems in young leaves of cucumber. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 2014. Vol. 137. P. 127–134. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.12.012

Received March 23, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шерудило Елена Георгиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sherudil@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706, +79217281651

Шибаета Татьяна Геннадиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: shibaeva@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Sherudilo, Elena

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sherudil@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762706, +79217281651

Shibaeva, Tatyana

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

УДК 575.17: 582.475

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ В ИЗУЧЕНИИ ПЛЮСОВОГО ГЕНОФОНДА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. В КАРЕЛИИ

А. А. Ильинов, Б. В. Раевский

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

В результате исследования с помощью ядерных микросателлитных локусов (PtTX2123, PtTX2146, Spac11.8) дана сравнительная оценка генетической структуры и уровня генетического разнообразия двух плюсовых насаждений (Великая Губа и Заозерье), четырех природных популяций (Водлозеро, Заонежье, Кивач, Сортавала) и клоновой лесосеменной плантации (ЛСП) сосны обыкновенной. В отличие от естественных популяций, представленных малонарушенными сосняками скальными IV класса бонитета на относительно бедных почвах, плюсовые насаждения сосны (I–II класс бонитета) представлены черничными типами леса, сформировавшимися на сравнительно плодородных почвах. Важным моментом является производный характер плюсовых насаждений. Амплификация микросателлитных локусов в исследованных популяциях и ЛСП сосны обыкновенной позволила выявить 32 аллеля. В целом аллельное разнообразие плюсовых насаждений оказалось близким к среднему значению для исследованных популяций сосны ($A_{99\%} = 5,000–6,000$; $ne = 3,064–3,661$). Природные популяции, плюсовые насаждения и ЛСП сосны обыкновенной характеризовались различным уровнем генетической изменчивости. Плюсовые насаждения сосны, отличающиеся лучшими условиями произрастания по сравнению с естественными популяциями, показали средний уровень генетического разнообразия ($H_o = 0,521–0,588$; $H_e = 0,579–0,643$), однако отличия от природных популяций оказались статистически недостоверными. Исключение составил индекс фиксации Райта F . Максимальные значения этого показателя (0,142 и 0,106) свидетельствуют о значительном дефиците гетерозигот в плюсовых насаждениях сосны обыкновенной.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L.; плюсовое насаждение; клоновая лесосеменная плантация; генетическое разнообразие; ПЦР; микросателлиты.

A. A. Ilinov, B. V. Raevsky. ANALYSIS OF THE *PINUS SYLVESTRIS* L. PLUS TREE GENE POOL IN KARELIA USING MICROSATELLITE LOCI

In this work, based on the results of the microsatellite loci (PtTX2123, PtTX2146, Spac11.8) tests, we provided a comparative evaluation of the genetic structures and levels of genetic diversity of the following populations: two plus stands from Velikaya Guba and Zaozerye, four natural populations from Vodlozero, Zaonezye, Kivach, Sortavala, and a clonal seed orchard of Scots pine. Unlike the natural populations, which were represented by intact rocky pine forests growing on relatively poor soils, the plus stands were represented by secondary v. myrtillus forest stands formed on relatively fertile soils. Amplification of the microsatellite loci of the studied populations and the seed orchard of Scotch pine helped to identify 32 alleles in total. Overall, the allelic diversity of the plus stands proved

to be close to the mean value for the studied populations. The tested natural populations, plus stands, and the seed orchard of Scots pine are characterized by different levels of genetic variability. The plus stands, featuring better growing conditions in comparison with the natural populations, demonstrated an intermediate level of genetic diversity. However, the differences between them and the natural populations were statistically unreliable, and the only statistically significant parameter was the Wright fixation index F . The maximum values of this index (0.142 and 0.106) indicate a significant deficit of heterozygotes in the Scots pine plus stands.

Key words: *Pinus sylvestris* L.; plus stand; clonal seed orchard; genetic diversity; polymerase chain reaction (PCR); microsatellites.

Введение

Система плюсовой селекции основных лесобразующих видов, в том числе сосны обыкновенной, практикуется на территории России с конца 60-х годов XX века. Однако до сих пор окончательно не сформировался общепринятый методический подход в решении ее центральной проблемы – оценки наследственности плюсовых деревьев, отобранных по фенотипу. Ключевой категорией объектов в структуре постоянной лесосеменной базы является клонная лесосеменная плантация (ЛСП).

Главная задача при создании ЛСП – обеспечение лесного хозяйства улучшенными семенами лесных пород, обладающими ценными наследственными свойствами и высокими посевными качествами. Важным аспектом является сохранение и поддержание на ЛСП уровня генетического разнообразия, свойственного природным популяциям основных лесобразующих пород того или иного региона. Базой для создания клонных ЛСП являются лучшие естественные или искусственные (плюсовые) насаждения и деревья, выделяемые при селекционной инвентаризации. При отборе плюсовых насаждений и деревьев главное внимание уделяется следующим признакам: прямоствольность, полнодревесность, хорошее очищение стволов от сучьев, устойчивость к неблагоприятным факторам среды, вредителям и болезням. В то же время до сих пор не выяснена роль генетической составляющей в продуктивности этих насаждений и отдельных деревьев.

В популяционных исследованиях в последние десятилетия особое значение приобрели ДНК-маркеры, в том числе микросателлиты. Мировой опыт показывает, что использование ДНК-маркеров позволяет решать многие задачи при исследовании древесных видов [Alden, Loopstra, 1987; Rajora et al., 1998; Hui-Yu et al., 2005; Ranger et al., 2008; Varsha et al., 2012; Rubio-Moraga et al., 2012]. В Российской Федерации сравнительно мало работ с использо-

ванием современных методов генетического анализа, основанных на применении ДНК-маркеров [Яковлев, Клейншмит, 2002; Козыренко и др., 2004; Семерикова, Семериков, 2007; Левина и др., 2008], особенно в области лесной селекции и семеноводства [Новиков, Шейкина, 2012; Криворотова, 2014; Ильинов, Раевский, 2015; Янбаев, 2017].

Анализ литературных источников дает основания для предположения, что лучшие (плюсовые) деревья будут характеризоваться и более высоким уровнем генетического разнообразия. В работе Т. Н. Криворотовой [2014], посвященной генетической изменчивости клонов плюсовых деревьев сосны обыкновенной, сделан вывод о том, что уровень генетической изменчивости, оцениваемый с использованием ISSR-маркеров, на ЛСП сосны не уступает уровню генетического разнообразия, выявленному в насаждениях из этих же географических районов. В работе П. С. Новикова и О. В. Шейкиной [2012] при исследовании генетической изменчивости деревьев разных селекционных категорий (минусовые, нормальные, плюсовые) сосны обыкновенной по ISSR-маркерам в плюсовом насаждении обнаружено, что наивысшими значениями параметров генетической изменчивости характеризовались нормальные деревья, а уровень генетической изменчивости в целом для насаждения оказался выше, чем отдельно по группам. Таким образом, генетические аспекты плюсовой селекции все еще остаются недостаточно изученными.

