

Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр
Российской академии наук»

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 12, 2019

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2019

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. ХЁЛЬТТЯ, доктор геологии, проф. (Финляндия); К. ШАЕВСКИЙ, доктор математики, проф. (Польша); В. В. ЩИПЦОВ, д. г.-м. н., проф.

Редакционная коллегия серии «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ»

А. М. АНДРЕЕВА, д. б. н.; Т. О. ВОЛКОВА, д. б. н.; 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.; А. Ю. МЕЙГАЛ, д. м. н., проф.; 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.; Н. П. ШАРОВА, д. б. н.

Издается с января 2009 г.

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>; <http://journals.krc.karelia.ru>

© ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 2019
© Институт биологии КарНЦ РАН, 2019
© Институт леса КарНЦ РАН, 2019

Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences

TRANSACTIONS

**of the KARELIAN RESEARCH CENTRE
of the RUSSIAN ACADEMY of SCIENCES**

No. 12, 2019

EXPERIMENTAL BIOLOGY

Petrozavodsk
2019

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.

Editorial Board of the Experimental Biology Series

A. M. ANDREEVA, DSc (Biol.); 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.; A. Yu. MEIGAL, DSc (Med.), Prof.; N. N. NEMOVA (Editor-in-Charge), RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.); L. L. NOVITSKAYA, DSc (Biol.); E. K. OLEJNIK, DSc (Biol.), Assistant Prof.; N. P. SHAROVA, DSc (Biol.); L. P. SMIRNOV, DSc (Biol.); L. V. TOPCHIEVA (Executive Secretary), PhD (Biol.); T. O. VOLKOVA, DSc (Biol.)

Published since January 2009

Monthly

Editorial Office address: 11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

Tel. (8142)762018; fax (8142)769600

E-mail: trudy@krc.karelia.ru

Full-text electronic version: <http://transactions.krc.karelia.ru>; <http://journals.krc.karelia.ru>

© Karelian Research Centre, Russian Academy
of Sciences, 2019

© Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences, 2019

© Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences, 2019

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.3:576.5

СОМАТИЧЕСКИЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Е. В. Новичонок^{1,2}, Н. А. Галибина^{1,2}, Б. В. Раевский^{1,2}, М. А. Ершова¹

¹ Отдел комплексных научных исследований ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
Петрозаводск, Россия

² Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

В обзоре представлена информация об особенностях селекции и селекционного семеноводства сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) как одного из наиболее хозяйственно ценных древесных видов Евразии. Соматический эмбриогенез – перспективный биотехнологический метод, позволяющий массово размножать ценные особи, полученные в процессе реализации селекционных программ. На примере разных представителей рода *Pinus* описаны основные этапы соматического эмбриогенеза. Рассмотрено влияние условий и срока культивирования на эффективность соматического эмбриогенеза и последующее развитие соматических зародышей в растения-регенеранты. Особое внимание уделено рассмотрению особенностей роста и физиологии клонов сосны в полевых условиях.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*; плюсовая селекция; лесосеменные плантации; генетическая оценка; полевые испытания; соматические зародыши; условия культивирования.

E. V. Novichonok, N. A. Galibina, B. V. Raevsky, M. A. Ershova. SOMATIC EMBRYOGENESIS IN SCOTS PINE: STATE OF KNOWLEDGE, AND PROSPECTIVE APPLICATIONS IN FORESTRY

This review provides information on the approaches to selection and seed-orchard breeding of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) as a key commercial tree species in Eurasia. Somatic embryogenesis is an emerging biotechnique allowing for mass propagation of valuable specimens obtained through implementation of selection programs. The main stages of somatic embryogenesis are described for different species of the genus *Pinus*. The influence of the conditions and duration of cultivation on the performance of somatic embryogenesis and the subsequent transformation of somatic embryos into plants are considered. Special focus is on the growth and physiology of pine clones in the field.

Keywords: *Pinus sylvestris*; plus tree selection; seed orchards; genetic assessment; field testing; somatic embryos; culture conditions.

Введение

Сосна обыкновенная является одним из ключевых видов лесных экосистем бореальной зоны Евразии и одной из наиболее хозяйственно ценных древесных пород мира. Ее древесина широко востребована, особенно в странах Северной Европы [Durrant et al., 2016]. Сосновые леса занимают 64,5 % всей покрытой лесом площади Республики Карелия и играют важнейшую эколого-экономическую роль в региональном масштабе [Ананьев, Сорока, 2009].

Система селекционного семеноводства основных лесообразующих пород, базирующаяся на современных достижениях биотехнологии, лесной генетики и плюсовой селекции, представляет собой наиболее наукоемкое и высокотехнологическое направление лесного хозяйства [Указания..., 2000; Jansson et al., 2017]. В настоящее время для размножения и селекции сосны обыкновенной наряду с традиционными начинают применять и биотехнологические методы, которые позволяют наиболее полно реализовать потенциал размножения данного растительного организма [Aronen et al., 2009; Третьякова, 2013; Thompson, 2014]. Одним из перспективных методов в лесной биотехнологии, позволяющим ускоренно получать посадочный материал основных лесообразующих пород, является соматический эмбриогенез (СЭ).

СЭ – вегетативный способ массового размножения растений, основанный на присущей клеткам растений тотипотентности и способности к регенерации, т. е. восстановлению целого организма из его части. СЭ включает четыре этапа: (1) инициация – клетки экспланта дедифференцируются и превращаются в эмбриональные; (2) пролиферация – формирование соматических эмбриоидов из эмбриональных клеток; (3) созревание – рост и развитие соматических зародышей и (4) прорастание соматических зародышей.