В Карелии при реализации системы плюсовой селекции основных лесобразующих хвойных видов (сосны обыкновенной и ели финской) были созданы 6 прививочных ЛСП I порядка общей площадью около 454 га, в том числе сосны – 365 га. На этих объектах произрастают сотни вегетативных потомств плюсовых деревьев. Однако до настоящего времени работ по изучению состояния плюсового генофонда лесобразующих видов Карелии не проводилось.

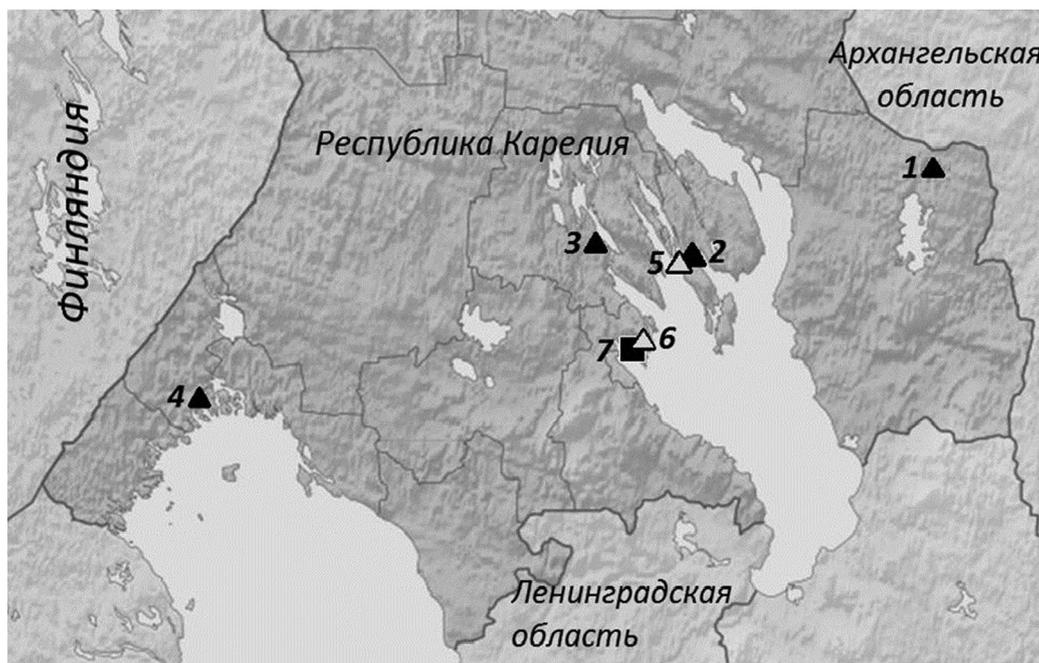


Рис. 1. Карта-схема расположения пунктов сбора материала. Природные популяции: 1 – Водлозеро; 2 – Заонежье; 3 – Кивач; 4 – Сортавала; плюсовые насаждения: 5 – Великая Губа; 6 – Заозерье; 7 – Петрозаводская ЛСП

Fig. 1. Index map of *P. sylvestris* sample collection points in Karelia. Native population: 1 – Vodlozero; 2 – Zaonezhye; 3 – Kivach; 4 – Sortavala; plus stands: 5 – Velikaya Guba; 6 – Zaozerye; 7 – Petrozavodsk clonal seed orchard

Цель исследования – изучение на основе использования ядерных микросателлитных локусов генетического разнообразия природных популяций, плюсовых насаждений и клонных лесосеменных плантаций хвойных Карелии (на примере сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L.).

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы четыре малонарушенные популяции (Водлозеро, Заонежье, Кивач и Сортавала), два плюсовых насаждения (Великая Губа и Заозерье), а также одно поле Петрозаводской прививочной клонной лесосеменной плантации (ЛСП) сосны обыкновенной (рис. 1). В естественных сосняках средней подзоны тайги Карелии в Южнокарельском лесосеменном районе [Лесосеменное..., 1982] были заложены постоянные пробные площади (ППП), главным образом в пределах особо охраняемых природных территорий (ООПТ). Характеристика ППП приведена в табл. 1.

Для анализа генетической структуры популяций отбирали образцы хвои и древесины (керны) с 30 модельных деревьев на каждой ППП. На ЛСП для генетического анализа были собраны образцы хвои с 30 клонов.

Выделение образцов геномной ДНК сосны осуществлялось с помощью набора Ахуррег Multisource Genomic DNA (Ахуген). Для анализа популяций сосны обыкновенной отобрали три локуса [Soranzo et al., 1998; Elsiik et al., 2000] (табл. 2).

Основными критериями для отбора микросателлитных локусов служили высокая степень информативности, полиморфности и воспроизводимости амплификации. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали 26 мкл реакционной смеси следующего состава: 50 нг ДНК исследуемых образцов, 100 пМ праймера, 5 мкл набора с Taq ДНК полимеразой («СибЭнзим», Москва). Для проведения амплификации применяли прибор iCycler iQ5 (Bio-Rad). Условия амплификации: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 30 с при 53–62 °С (в зависимости от используемого праймера), полимеризация – 40 с при 72 °С; количество циклов – 35; достраивание фрагментов – 6 мин при 72 °С. Образцы ДНК анализировали методом капиллярного гель-электрофореза (Beckman Coulter CEQ800 Genetic Analysis; программное обеспечение CEQ Fragment Analysis).

Основные показатели генетической изменчивости (среднее число аллелей на локус $A_{99\%}$, среднее число аллелей с частотой > 5 %, $A_{95\%}$,

Таблица 1. Таксационная характеристика пробных площадей

Table 1. Forest taxation characteristics of sample plots

Показатель Character	Пробная площадь Sample plot					
	Водлозеро Vodlozero	Заонежье Zaonezhye	Кивач Kivach	Сортавала Sortavala	Великая Губа Velikaya Guba	Заозерье Zaozerye
1	2	3	4	5	6	7
Центральное лесничество Central forestry	НП «Водлозерский» NP "Vodlozersky"	Медвежьегорское Medvezhyegorsk	Заповедник «Кивач» Nature Reserve "Kivach"	Сортавальское Sortavala	Медвежьегорское Medvezhyegorsk	Прионежское Prionezhskiy
Участковое лесничество (квартал, выдел) Regional forest district (quarter, site)	Водлозерское (кв. 16, выд. 94) Vodlozersky (quarter 16, site 94)	Великогубское (кв. 151, выд. 6) Velikogubskoye (quarter 151, site 6)	(кв. 51, выд. 8) (quarter 51, site 8)	Ладожское (кв. 83, выд. 45) Ladoga (quarter 83, site 45)	Великогубское (кв. 48, выд. 19) Velikogubskoye (quarter 48, site 19)	Заозерское (кв. 8, выд. 13) Zaozerskoye (quarter 8, site 13)
Географические координаты, °с. ш./°в. д. Geographical coordinates, °N/°E	62,542 37,025	62,239 34,880	62,370 33,971	61,663 30,648	62,357 34,868	61,907 34,394
Состав и структура древостоя Composition and structure of the forest stand	7C ₂₀₀ 3C ₁₆₀ +C ₂₇₀	5C ₁₆₀ 5C ₁₀₀ + B ₈₀ E ₆₀	4C ₁₆₀ 5C ₁₀₀ 1B	6C ₁₃₀ 3E ₁₃₀ 1B ₉₀	6C ₁₁₀ 2E ₉₅ 2B ₉₀ Oс ₁₀₀ ед.	6C ₁₁₅ 2E ₁₁₀ 1B ₉₀ 1Oс ₉₀
Тип возрастной структуры Type of age structure	относительно разновозрастный relatively-uneven aged	относительно разновозрастный relatively-uneven aged	относительно разновозрастный relatively-uneven aged	условно одно-возрастный conditional even-aged	одновозрастный even-aged	одновозрастный even-aged
Тип леса Forest type	брусничный vaccinium type	черничный myrtillus type	брусничный vaccinium type	брусничный vaccinium type	черничный myrtillus type	черничный myrtillus type
Класс возраста Age class	XI	VIII	VIII	VII	VI	VI
Средний диаметр, см Average diameter, cm	28	26	24	28	27,2	31,5
Средняя высота, м Average height, m	19	19	18	20	28,1	29,9
Бонитет Growth class	IV	IV	IV	IV	II	I
Относительная полнота Relative stoking	0,6	0,7	0,7	0,7	1,46	1,43
Запас, м³/га Stock volume, m³/ha	160	170	155	220	568	560

среднее эффективное число аллелей n_e , наблюдаемая H_o и ожидаемая H_e гетерозиготность, коэффициент фиксации Райта F , критерий χ^2 для оценки соответствий наблюдаемых и ожидаемых по правилу Харди – Вайнберга распределений генотипов, анализ молекулярной дисперсии AMOVA (Analysis of Molecular Variance), показатели F -статистики Райта и генетические дистанции по Нею определяли

с помощью программы GenAlEx 6.5 [Peakall, Smouse, 2006]. Построение дендрограммы на основе матрицы генетических расстояний проводили с помощью метода невзвешенного попарного арифметического среднего UPGMA [Sneath, Sokal, 1973].

Для обнаружения и исключения возможных вариантов ошибок генотипирования ядерных микросателлитных локусов использована про-

Таблица 2. Характеристика микросателлитных локусов, использованных для анализа популяций сосны обыкновенной

Table 2. Characteristics of microsatellite loci used for the analysis of the populations of Scots pine

Локус Locus	Последовательность (5' – 3') Sequence (5' – 3')	Мотив Motif	Число аллелей Number of alleles	Размер фрагмента, п. н. о. Size of the fragment, bp	Температура отжига, °C Annealing temperature, °C
PtTX2123	F GAAGAACCCACAAACACAAG R GGGCAAGAATTCATGATAA	(AGC) ₈	4	192–204	57
PtTX2146	F CCTGGGGATTTGGATTGGGTATTTG R CCTGGGGATTTGGATTGGGTATTTG	(GAG) ₅ ... (CAG) ₈ CGG (CAG) ₇ CGG (CAG) ₄	16	168–249	57
Spac11,8	F AGGGAGATCAATAGATCATGG R CAGCCAAGACATCAAAAATG	(TG) ₁₆	12	130–154	55

грамма MICRO-CHECKER [Van Oosterhout et al., 2004].

Результаты и обсуждение

Анализ таксационных характеристик показал (табл. 1), что в отличие от естественных популяций, представленных малонарушенными сосняками скальными IV классов бонитета на относительно бедных почвах, плюсовые насаждения сосны (I–II класс бонитета) представлены черничными типами леса, сформировавшимися на сравнительно плодородных почвах. Важным моментом является производный характер плюсовых насаждений. Первое плюсовое насаждение – Великая Губа – возникло в условиях открытого пространства сплошной вырубке. Второе – Заозерье – в условиях заброшенной пашни, возобновившейся сосной в семенной год. Примерно 100 лет назад территория, занятая исследованными плюсовыми насаждениями, по какой-то причине (пожар или рубки) была достаточно быстро заселена сосной обыкновенной, которая при благоприятных условиях произрастания к V классу возраста достигла высоких показателей продуктивности, что и позволило в 80-х годах прошлого столетия выделить данные древостои в качестве плюсовых насаждений. В указанный период в этих насаждениях отмечалось наличие елового подростка, который в течение последующих 40 лет сформировал густой ярус ели. В дальнейшем следует ожидать полной смены пород, в результате чего исследованные плюсовые насаждения сосны обыкновенной превратятся в ельники.

Амплификация трех микросателлитных локусов из четырех природных популяций, двух плюсовых насаждений и ЛСП сосны обыкновенной позволила выявить 32 аллеля (табл. 3).

Все локусы были полиморфными во всех популяциях и на ЛСП. Наименее изменчивым оказался локус PtTX2123 (4 аллеля), наиболее полиморфным – локус PtTX2146 (16 аллелей). Количество редких (с частотой встречаемости < 0,05) аллелей в популяциях варьировало от 0 % (Заонежье) до 47 % (Водлозеро). Максимальное количество аллелей (21) выявлено в Сортавале и на ЛСП. Здесь же был обнаружен высокий процент редких аллелей (38 и 43 % соответственно). По количеству найденных аллелей (16) плюсовое насаждение Заозерье занимает среднее положение, уступая Сортавале, ЛСП и Водлозеру.

В то же время плюсовое насаждение Великая Губа по количеству выявленных аллелей превосходило только Заонежье, отличавшееся минимальным их количеством (табл. 3). В целом аллельное разнообразие плюсовых насаждений оказалось близким к среднему значению для исследованных популяций сосны.