Возможность получения растений путем СЭ для *Pinus sylvestris* была впервые показана К. Keinonen-Mettälä с коллегами [1996]. Несмотря на то что для сосны обыкновенной разработаны подробные протоколы для введения в культуру и получения соматических клонов [Park et al., 2006, 2016; Lelu-Walter et al., 2008; Abrahamsson et al., 2018], она, по сравнению с другими представителями рода *Pinus*, остается трудным для размножения путем СЭ видом. К настоящему моменту соматические зародыши или растения-регенеранты получены для 34 видов рода *Pinus* [Шуклина, Третьякова, 2019]. Несмотря на активные исследования в этом

направлении, как в России (группа исследователей под руководством профессора И. Н. Третьяковой, Институт леса СО РАН, Красноярск), так и за рубежом (Т. Aronen, Н. Häggman, К. Niemi коллегами, Finnish Forest Research Institute, Finland; М.-А. Lelu-Walter, INRA, France), оптимизация протоколов получения соматических зародышей для сосны обыкновенной до сих пор актуальна.

В настоящей работе обобщена информация об особенностях селекции и семеноводства сосны обыкновенной, особое внимание уделено описанию соматического эмбриогенеза как перспективного биотехнологического метода ускоренного получения посадочного материала.

Создание лесосеменных плантаций

Система плюсовой селекции основных лесообразующих видов, в том числе сосны обыкновенной, практикуется на территории России с конца 60-х годов XX века [Раевский и др., 2018]. К традиционным способам массового получения ценных по наследственным свойствам семян лесных растений относят создание лесосеменных плантаций (ЛСП). В зависимости от этапа селекции ЛСП делятся на категории [Указания..., 2000].

ЛСП первого порядка (ЛСП I) – это плантации, создаваемые вегетативным или семенным материалом от плюсовых деревьев, отобранных по фенотипическим признакам и не прошедших генетическую оценку по семенному потомству в испытательных культурах.

Генетическую ценность плюсовых деревьев и лучших деревьев ЛСП I определяют по общей (ОКС) или специфической (СКС) комбинационной способности. ОКС представляет собой величину превышения показателя исследуемого признака над контролем у семенного потомства, полученного от свободного опыления лучших деревьев. СКС рассчитывается как величина превышения целевого показателя у потомства, полученного от конкретной комбинации контролируемого скрещивания с определенным партнером того же или другого вида [Указания..., 2000]. Согласно Правилам создания и выделения объектов лесного семеноводства, утвержденным приказом Минприроды России от 20.10.2015, оценка семенных потомств в испытательных культурах включает несколько этапов. Предварительная оценка осуществляется по достижении потомствами половины II класса возраста (для сосны 21–40 лет), а окончательная оценка – в возрасте потомств не менее ½ возраста рубки в зависимости от класса бонитета (для сосны 80–100 лет). Деревья, облада-

ющие высокой комбинационной способностью, выделяют в качестве элитных.

ЛСП повышенной генетической ценности (ЛСП I,5) – это плантации, создаваемые по результатам предварительной генетической оценки (не менее 5–7 лет) потомств лучших деревьев ЛСП I с учетом данных по репродуктивной способности материнских клонов. Их создают в качестве промежуточного этапа между ЛСП I и II порядков в целях сохранения непрерывности селекционного процесса и использования первичного селекционного эффекта в практических целях.

ЛСП второго порядка (ЛСП II) – плантации, создаваемые вегетативным потомством элитных деревьев, обладающих высокой ОКС по результатам окончательной оценки в испытательных культурах. Считается, что ЛСП II позволяют повысить продуктивность искусственных насаждений на 20–30 % за счет высокого коэффициента наследуемости.

ЛСП третьего порядка (ЛСП III) – плантации, материалом для создания которых служат родительские пары элитных деревьев, обладающих высокой СКС. Семена, полученные с таких плантаций, можно назвать суперэлитными.

Семена лесных растений в зависимости от наследственных свойств подразделяют на категории: нормальные, улучшенные и сортовые. Согласно европейской терминологии семена, заготовленные с деревьев в насаждениях (в том числе на лесосеках), относят к нормальной селекционной категории (Source-identified); на ЛСП I – к улучшенной селекционной категории (Qualified); на ЛСП I,5 и II порядка – к сортовым (Tested).

Создание прививочных лесосеменных плантаций в Скандинавии и Финляндии началось с конца 1940-х годов. В настоящее время в Швеции создаются ЛСП III, в Финляндии – I,5 порядка [Jansson et al., 2017]. Основными объектами селекционных программ в Швеции и Финляндии являются *Pinus sylvestris* и *Picea abies*. Доля саженцев, выращенных из семян ЛСП, в Финляндии составляет для сосны обыкновенной свыше 60 %, для ели европейской – от 20 до 70 % в зависимости от колебания урожайности семян; в Швеции – 95 и 67 % соответственно [Jansson et al., 2017]. Многолетние наблюдения при проведении полевых испытаний позволили выбрать наиболее эффективный период их проведения, когда наследуемые черты интересующих признаков проявляются в полной мере [Review..., 2011]. Имеющийся опыт показывает, что измерения можно проводить в возрасте, составляющем ~ 20 % от возраста рубки главного пользования

(80–100 лет). Подобный подход к испытательным культурам сокращает общий срок генетической оценки до 16–20 лет.