Анализ с использованием критерия χ^2 (табл. 4) обнаружил достоверное несоответствие наблюдаемых и ожидаемых по правилу Харди – Вайнберга распределений генотипов по локусам Spac11.8 и PtTX2146. Несоответствие по локусу Spac11.8 отмечено во всех исследованных популяциях, а по локусу PtTX2146 – только в популяциях Водлозеро и Заонежье. По локусу PtTX2123 достоверного несоответствия наблюдаемых и ожидаемых по правилу Харди – Вайнберга распределений генотипов не обнаружено.

С помощью программы MICRO-CHECKER выявлены ошибки генотипирования: у микросателлитных локусов PtTX2146 и Spac11.8 обнаружены «нуль-аллели». Учет при генотипировании «нуль-аллелей» позволил провести корректировку для получения несмещенной оценки уровня генетического разнообразия (табл. 5)

Таблица 3. Генетическая структура популяций сосны обыкновенной, выраженная в частотах встречаемости аллелей

Table 3. Allele frequencies by population for Scots pine codominant data

Локус Locus	Аллель Allel	Популяция Population						
		Водлозеро Vodlozero	Заонежье Zaonezhye	Кивач Kivach	Сортавала Sortavala	Великая Губа Velikaya Guba	Заозерье Zaozerye	ЛСП Clonal seed orchard
		Размер выборки Sample size						
		23	30	30	30	16	17	30
PtTX2123	192	0,130	0,083	0,067	0,200	0,156	0,206	0,083
	195	0,870	0,917	0,933	0,783	0,844	0,765	0,917
	201	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000
	204	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000
PtTX2146	168	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017
	171	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017
	180	0,000	0,000	0,017	0,000	0,031	0,000	0,000
	183	0,152	0,783	0,583	0,183	0,219	0,147	0,300
	186	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	195	0,196	0,033	0,033	0,150	0,219	0,176	0,183
	204	0,022	0,000	0,000	0,083	0,000	0,000	0,033
	210	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000
	213	0,022	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000
	216	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000
	222	0,391	0,133	0,217	0,517	0,438	0,559	0,350
	225	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	228	0,065	0,033	0,117	0,033	0,063	0,029	0,083
	237	0,087	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
243	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,059	0,017	
249	0,022	0,000	0,000	0,000	0,031	0,029	0,000	
Срас11.8	130	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000
	132	0,000	0,033	0,117	0,033	0,125	0,088	0,067
	134	0,174	0,083	0,650	0,100	0,031	0,265	0,500
	136	0,761	0,400	0,133	0,400	0,594	0,206	0,067
	138	0,022	0,000	0,000	0,150	0,125	0,324	0,033
	140	0,022	0,050	0,067	0,067	0,000	0,029	0,167
	142	0,000	0,000	0,000	0,083	0,125	0,000	0,017
	144	0,000	0,433	0,033	0,017	0,000	0,059	0,050
	146	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,033
	148	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,033
	152	0,022	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,017
154	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,017	

и степени подразделенности исследованных популяций сосны обыкновенной (табл. 6).

Анализ основных параметров генетической изменчивости показал (табл. 5), что южнокарельские популяции сосны обыкновенной характеризуются довольно высоким ее уровнем. Значения основных показателей разнообразия – наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности – варьировали в пределах 0,456–0,739 и 0,471–0,714 соответственно. Уровень генетической изменчивости, обнаруженный на ЛСП,

также оказался довольно высоким, свидетельствуя о достаточной представленности генофонда сосны обыкновенной на лесосеменной плантации. Минимальными параметрами генетической изменчивости по большинству показателей выделялись популяции Заонежье и Кивач. Плюсовые насаждения сосны обыкновенной характеризовались средними значениями генетического, в том числе аллельного разнообразия. В целом, однако, выявленные различия между исследованными

Таблица 4. Результаты теста χ^2 соответствия генотипов в популяциях сосны обыкновенной ожидаемому по Харди – Вайнбергу

Table 4. Summary of Chi-Square tests for Hardy-Weinberg equilibrium

Популяция Population	Локус Locus	Число степеней свободы DF	χ^2	Табличное значение χ^2 Table value χ^2		
				Уровень значимости, q, % Significance level, q, %		
				5	1	0,1
Водлозеро Vodlozero	PtTX2123	1	0,518	3,841	6,635	10,83
	PtTX2146	45	81,540***	61,66	69,96	80,08
	Spac11,8	10	69,019***	18,31	23,21	29,59
Заонежье Zaonezhye	PtTX2123	1	0,248	3,841	6,635	10,83
	PtTX2146	10	60,626***	18,31	23,21	29,59
	Spac11,8	10	64,612***	18,31	23,21	29,59
Кивач Kivach	PtTX2123	1	0,153	3,841	6,635	10,83
	PtTX2146	15	23,125	25,00	30,58	37,70
	Spac11,8	10	90,744***	18,31	23,21	29,59
Сортавала Sortavala	PtTX2123	3	0,349	7,815	11,34	16,27
	PtTX2146	21	17,973	32,67	38,93	46,80
	Spac11,8	55	172,779***	73,31	82,29	93,17
Великая Губа Velikaya Guba	PtTX2123	1	1,335	3,841	6,635	10,83
	PtTX2146	15	15,673	25,00	30,58	37,70
	Spac11,8	10	27,845**	18,31	23,21	29,59
Заозерье Zaozerye	PtTX2123	3	4,406	7,815	11,34	16,27
	PtTX2146	15	19,468	25,00	30,58	37,70
	Spac11,8	21	64,430***	32,67	38,93	46,80
ЛСП Clonal seed orchard	PtTX2123	1	0,248	3,841	6,635	10,83
	PtTX2146	28	30,974	41,34	48,28	56,89
	Spac11,8	55	228,033***	73,31	82,29	93,17

Примечание. *** P < 0,001.

Note. *** P < 0.001.

популяциями, включая плюсовые насаждения, и ЛСП сосны обыкновенной в уровне генетического разнообразия оказались статистически недостоверными. Исключение составил индекс фиксации Райта F . Максимальные значения этого показателя (0,142 и 0,106 для древостоев Великая Губа и Заозерье соответственно) свидетельствуют о значительном дефиците гетерозигот в плюсовых насаждениях сосны обыкновенной.

Анализ подразделенности с помощью F -статистик Райта (табл. 6), рассчитанных для характеристики подразделенности и оценки уровня дифференциации между исследованными популяциями, обнаружил, что каждое дерево в среднем характеризуется 4% дефицитом гетерозигот относительно популяции ($F_{IS} = 0,039$) и 11% дефицитом ($F_{IT} = 0,109$) относительно вида. Основной вклад в избыток гомозигот вносит локус Spac11,8.