Оценки, приведенные для Финляндии и Швеции, показывают, что использование саженцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies*, выращенных из семян с ЛСП I, может дать увеличение производительности насаждения ($\text{м}^3/\text{га}$) до 10 %, а из семян с ЛСП III – до 25 %. Использование генетически улучшенного материала может привести к сокращению оборота рубки на срок до 25 лет для *Pinus sylvestris* и на 5–10 лет для *Picea abies*. Таким образом, использование генетически улучшенного материала приводит к увеличению скорости роста деревьев при относительно низких объемах инвестиций [Simonssen et al., 2010]. Внутренняя норма прибыли при этом составляет 5,2–8,3 и 4,6–8,9 % для *Pinus sylvestris* и *Picea abies* соответственно [Jansson, 2007; Kvaalen, 2010; Simonssen et al., 2010; Ahtikoski et al., 2013; Haapanen et al., 2016, цит. по: Jansson et al., 2017].

В Карелии в последней четверти XX века при реализации системы плюсовой селекции основных лесобразующих видов (сосны обыкновенной и ели финской) были созданы 6 прививочных ЛСП I общей площадью около 454 га, в том числе сосны обыкновенной – 365 га [Ильинов, Раевский, 2015]. В настоящее время назрел переход к ЛСП I,5 и II порядка, которые должны стать источником существенно улучшенных генетически семян [Раевский и др., 2018]. Однако, как уже было сказано выше, согласно действующим нормативно-правовым документам, общий срок генетической оценки плюсовых деревьев с ЛСП I очень велик и составляет в среднем 40–50 лет, что делает невозможным его практическое выполнение.

Существенно ускорить генетико-селекционные исследования и увеличить количество посадочного материала, получаемого в процессе селекционной работы, возможно с привлечением современного биотехнологического метода – СЭ [Aronen, 2009; Thompson, 2014]. Подобный подход актуален для медленно растущих хвойных древесных видов, в частности для сосны обыкновенной, которая в отличие от других хвойных не поддается вегетативному размножению укорененными черенками.

Основные этапы соматического эмбриогенеза

Инициация эмбриогенных культур

Инициация, первый этап СЭ, – введение в культуру эксплантов (зародышей из семян)

и формирование эмбрионного каллуса. У видов рода *Pinus* в качестве эксплантов обычно используют незрелые зиготические зародыши до стадии дифференцировки семядолей, при этом используют либо целые мегагаметофиты, либо изолированные зародыши [Abrahamsson et al., 2018]. Низкая частота инициации эмбрионной культуры, характерная для *Pinus sylvestris* [Lelu-Walter et al., 2016], остается одной из центральных проблем, не позволяющих использовать СЭ для массового размножения этого вида. Значения данного показателя варьируют от 0,2 до 42 % [Krakau et al., 2013] и сильно зависят от стадии развития зиготического зародыша и генотипа деревьев-доноров [Häggman et al., 1999; Lelu et al., 1999; Park et al., 2006; Lelu-Walter et al., 2008; Aronen et al., 2009; Krakau et al., 2013]. Считается, что у *Pinus sylvestris* инициация соматического эмбриогенеза возможна только из изолированных незрелых зародышей [Keinonen-Mettälä et al., 1996; Park et al., 2006; Lelu-Walter et al., 2008; Abrahamsson et al., 2018]. При этом ведущее влияние оказывает генотип материнского растения [Niskanen et al., 2004]. Отмечается, что существуют генотипы, не поддающиеся введению в культуру и не формирующие эмбрионного каллуса [Aronen et al., 2009].

После сбора шишек либо зародыши сразу вводятся в культуру *in vitro*, либо шишки могут храниться при низкой положительной температуре (+3...+5 °C) как минимум 40 суток без потери способности зародышей формировать эмбрионный каллус [Häggman et al., 1999; Park, 2002]. При этом хранение шишек может положительно влиять на процесс СЭ. Показано увеличение частоты инициации СЭ и количества соматических эмбрионов при хранении шишек в течение 1–2 месяцев при температуре 4 °C [Montalbán et al., 2015]. Хранение шишек в течение длительного времени (более 2 месяцев) и при более низкой температуре (–3 °C) приводит к снижению частоты инициации [Park, 2002; Montalbán et al., 2015].

Для инициации СЭ хвойных, в том числе видов рода *Pinus*, используют базовые среды – LM [Litvay et al., 1985], MS [Murashige, Skoog, 1962] и DCR [Gupta, Durzan, 1985; Montalbán et al., 2016; Abrahamsson et al., 2018; Bonga et al., 2018]. Обычно на стадии инициации в среду в качестве регуляторов роста добавляют ауксины (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, 2,4-D) и цитокинины (6-бензиладенин, BA). Проблема низкой частоты инициации может быть решена путем модификации состава используемых сред и условий культивирования. Снижение концентрации ауксинов и цитокини-

нов (2,2 вместо 9,5 μM для 2,4-D и 2,2 вместо 4,5 μM для BA) в среде привело к увеличению частоты инициации *Pinus sylvestris* [Lelu-Walter et al., 2008]. М.-А. Lelu с коллегами [1999] выявили, что для определенных генотипов *Pinus sylvestris* для инициации СЭ лучше подходит среда без регуляторов роста. Park с соавторами [2006] показали увеличение частоты инициации эмбрионных культур *Pinus banksiana* при добавлении в среду форхлорфенурона (CPPU, сильнодействующий цитокинин) вместо 2,4-D и BA. Однако положительного влияния CPPU на инициацию эмбрионных культур *Pinus sylvestris* отмечено не было [Park et al., 2006].