Значения F_{ST} варьировали от 0,028 для PtTX2123 до 0,099 для Spac11,8, составляя в среднем 0,073, что указывает на относительно невысокий уровень межпопуляционной дифференциации сосны обыкновенной в регионе.

Результат AMOVA-анализа также показал, что большая часть общей генетической дисперсии, обнаруженной на основе исследования микросателлитных локусов сосны обыкновенной, приходится на изменчивость внутри популяций, межпопуляционная доля составляет около 7% (рис. 2).

Для количественной оценки уровня межпопуляционной генетической дифференциации популяций сосны обыкновенной были произведены вычисления генетических дистанций Неи. Более наглядно результаты этих вычислений можно представить в виде дендрограммы, построенной на основе матрицы расстояний с помощью метода UPGMA (рис. 3).

Таблица 5. Уровень генетического разнообразия в популяциях *P. sylvestris*

Table 5. Level of genetic diversity in populations of *P. sylvestris*

Популяция Population	n	$A_{99\%}$	$A_{95\%}$	ne	H_o	H_e	F
		природные популяции native populations					
Водлозеро Vodlozero	23	6,333	3,667	3,847	0,739	0,714	-0,045
Заонежье Zaonezhye	30	4,667	3,333	2,37	0,456	0,471	0,001
Кивач Kivach	30	4,333	3,333	2,285	0,578	0,469	-0,206
Сортавала Sortavala	30	7,333	4,667	3,482	0,589	0,615	0,023
M ± m		6,618 ± 1,016	4,120 ± 0,703	3,229 ± 0,532	0,638 ± 0,093	0,612 ± 0,086	-0,063 ± 0,065
плюсовые насаждения plus stands							
Великая Губа Velikaya Guba	16	5,000	4,000	3,064	0,521	0,579	0,142
Заозерье Zaozerye	17	6,000	4,333	3,661	0,588	0,643	0,106
M ± m		5,515 ± 0,201	4,172 ± 0,146	3,371 ± 0,139	0,556 ± 0,021	0,612 ± 0,020	0,124 ± 0,008*
ЛСП clonal seed orchard							
M ± m	30	7,333 ± 2,900	3,667 ± 0,882	3,284 ± 1,079	0,611 ± 0,226	0,562 ± 0,205	-0,090 ± 0,068

Примечание. n – размер выборки; $A_{99\%}$ – среднее число аллелей на локус; $A_{95\%}$ – среднее число нередких (с частотой > 0,05) аллелей на локус; ne – эффективное число аллелей на локус; H_o и H_e – наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность соответственно; F – индекс фиксации Райта; * $p < 0,01$.

Note. n – sample size; $A_{99\%}$ – mean number of alleles per locus; $A_{95\%}$ – mean number of frequent alleles per locus (with a frequency of > 0,05); ne – effective number of alleles per locus; H_o – mean observed heterozygosity; H_e – mean expected heterozygosity; F – fixation index; * $p < 0,01$.

Таблица 6. Значения F-статистик Райта для популяций сосны обыкновенной

Table 6. F-Statistics over all *P. sylvestris* populations for each locus

Локус Locus	F-статистики F-Statistics		
	F_{is}	F_{it}	F_{st}
PtTX2123	0,038	0,066	0,028
PtTX2146	0,036	0,123	0,091
Spac11,8	0,043	0,138	0,099
M ± m	0,039 ± 0,002	0,109 ± 0,022	0,073 ± 0,022

Примечание. F_{is} – коэффициент инбридинга особи относительно популяции; F_{it} – коэффициент инбридинга особи относительно вида; F_{st} – показатель подразделенности популяций.

Note. F_{is} – the inbreeding of an individual relative to the subpopulation; F_{it} – the inbreeding of an individual relative to the total metapopulation; F_{st} – the inbreeding of the subpopulation relative to the total metapopulation.

В первый кластер вошли довольно близкие генетически ($D_N = 0,03-0,13$) южнокарельские популяции Сортавала и Водлозеро, а также плюсовые насаждения Великая Губа и Заозерье. ЛСП и Кивач также отличались невысоким значением генетического расстояния ($D_N = 0,05$). В то же время обе эти группы оказались значительно дифференцированы друг от друга ($D_N = 0,22$). Наибольшая генетическая обособленность ($D_N = 0,28$) выявлена для Заонежья, характеризующегося минимальными значениями основных показателей генетического разнообразия. Таким образом, плюсовые насаждения оказались генетически близки

к основной группе южнокарельских популяций сосны обыкновенной.

Выводы

1. Анализ основных параметров генетической изменчивости показал, что плюсовые насаждения сосны обыкновенной, характеризующиеся лучшими условиями произрастания по сравнению с естественными популяциями, отличаются средним уровнем генетического, в том числе аллельного разнообразия.
2. Значения индекса фиксации Райта F (0,142 и 0,106 для Великой Губы и Заозерья со-



Рис. 2. Соотношение различных уровней внутривидового разнообразия карельских популяций сосны обыкновенной по результатам AMOVA

Fig. 2. Results of Analysis of Molecular Variance (AMOVA) for *P. sylvestris* populations

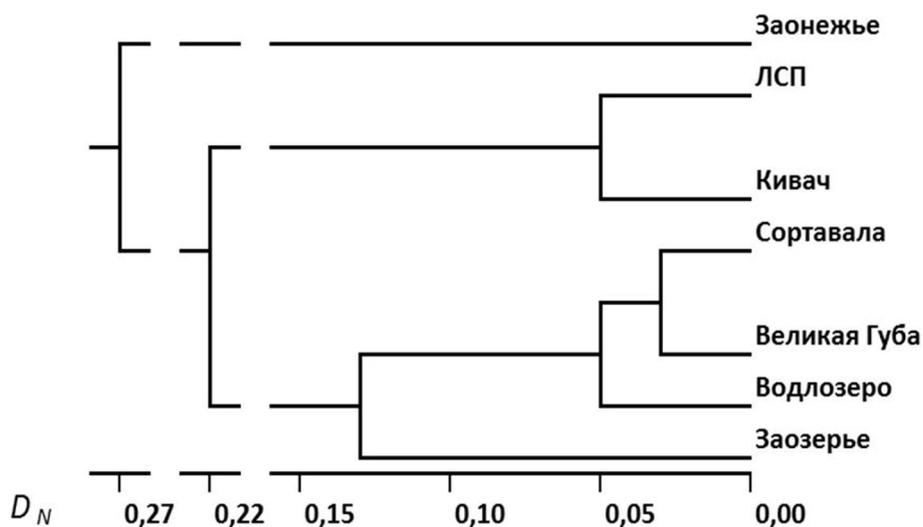


Рис. 3. Дендрограмма уровня дифференциации карельских популяций ели финской по генетическому расстоянию Неи (D_N)

Fig. 3. Dendrogram of differentiation level of Karelian populations of *P. sylvestris* according to Nei's genetic distance (D_N)

ответственно) свидетельствуют о наличии достоверного дефицита гетерозигот в плюсовых насаждениях сосны обыкновенной.