Условия окружающей среды (температура и доступность воды) существенно влияют на успешность инициации [Montalbán et al., 2016]. При этом влияние факторов среды определяется видовыми особенностями. Для *Pinus halapensis* максимальная частота инициации отмечалась при температуре 23 °C [Pereira et al., 2016], для *Pinus radiata* – при температуре 18 °C [García-Mendiguren et al., 2016]. Более низкая доступность воды (более высокая концентрация геллановой камеди в среде, 4 г · л⁻¹) приводит к увеличению частоты инициации у *Pinus radiata* и *Pinus halapensis* [García-Mendiguren et al., 2016; Pereira et al., 2016]. В то же время М. R. Весвар с коллегами [1995] для многих видов рода *Pinus* отмечают противоположное влияние геллановой камеди на частоту инициации.

Показателем успешной инициации служит формирование белого или прозрачного волокнистого эмбрионного каллуса, состоящего из отдельных клеток, клеточных скоплений или даже ранних соматических зародышей [Шуклина, Третьякова, 2019].

Пролиферация эмбрионных культур

После инициации эмбрионные культуры, состоящие из глобулярных зародышей и суспензоров (эмбрионально-суспензорная масса), перемещают на среду пролиферации или среду поддержания. Эмбрионные культуры видов рода *Pinus* можно поддерживать в пролиферирующем состоянии на твердой, полутвердой (гелеобразной) или в жидкой среде в виде суспензионных культур [Весвар, Pullman, 2015]. При этом необходимы пересадки пролиферирующих культур каждые 12–21 сутки. Однако при длительном субкультивировании отмечается снижение эмбрионного потенциала [Весвар, Pullman, 2015; Шуклина, Третьякова, 2019].

Скорость пролиферации, число и качество формирующихся в дальнейшем соматических зародышей зависит от состава среды и типа культивирования. Для *Pinus sylvestris* было показано влияние состава пролиферационной среды на морфологию эмбрионов [Keinonen-Mettälä et al., 1996]. Хорошо развитые соматические эмбрионы были получены на DCR-среде, в то время как на DG-среде [Durzan, Gupta, 1987] зародыши полностью дегенерировали в течение четырех недель. Aronen с соавторами [2009] предложили проводить пролиферацию на фильтровальной бумаге. При таком способе образуется меньше эмбрионов, чем при пролиферации в виде скопления ткани на твердой среде, но формируются преимущественно зародыши «тонкого» типа, для которых характерно лучшее созревание и прорастание (см. ниже). Полученные результаты могут быть связаны с более равномерным осмотическим, питательным и энергетическим статусом эмбрионально-суспензорной массы в тонком слое по сравнению со скоплениями ткани [Aronen et al., 2009]. М.-А. Lelu-Walter с коллегами [2008] предлагают культивировать культуру на фильтровальной бумаге на поверхности полутвердой среды.

К. Niemi с коллегами [1998] показали возможность увеличения скорости пролиферации медленно растущих клеточных линий *Pinus sylvestris* при их культивировании вместе с грибами-микоризообразователями *Laccaria proxima* и *Suillus variegatus*. Причина индукции пролиферации точно не известна, но может быть связана с поставкой в среду фитогормонов, в частности ауксинов, которые производят эктомикоризные грибы. В то же время культивирование быстро пролиферирующих линий вместе с эктомикоризными грибами приводило к снижению скорости роста. Авторы предполагают, что использование штаммов грибов, которые показывают положительную реакцию с пролиферирующими культурами, может быть полезным при работе на более поздних стадиях процесса СЭ (прорастание и укоренение) [Niemi et al., 1998].

Созревание и прорастание соматических зародышей

Созревание соматических зародышей – это процесс гистологической дифференциации незрелых (ранних) зародышей, в результате чего происходит формирование семядолей, зародышевого корешка и других органов и тканей, характерных для зрелого зародыша. Чтобы остановить пролиферацию и запустить пере-

ход от глобулярных зародышей эмбрионально-суспензорной массы к соматическим зародышам, необходимо предварительное культивирование эксплантов на безгормональной среде с добавлением активированного угля. Затем эмбриогенные культуры переносят на базовые питательные среды без ауксинов и цитокининов, но с добавлением абсцизовой кислоты (АБК). Важное значение в этом процессе приобретает снижение водного потенциала и высушивание пролиферирующей ткани [Шуклина, Третьякова, 2019].

Добавление активированного угля контролирует гормональный баланс и адсорбирует нежелательные компоненты [Шуклина, Третьякова, 2019]. Покрытие культур сосны обыкновенной активированным углем привело к увеличению числа соматических зародышей в 2,1 раза у 24-недельной культуры. На 8-недельную культуру эта обработка не оказывала влияния [Lelu-Walter et al., 2008]. Высокая концентрация геллановой камеди в среде уменьшала доступность воды и оказывала положительное влияние на созревание соматических зародышей *Pinus sylvestris* [Klimaszewska, Smith, 1997; Lelu et al., 1999].

АБК регулирует процессы созревания соматических зародышей как у покрытосеменных, так и у голосеменных растений [Rai et al., 2011]. Оптимальное время воздействия и концентрации АБК в среде, применяемые для созревания эмбрионов, у видов рода *Pinus* значительно различаются и должны быть определены опытным путем [Aronen et al., 2009]. Совместное применение АБК и ПЭГ стало обычным методом стимуляции созревания соматических зародышей различных видов хвойных растений [Bozhkov, Arnold, 2002].

Было показано положительное влияние высокого содержания АБК в среде на созревание соматических зародышей *Pinus sylvestris* [Lelu et al., 1999; Lelu-Walter et al., 2008; Aronen et al., 2009]. Сходные результаты были получены и для других хвойных. Добавление в среду АБК в концентрации 60 μM приводит к увеличению числа семядольных соматических зародышей, по сравнению с аномальными по строению зародышами в культуре *Pinus sylvestris* [Lelu et al., 1999]. Впоследствии зародыши с аномальным строением не прорастали. Частота прорастания семядольных соматических зародышей составила 72 % [Lelu et al., 1999]. Влияние концентрации АБК в среде на созревание соматических зародышей зависит от концентрации сахарозы. При содержании в среде 0,2 М сахарозы количество зрелых соматических зародышей на 30 % выше при 80 μM АБК, чем



Прорастание зародышей сосны обыкновенной «тонкого» (А) и «толстого» (В) типа на MB5 среде. Формирование хорошо развитого корня у зародышей «тонкого» типа и прекращение развития зародышей «толстого» типа после переноса прорастающих зародышей на MB6 среду (С) [по: Aronen et al., 2009]

Regeneration of Scots pine plants through somatic embryogenesis. Germination of (A) slim-type and (B) stub-type embryos on MB5 tissue culture medium. (C) Formation of well-developed root in the slim embryos and stagnation of development of the stub embryos after the transfer of germinating embryos on the MB6 medium [after: Aronen et al., 2009]

при 120 μ M. Однако при концентрации сахаразы в среде 0,1 М АБК не оказывает влияние на созревание соматических зародышей [Lelu-Walter et al., 2008]. Несмотря на важную роль АБК в процессе созревания, для сосны обыкновенной было отмечено спонтанное созревание соматических зародышей на среде без регуляторов роста и дальнейшее их прорастание с частотой 40 % [Lelu et al., 1999]. Помимо состава среды процесс созревания соматических зародышей *Pinus sylvestris* зависит от возраста культуры и генотипа [Lelu-Walter et al., 2008].

На прорастание зародышей и их дальнейший рост могут оказывать влияние обработки, проводимые во время фазы *in vitro* и во время фазы адаптации *ex vitro* [Högberg et al., 2001]. Для *Picea abies* показано отрицательное влияние добавления ПЭГ в среду на стадии созревания на прорастание соматических зародышей в дальнейшем, а также на рост зародышевого корня и формирование боковых корней в условиях *ex vitro* [Bozhkov, Arnold, 2002]. Продолжительность контакта с АБК во время созревания соматического зародыша и продолжительность непрерывного освещения в течение периода адаптации отрицательно влияют на выживаемость и рост растений-регенерантов *Picea abies* [Högberg et al., 2001].

Для *Pinus sylvestris* этот вопрос практически не изучен экспериментально. Результаты, полученные финскими исследователями, не согласуются с данными, полученными для *Picea abies*. Aronen с соавторами [2009] показали положительное влияние высокого содержания АБК в среде на созревание соматических зародышей, их качество, прорастание и выживаемость. В среде с высоким содержанием АБК формировалось больше зародышей «тонкого»

типа (рис.). Зародыши «тонкого» типа, по сравнению с зародышами «толстого» типа, быстро прорастают, их выживаемость в течение первого года значительно выше, в то время как зародыши «толстого» типа развиваются медленно и часто не формируют корней. Авторы отмечают, что контроль качества соматических зародышей, выбранных для прорастания, является одним из ключевых факторов, определяющих успешность применения метода СЭ для размножения *Pinus sylvestris* [Aronen et al., 2009]. Однако даже хорошо развитые эмбрионы «тонкого» типа плохо прорастают, если они долго находятся на среде для созревания. Это связано с накоплением этилена в среде, который отрицательно влияет на прорастание зародышей, и уменьшением количества запасных белков [Aronen et al., 2009].

Культивирование вместе с грибом *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker и Couch способно улучшать прорастание соматических зародышей *Pinus sylvestris* [Niemi, Häggman, 2002]. При этом мицелий не находится в непосредственном контакте с прорастающими зародышами, что указывает на связь улучшения прорастания с соединениями, синтезируемыми грибами, возможно, индолилуксусной кислотой и диаминами. Инокуляция с эктомикоризным грибом *Pisolithus tinctorius* *in vitro* улучшает адаптацию растений, полученных путем СЭ, хотя формирование микоризных структур не отмечалось [Niemi, Häggman, 2002].

После прорастания соматические растения *Pinus sylvestris* помещают в сосуды с торфом и вермикулитом (в соотношении 1:3) и держат 2–3 недели в условиях высокой влажности воздуха. Затем влажность постепенно снижают [Keinonen-Mettälä et al., 1996; Lelu-Walter et al.,

2008]. Для растений *Pinus sylvestris* выживаемость через 4 месяца варьировала от 59 до 84 % [Lelu-Walter et al., 2008]. После акклиматизации растения пересаживают в питомник [Lelu-Walter et al., 2008].