3. Среднее значение F_{st} (0,073) указывает на невысокий уровень межпопуляционной дифференциации в исследованной части ареала, что характерно для большинства панмиктических популяций, в том числе и сосны обыкновенной.

4. Количественный анализ межпопуляционной дифференциации показал, что плюсовые насаждения сосны обыкновенной генетически близки к основной группе южнокарельских популяций.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН № 41 «Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России».

Литература

Ильинов А. А., Раевский Б. В. Сравнительная оценка генетического разнообразия естественных популяций и клоновых плантаций сосны обыкновенной и ели финской в Карелии // Экологическая генетика. 2015. Т. XIII, № 4. С. 55–67.

Козыренко М. М., Артюкова Е. В., Реунова Г. Д., Левина Е. А., Журавлев Ю. Н. Генетическая изменчивость и взаимоотношения лиственниц Сибири и Дальнего Востока по данным RAPD-анализа // Генетика. 2004. Т. 40, № 4. С. 506–515.

Криворотова Т. Н. Фенотипическая и генетическая изменчивость клонов плюсовых деревьев сосны обыкновенной в Среднем Поволжье: Автореф. ... дис. канд. с.-х. наук. Йошкар-Ола, 2014. 22 с.

Левина Е. А., Адрианова И. Ю., Реунова Г. Д., Журавлев Ю. Н. Изучение генетической изменчивости и дифференциации популяций лиственницы в пределах ареала *Larix olgensis* A. Henry в Приморском крае // Генетика. 2008. Т. 44, № 3. С. 374–380.

Лесосеменное районирование основных лесобразующих пород в СССР. М.: Лесн. пром-ть, 1982. 368 с.

Новиков П. С., Шейкина О. В. ISSR-анализ деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) различных селекционных категорий // Научный журнал КубГАУ. 2012. № 82(08). С. 1–13.

Семерикова С. А., Семериков В. Л. Изменчивость хлоропластных микросателлитных локусов у пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) и двух дальневосточных видов пихт *A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim. и *A. sachalinensis* Fr. Schmidt // Генетика. 2007. Т. 43, № 12. С. 1637–1646.

Яковлев И. А., Клейншмит Й. Генетическая дифференциация дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в европейской части России на основе RAPD-маркеров // Генетика. 2002. Т. 38, № 2. С. 207–215.

Янбаев Р. Ю. Анализ лесовосстановительных процессов в дубравах Южного Урала с применением молекулярно-биологических методов исследований: Автореф. ... дис. канд. с.-х. наук. Уфа, 2017. 19 с.

Alden J., Loopstra C. Genetic diversity and population structure of *Picea glauca* on an altitudinal gradient in interior Alaska // Can. J. Forest Res. 1987. Vol. 17. P. 1519–1526. doi: 10.1139/x87-234

Elsik C. G., Minihan V. T., Hall S. E., Scarpa A. M., Williams C. G. Low-copy microsatellite markers for

Pinus taeda L. // Genome. 2000. Vol. 43. P. 550–555. doi: 10.1139/g00-002

Hui-Yu L., Jing J., Gui-Feng L., Xu-Jun M., Jing-Xiang D., Shi-Jie L. Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers // J. Forest Res. 2005. Vol. 16, no. 3. P. 216–218. doi: 10.1007/bf02856818

Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Natur. 1972. Vol. 106. P. 283–292. doi: 10.1086/282771

Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. No. 6. P. 288–295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Rajora O. P., DeVerno L., Mosseler A., Innes D. J. Genetic diversity and population structure of disjunct Newfoundland and central Ontario populations of eastern white pine (*Pinus strobus*) // Can. J. Bot. 1998. Vol. 76. P. 500–508. doi: 10.1139/b98-021

Ranger M., Nkongolo K. K., Michael P., Beckett P. Genetic Differentiation of Jack Pine (*Pinus banksiana*) and Red Pine (*P. resinosa*) Populations From Metal Contaminated Areas in Northern Ontario (Canada) Using ISSR Markers // Silvae Genetica. 2008. Vol. 57, no. 6. P. 333–340. doi: 10.1515/sg-2008-0049

Rubio-Moraga A., Candel-Perez D., Lucas-Borja M. E., Tiscar P. A., Viñepla B., Linares J. C., Gómez-Gómez L., Ahrazem O. Genetic diversity of *Pinus nigra* Arn. populations in Southern Spain and Northern Morocco revealed by inter-simple sequence repeat profiles // J. Mol. Sci. 2012. Vol. 13, no. 5. P. 5645–5658. doi: 10.3390/ijms13055645

Sneath P. H. A., Sokal R. R. Numerical Taxonomy. The Principles and Practice of Numerical Classification. San Francisco: W. H. Freeman and Co., 1973. 549 p.

Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. // Mol. Ecol. 1998. Vol. 7. P. 1260–1261.

Van Oosterhout C., Hutchinson W., Wills D., Shipley P. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data // Molecular Ecol. Resour. 2004. No. 4. P. 535–538. doi: 10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x

Varsha A. P., Parasharami A., Thengane Shubhada R. Inter population genetic diversity analysis using ISSR markers in *Pinus roxburghii* (Sarg.) from Indian provenances // Int. J. Biodivers. Conserv. 2012. Vol. 4, no. 5. P. 219–227. doi: 10.5897/ijbc11.23

Поступила в редакцию 11.04.2018

References

Ilinov A. A., Raevsky B. V. Comparative evaluation of the genetic diversity of natural populations and clonal seed orchards of *Pinus sylvestris* L. and *Picea fennica* (Regel) Kom. in Karelia. *Russ. J. of Genetics: Applied Research*. 2017. Vol. 7, no. 6. P. 607–616. doi: 10.17816/ecogen13455-67

Kozyrenko M. M., Artyukova E. V., Reunova G. D., Levina E. A., Zhuravlev Y. N. Genetic diversity and relationships among Siberian and Far Eastern larches inferred from RAPD Analysis. *Russ. J. of Genetics*.

2004. Vol. 40, no. 4. P. 401–409. doi: 10.1023/b:ruge.0000024978.25458.f7

Krivorotova T. N. Fenotipicheskaya i geneticheskaya izmenchivost' klonov plyusovykh derev'ev sosny obyknovennoi v Srednem Povolzh'e [Phenotypic and genetic variability of plus trees clones of Scots pine in the Middle Volga region]: Summary of PhD (Cand. of Agr.) thesis. Yoshkar-Ola, 2014. 22 p.

Levina E. A., Adrianova I. Y., Reunova G. D., Zhuravlev Y. N. Genetic variability and differentiation

in the larch populations within the range of *Larix olgensis* A. Henry in Primorye. *Russ. J. of Genetics*. 2008. Vol. 44, no. 3. P. 320–325. doi: 10.1134/s1022795408030125

Lesosemennoe raionirovanie osnovnykh leso-obrazuyushchikh porod v SSSR [Forest seed zoning of the main forest-forming species in the USSR]. Moscow: Les. prom-t', 1982. 368 p.

Novikov P. S., Sheikina O. V. ISSR-analiz derev'ev sosny obyknovnoy (*Pinus sylvestris*) razlichnykh selektsionnykh kategorii [ISSR-analysis of *Pinus sylvestris* pine trees of different breeding categories]. *Nauch. zhurn. KubGAU* [Scientific J. KubSAU]. 2012. No. 82(08). P. 1–13.

Semerikova S. A., Semerikov V. L. The diversity of chloroplast microsatellite loci in Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.) and two Far East fir species *A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim. and *A. sachalinensis* Fr. Schmidt. *Russ. J. of Genetics*. 2007. Vol. 43, no. 12. P. 1373–1381. doi: 10.1134/s102279540712006x

Yakovlev I. A., Kleinshmit J. Genetic differentiation of pedunculate oak *Quercus robur* L. in the European part of Russia based on RAPD markers. *Russ. J. of Genetics*. 2002. Vol. 38, no. 2. P. 148–155.

Yanbaev R. Y. Analiz lesovosstanovitel'nykh protsessov v dubravakh Yuzhnogo Urala s primeneniem molekulyarno-biologicheskikh metodov issledovaniya [Analysis of reforestation processes in the oak forests of the Southern Urals using molecular biological methods]: Summary of PhD (Cand. of Agrical.) thesis. Ufa, 2017. 19 p.

Alden J., Loopstra C. Genetic diversity and population structure of *Picea glauca* on an altitudinal gradient in interior Alaska. *Can. J. Forest Res.* 1987. Vol. 17. P. 1519–1526. doi: 10.1139/x87-234

Elsik C. G., Minihan V. T., Hall S. E., Scarpa A. M., Williams C. G. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. *Genome*. 2000. Vol. 43. P. 550–555. doi: 10.1139/g00-002

Hui-Yu L., Jing J., Gui-Frng L., Xu-Jun M., Jing-Xiang D., Shi-Jie L. Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers. *J. Forest Res.* 2005. Vol. 16, no. 3. P. 216–218. doi: 10.1007/bf02856818

Nei M. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 1972. Vol. 106. P. 283–292. doi: 10.1086/282771

Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*. 2006. Vol. 6, no. 1. P. 288–295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Rajora O. P., DeVerno L., Mosseler A., Innes D. J. Genetic diversity and population structure of disjunct Newfoundland and central Ontario populations of eastern white pine (*Pinus strobus*). *Can. J. Bot.* 1998. Vol. 76, no. 3. P. 500–508. doi: 10.1139/b98-021

Ranger M., Nkongolo K. K., Michael P., Beckett P. Genetic Differentiation of Jack Pine (*Pinus banksiana*) and Red Pine (*P. resinosa*) Populations From Metal Contaminated Areas in Northern Ontario (Canada) Using ISSR Markers. *Silvae Genetica*. 2008. Vol. 57, no. 6. P. 333–340. doi: 10.1515/sg-2008-0049

Rubio-Moraga A., Candel-Perez D., Lucas-Borja M. E., Tiscar P. A., Viñegla B., Linares J. C., Gómez-Gómez L., Ahrazem O. Genetic diversity of *Pinus nigra* Arn. populations in Southern Spain and Northern Morocco revealed by inter-simple sequence repeat profiles. *J. Mol. Sci.* 2012. Vol. 13, no. 5. P. 5645–5658. doi: 10.3390/ijms13055645

Sneath P. H. A., Sokal R. R. Numerical Taxonomy. The Principles and Practice of Numerical Classification. San Francisco: W. H. Freeman and Co., 1973. 549 p.

Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. *Mol. Ecol.* 1998. Vol. 7. P. 1260–1261.

Van Oosterhout C., Hutchinson W., Wills D., Shipley P. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Resour.* 2004. No. 4. P. 535–538. doi: 10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x

Varsha A. P., Parasharami A., Thengane Shubhada R. Inter population genetic diversity analysis using ISSR markers in *Pinus roxburghii* (Sarg.) from Indian provenances. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 2012. Vol. 4, no. 5. P. 219–227. doi: 10.5897/ijbc.11.23

Received April 11, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ильинов Алексей Алексеевич

старший научный сотрудник лаб. лесных биотехнологий,
к. с.-х. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: ialexa33@yandex.ru
тел.: +79114261164

Раевский Борис Владимирович

старший научный сотрудник лаб. лесных биотехнологий,
д. с.-х. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: borisraevsky@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Ilinov, Aleksey

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: ialexa33@yandex.ru
tel.: +79114261164

Raevsky, Boris

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: borisraevsky@gmail.com

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 отдельные выпуски 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, ученые 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 TIFF (*.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 бесплатных онлайн-сервисов транслитерации, вариант BSI.

Внимание! С 2015 года каждой статье, публикуемой в «Трудах Карельского научного центра РАН», редакцией присваивается уникальный идентификационный номер цифрового объекта (DOI) и статья включается в базу данных Crossref. **Обязательным условием является указание в списках литературы DOI для тех работ, у которых он есть.**

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ 1-Й СТРАНИЦЫ

УДК 631.53.027.32:635.63

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПРЕДПОСЕВНОГО ЗАКАЛИВАНИЯ СЕМЯН НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

Е. Г. Шерудило¹, М. И. Сысоева¹, Г. Н. Алексейчук², Е. Ф. Марковская¹

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН

²Институт экспериментальной ботаники НАН Республики Беларусь им. В. Ф. Купревича

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; кратковременное снижение температуры; устойчивость.