Криоконсервация

Генетическая оценка клонов в конечном итоге может быть дана только путем полевых испытаний, на которые требуется минимум 5–10 лет. После создания эмбриогенных культур для поддержания высокого пролиферационного потенциала и их способности формировать эмбрионы требуется периодическое субкультивирование. Повторные субкультивирования не только являются трудоемкими, но также увеличивают риск потери эмбриогенных культур в результате загрязнения и ошибок [Lambardi et al., 2008]. Кроме этого, при длительном субкультивировании отмечается снижение эмбриогенного потенциала [Весвар, Pullman, 2015]. Длительное субкультивирование, особенно в присутствии регуляторов роста, также приводит к генетическим изменениям [Sarmast, 2016]. Для видов рода *Pinus* была отмечена генетическая нестабильность в культуре *in vitro* и показано, что уровень соматоклональной изменчивости (изменчивость, возникающая в культуре клеток) варьирует среди разных генотипов [O'Brien et al., 1996; Burg et al., 2007; Marum et al., 2009].

Решить проблемы, связанные с субкультивированием и генетической нестабильностью, и поддерживать культуру, способную к пролиферации и формированию зародышей, на протяжении полевых испытаний позволяет криоконсервация. Криоконсервация – хранение материала при очень низкой температуре, обычно в жидком азоте при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ – основана на уменьшении и последующем прекращении метаболической активности клеток [Latutrie, Aronen, 2013].

Для видов рода *Pinus*, в том числе для *Pinus sylvestris*, были разработаны эффективные методы криоконсервации [Häggman et al., 1998; Lambardi et al., 2008] и показана зависимость способности клеточных линий к восстановлению и созреванию от применяемого протокола [Ford et al., 2000; Carneros et al., 2017; Lineros et al., 2018]. С использованием RAPD-анализа показано сохранение генетической стабильности культур *Pinus sylvestris* в процессе криоконсервации [Häggman et al., 1998]. Возможность длительного криосохранения культур и их хорошее восстановление после как минимум 10 лет показана при использовании ДМСО в качестве

криопротектора [Latutrie, Aronen, 2013]. После 2–10 лет криосохранения от 80 до 93 % линий были способны к пролиферации. Однако более длительная криоконсервация (в течение 12 лет) привела к снижению способных к пролиферации линий до 59 %. При этом время криоконсервации не оказывало влияния на скорость пролиферации и способность линий формировать зрелые соматические зародыши. Количество соматических зародышей на 1 г эмбрионально-суспензорной массы уменьшалось с увеличением времени хранения: от 326 шт. $\cdot\text{ г}^{-1}$ через 2 года до 107–111 шт. $\cdot\text{ г}^{-1}$ через 9–10 лет. Однако эти различия были недостоверны [Latutrie, Aronen, 2013].

Таким образом, криоконсервация позволяет восстанавливать растения из генотипов, которые были отобраны в результате длительных клональных и полевых испытаний, и дает возможность массово производить клоны элитных линий для использования в лесном хозяйстве.

Полевые испытания клонов, полученных СЭ

Перед тем как использовать СЭ для массового размножения, необходимо оценить рост и развитие клонов в полевых условиях и сравнить эти показатели с растениями, полученными из семян. Такая оценка позволит охарактеризовать пригодность клонов для потенциального использования в программах лесовосстановления.

Работы, посвященные полевым испытаниям клонов видов рода *Pinus*, немногочисленны. Для *Pinus sylvestris* было показано, что после шести лет роста в полевых условиях 95 % клонов и 97 % контрольных саженцев, выращенных из семян свободного опыления, были живы. Саженцы хорошо развивались и имели нормальный габитус. Через шесть лет контрольные саженцы были выше, чем клоны, в трех из четырех протестированных семейств. Частично разница в высоте может быть объяснена более крупным размером контрольных саженцев на момент посадки [Aronen, 2016]. Сходные данные получены для других видов хвойных [Grossnickle, Major 1994a; Högberg et al., 2003]. Были показаны отличия в скорости роста саженцев разных эмбриогенных линий, что обусловлено генотипическими различиями. Качество зародышей (см. раздел «Созревание и прорастание соматических зародышей») не оказывало влияния на высоту и диаметр саженцев через 6 лет [Aronen, 2016]. Однако автор отмечает, что было исследовано очень мало эмбриогенных линий (13 линий, полученных от 4 деревьев-доноров), и это не позволяет делать окончательных выводов.

Основные различия в скорости роста и производительности СЭ-растений связаны с межклональной изменчивостью. Так, например, для *Picea glauca* и гибрида ели (*Picea glauca* (Moench) Voss × *Picea engelmannii* Parry) было показано, что растения, полученные путем СЭ, имели большую скорость фотосинтеза по сравнению с зиготическими саженцами. При этом отмечались значительные межклональные различия в скорости фотосинтеза, которые были связаны с более сильным развитием корней и биомассой новых корней и NUE фотосинтеза [Grossnickle, Major, 1994b; Lamhamedi et al., 2000]. Наличие межклональной изменчивости позволяет в процессе полевых испытаний отбирать для массового размножения наиболее подходящие под заданные условия клоны.

Помимо межклональной изменчивости для растений, полученных путем СЭ, характерна высокая внутриклональная изменчивость по показателям роста, различным морфологическим и физиологическим переменным [Lamhamedi et al., 2000; Högberg et al., 2003]. Для *Picea sitchensis* показаны существенные различия в скорости роста и высоте растений, полученных путем СЭ от одних родителей. Различия по высоте между клонами достигали 23,3%. В связи с этим необходимо вводить в культуру как можно больше клеточных линий и проводить отбор клеточных линий, которые являются лучшими клонами [Thompson, 2014].

При использовании метода СЭ для массового размножения важна низкая внутриклональная изменчивость. Было показано, что внутриклональная изменчивость может быть уменьшена путем отбора растений-регенерантов по определенным морфологическим показателям [Högberg et al., 2003]. Для *Picea abies* показана прямая зависимость роста растений в полевых условиях от морфологических характеристик растений-регенерантов: длины эпикотила и наличия боковых корней. В то же время длина основного корня не оказывала существенного влияния на рост растений в течение первого года роста в теплице и второго года роста в питомнике [Högberg et al., 2003].

В целом исследования, проведенные на разных видах хвойных, не выявили отрицательного влияния процесса СЭ на рост и развитие растений в дальнейшем. Рост и развитие растений, полученных путем СЭ, различные физиологические и морфологические признаки были сходны со значениями, полученными для растений, выращенных из семян [Grossnickle, Major, 1994b; Lamhamedi et al., 2000; Benowicz et al., 2002; Högberg, 2003].

Заключение

Для создания ЛСП с целью получения улучшенных и сортовых семян требуется длительный промежуток времени. СЭ, как перспективный биотехнологический метод, позволяет ускорить генетико-селекционные работы и может служить основой для создания ЛСП сосны обыкновенной с генетически улучшенным посадочным материалом. На сегодняшний день, однако, некоторые вопросы остаются малоизученными. Поскольку генотип растения-донора может определять способность экплантов формировать соматические зародыши, важным этапом исследований является расширенный поиск растений-доноров, обладающих высоким репродуктивным потенциалом. Условия культуры, продолжительность культивирования, применение регуляторов роста могут приводить к различным изменениям в кариотипе растений, в частности к увеличению частоты мутаций. Для выявления соматической изменчивости особое внимание следует уделять цитогенетическому исследованию эмбрионных клеточных линий. Таким образом, этапы протекания СЭ у сосны обыкновенной требуют дальнейшего исследования с привлечением современных знаний в области молекулярно-генетических механизмов роста древесных растений, опыта генной инженерии и микроклонального размножения.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0185-2019-0093).

Литература

Ананьев В. А., Сорока А. Н. Структура лесного фонда, динамика и перспективы лесопользования в Карелии // Лесные ресурсы таежной зоны России: проблемы лесопользования и лесовосстановления: Материалы Всерос. науч. конф. с междунар. участием (Петрозаводск, 30 сент. – 3 окт. 2009 г.). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. С. 15–17.

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. 13, № 4. С. 55–67.

Раевский Б. В., Щурова М. Л., Чепик Ф. А. Некоторые результаты селекционно-генетической оценки плюсовых деревьев сосны обыкновенной в испытательных культурах Карелии // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2018. Вып. 224. С. 6–20.

Третьякова И. Н. Эмбрионные клеточные линии и соматический эмбриогенез в культуре *in vitro*

у лиственницы сибирской // ДАН. 2013. Т. 450, № 1. С. 1–4. doi: 10.7868/S0869565213130306

Указания по лесному семеноводству в Российской Федерации. М., 2000. 197 с.

Шуклина А. С., Третьякова И. Н. Соматический эмбриогенез видов рода *Pinus* в культуре *in vitro* // Успехи современной биологии. 2019. Т. 139, № 2. С. 184–195. doi: 10.1134/S004213241902008X

Abrahamsson M., Clapham D., von Arnold S. Step wise protocols for somatic embryogenesis of important woody plants / Eds. S. M. Jain, P. Gupta. Cham, Switzerland: Springer, 2018. Vol. I. P. 123–133.

Ahtikoski A., Salminen H., Ojansuu R., Hynynen J., Kärkkäinen K., Haapanen M. Optimizing stand management involving the effect of genetic gain: preliminary results for Scots pine in Finland // Can. J. For. Res. 2013. Vol. 43, no. 3. P. 299–305. doi: 10.1139/cjfr-2012-0393

Aronen T. Vegetative propagation of forest trees / Eds. Y.-S. Park, J. M. Bonga, H.-K. Moon. Seoul, Korea: Nat. Inst. of Forest Sci., 2016. P. 515–527.

Aronen T., Pehkonen T., Rynnänen L. Enhancement of somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of *Pinus sylvestris* // Scan. J. For. Res. 2009. Vol. 24, no. 5. P. 372–383. doi: 10.1080/02827580903228862

Becwar M. R., Levis E. C., Handley W. III, Rutter M. R. Method for regeneration of coniferous plants by somatic embryogenesis // US Patent 5,413,930. 1995.

Becwar M. R., Pullman G. S. Somatic embryogenesis in woody plants. Forestry Sciences / Eds. S. M. Jain, P. K. Gupta, R. J. Newton. Dordrecht Högborg: Springer, 2015. Vol. 44–46. P. 287–301. doi: 10.1007/978-94-011-0960-4_18

Benowicz A., Grossnickle S. C., El-Kassaby Y. A. Field assessment of Douglas-fir somatic and zygotic seedlings with respect to gas exchange, water relations, and frost hardiness // Can. J. For. Res. 2002. Vol. 32, no. 10. P. 1822–1828. doi: 10.1139/x02-093

Bonga J., Park Y.-S., Ding C. What technical improvements are needed to achieve industrial application of conifer somatic embryogenesis? // Proceed. the Fifth Int. Conf. of the IUFRO Unit 2.09.02: Somatic Embryogenesis and Other Vegetative Propagation Technologies (Coimbra, Portugal, September 10–15, 2018). 2018. P. 4–24.