E. G. Sherudilo, M. I. Sysoeva, G. N. Alekseichuk, E. F. Markovskaya. EFFECTS OF DIFFERENT REGIMES OF SEED HARDENING ON COLD RESISTANCE IN CUCUMBER PLANTS

Аннотация на английском языке

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:

(a) – 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 konkurentsia 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 vozdeistviyu [Hydrogeochemical criteria of the state of surface water in humid zone and their tolerance to anthropogenic impact]: DSc (Dr. of Chem.) thesis. Petrozavodsk, 2006. 481 p.

Ссылки на патенты

Патент РФ № 2000130511/28.04.12.2000.

Еськов Д. Н., Серегин А. Г. Оптико-электронный аппарат // Патент России № 2122745. 1998. Бюл. № 33.

В транслитерированном списке литературы:

Patent RF № 2000130511/28. 04. 12. 2000 [Russian patent No. 2000130511/28. December 4, 2000].

Es'kov D. N., Seregin A. G. Optiko-elektronnyi apparat [Optoelectronic apparatus]. Patent Rossii № 2122745 [Russian patent No. 2122745]. 1998. Bulletin No. 33.

Ссылки на архивные материалы

Гребенщиков Я. П. К небольшому курсу по библиографии: материалы и заметки, 26 февр. – 10 марта 1924 г. // ОР РНБ. Ф. 41. Ед. хр. 45. Л. 1–10.

В транслитерированном списке литературы:

Grebenshchikov Ya. P. K nebol'shomu kursu po bibliografii: materialy i zametki, 26 fevr. – 10 marta 1924 g. [Brief course on bibliography: the materials and notes, Febr. 26 – March 10, 1924]. OR RNB. F. 41. St. un. 45. L. 1–10.

Ссылки на интернет-ресурсы

Паринов С. И., Ляпунов В. М., Пузырев Р. Л. Система Соционет как платформа для разработки научных информационных ресурсов и онлайн-сервисов // Электрон. б-ки. 2003. Т. 6, вып. 1. URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (дата обращения: 25.12.2015).

Демография. Официальная статистика / Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. URL: <http://www.gks.ru/> (дата обращения: 25.12.2015).

В транслитерированном списке литературы:

Parinov S. I., Lyapunov V. M., Puzyrev R. L. Sistema Sotsionet kak platforma dlya razrabotki nauchnykh informatsionnykh resursov i onlainovykh servisov [Socionet as a platform for development of scientific information resources and online services]. *Elektron. b-ki [Digital library]*. 2003. Vol. 6, iss. 1. URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (accessed: 25.11.2006).

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

N. L. Rendakov. SOME ASPECTS OF STEROID REGULATION IN TELEOSTS	3
--	---

ORIGINAL PAPERS

E. S. Kholoptseva, V. V. Talanova. THE EFFECT OF LOW TEMPERATURE AND CADMIUM ON THE PHOTORESPIRATION RATE OF WHEAT SEEDLINGS	22
--	----

O. S. Serebryakova, L. V. Vetchinnikova. LIPID FATTY ACID COMPOSITION IN MALE INFLORESCENCES OF <i>BETULA PENDULA</i> ROTH IN SPRING.....	30
---	----

I. A. Nilova, A. F. Titov, L. V. Topchieva. THE INFLUENCE OF HIGH TEMPERATURES ON SOME PHYSIOLOGICAL INDICES AND THE CONTENT OF <i>HSP70</i> , <i>BIP</i> , <i>IRE1</i> GENES mRNA IN WHEAT LEAVES	40
--	----

Yu. A. Shustov, V. V. Gorbach, I. A. Tyrkin. SEASONAL CHANGES IN THE STAMINA OF THE EUROPEAN PERCH (<i>PERCA FLUVIATILIS</i> LINNAEUS, 1758)	51
---	----

L. V. Topchieva, V. A. Korneva, I. V. Kurbatova. ASSOCIATION OF THE POLYMORPHIC VARIANT RS1061622 OF THE <i>TNFRSF1</i> GENE WITH GENETIC PREDISPOSITION TO ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION AND CHANGES IN THE BLOOD LIPID PROFILE	59
--	----

K. M. Nikerova, N. A. Galibina, Yu. L. Moshchenskaya, L. L. Novitskaya, M. N. Podgornaya, I. N. Sofronova. THE ANTIOXIDANT ENZYMES – INDICATORS OF DIFFERENT XYLOGENESIS SCENARIOS: IN EARLY ONTOGENY AND IN ADULT PLANTS (EXAMPLE OF <i>BETULA PENDULA</i> ROTH)	68
---	----

N. N. Fokina, I. V. Sukhovskaya, T. R. Ruokolainen, A. A. Kochneva, I. N. Bakhmet, K. E. Nikolaev, I. A. Levakin. ASSESSMENT OF THE LIPID COMPOSITION AND SOME COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN BLUE MUSSELS <i>MYTILUS EDULIS</i> EXPERIMENTALLY INFECTED WITH <i>HIMASTHLA ELONGATA</i> METACERCARIAE.	81
--	----

SHORT COMMUNICATIONS

O. B. Vasil'eva, M. A. Nazarova, N. V. Ilmast, N. N. Nemova. LIPIDS OF FISH FROM LAKE ONEGO AREAS WITH DIFFERENT LEVELS OF ANTHROPOGENIC POLLUTION.....	95
---	----

N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, G. F. Laidinen, A. F. Titov. THE EFFECT OF SHORT-TERM CHILLING ON THE WATER METABOLISM IN WHEAT AS RELATED TO OPTIMAL AND EXCESSIVE ZINC CONTENT	103
--	-----

A. G. Borisova. THROMBOGENICITY OF SHUNGITE CARBON NANOPARTICLES <i>IN VITRO</i>	109
--	-----

E. G. Sherudilo, T. G. Shibaeva. EFFECT OF A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP ON THE COLD TOLERANCE OF LEAVES OF DIFFERENT AGE	115
---	-----

A. A. Ilinov, B. V. Raevsky. ANALYSIS OF THE <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. PLUS TREE GENE POOL IN KARELIA USING MICROSATELLITE LOCI.	124
--	-----

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	135
--------------------------------	-----

Научное издание

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 6, 2018

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

*Печатается по решению Ученого совета
Федерального исследовательского центра
«Карельский научный центр Российской академии наук»*

Выходит 12 раз в год

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций
Регистрационная запись ПИ № ФС 77-72429 от 28.02.2018 г.

Редактор А. И. Мокеева
Компьютерная верстка Г. О. Предтеченский

Подписано в печать 08.06.2018. Дата выхода 30.06.2018. Формат 60x84¹/₈.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 16,1. Усл. печ. л. 16,5.
Тираж 100 экз. Заказ 495. Цена свободная

Учредитель и издатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук»
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