Bozhkov P. V., von Arnold S. Polyethylene glycol promotes maturation but inhibits further development of *Picea abies* somatic embryos // Physiol. Plantarum. 2002. Vol. 104, no. 2. P. 211–224. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1040209.x

Burg K., Helmersson A., Bozhkov P., von Arnold S. Developmental and genetic variation in nuclear microsatellite stability during somatic embryogenesis in pine // J. Exp. Bot. 2007. Vol. 58, no. 3. P. 687–698. doi: 10.1093/jxb/erl241

Carneros E., Hernández I., Toribio M., Díaz-Sala C., Celestino C. Effect of different cryoprotectant procedures on the recovery and maturation ability of cryopreserved *Pinus pinea* embryogenic lines of different ages // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2017. Vol. 53, no. 5. P. 469–477. doi: 10.1007/s11627-017-9833-6

Durrant T., de Rigo D., Caudullo G. European atlas of forest tree species / Eds. J. Ayanz, D. de Rigo,

G. Caudullo, T. Houston Durrant, A. Mauri. Luxembourg e012300p: Publications Office of the European Union, 2016. P. 132–133.

Durzan D. J., Gupta P. K. Somatic polyembryogenesis and polyembryogenesis in Douglas-fir cell suspension cultures // Plant Sci. 1987. Vol. 52, no. 3. P. 229–235. doi: 10.1016/0168-9452(87)90056-2

Ford C. S., Jones N. B., van Staden J. Cryopreservation and plant regeneration from somatic embryos of *Pinus patula* // Plant Cell Reports. 2000. Vol. 19, no. 6. P. 610–615. doi: 10.1007/s002990050781

García-Mendiguren O., Montalbán I. A., Goicoa T., Ugarte M. D., Moncaleán P. Environmental conditions at the initial stages of *Pinus radiata* somatic embryogenesis affect the production of somatic embryos // Trees. 2016. Vol. 30, no. 3. P. 949–958. doi: 10.1007/s00468-015-1336-7

Grossnickle S. C., Major J. E. Interior spruce seedlings compared with emblings produced from somatic embryogenesis. II. Stock quality assessment prior to planting // Can. J. For. Res. 1994a. Vol. 24, no. 7. P. 1385–1396. doi: 10.1139/x94-179

Grossnickle S. C., Major J. E. Interior spruce seedlings compared with emblings produced from somatic embryogenesis. II. Stock quality assessment prior to planting // Can. J. For. Res. 1994b. Vol. 24, no. 7. P. 1397–1407. doi: 10.1139/x94-180

Gupta P. K., Durzan D. J. Shoot multiplication from mature trees of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*) // Plant Cell Reports. 1985. Vol. 4, no. 4. P. 177–179. doi: 10.1007/BF00269282

Haapanen M., Hynynen J., Ruotsalainen S., Siipilehto J., Kilpeläinen M. Realised and projected gains in growth, quality and simulated yield of genetically improved Scots pine in southern Finland // Eur. J. For. Res. 2016. Vol. 35, no. 6. P. 997–1009. doi: 10.1007/s10342-016-0989-0

Häggman H. M., Rynnänen L. A., Aronen T. S., Krajnakova J. Cryopreservation of embryogenic cultures of Scots pine // PCTOC. 1998. Vol. 54, no. 1. P. 45–53. doi: 10.1023/A:1006104325426

Häggman H., Jokela A., Krajnakova J., Kauppi A., Niemi K., Aronen T. Somatic embryogenesis of Scots pine: cold treatment and characteristics of explants affecting induction // J. Exp. Bot. 1999. Vol. 50, no. 341. P. 1769–1778. doi: 10.1093/jxb/50.341.1769

Högberg K.-A., Bozhkov P. V., Grönroos R., von Arnold S. Critical factors affecting ex vitro performance of somatic embryo plants of *Picea abies* // Scand. J. For. Res. 2001. Vol. 16, no. 4. P. 295–304. doi: 10.1080/02827580116772

Högberg K.-A., Bozhkov P. V., von Arnold S. Early selection improves clonal performance and reduces intracolonial variation of Norway spruce plants propagated by somatic embryogenesis // Tree Physiology. 2003. Vol. 23, no. 3. P. 211–216. doi: 10.1093/treephys/23.3.211

Jansson G. Gains from selecting *Pinus sylvestris* in southern Sweden for volume per hectare // Scand. J. For. Res. 2007. Vol. 22, no. 3. P. 185–192. doi: 10.1080/02827580701330894

Jansson G., Hansen J. K., Haapanen M., Kvaalen H., Steffenrem A. The genetic and economic gains from

forest tree breeding programmes in Scandinavia and Finland // *Scand. J. For. Res.* 2017. Vol. 32, no. 4. P. 273–286. doi: 10.1080/02827581.2016.1242770

Keinonen-Mettälä K., Jalonen P., Eurola P., von Arnold S., von Weissenberg K. Somatic embryogenesis of *Pinus sylvestris* // *Scand. J. For. Res.* 1996. Vol. 11, no. 1–4. P. 242–250. doi: 10.1080/02827589609382933

Klimaszewska K., Smith D. R. Maturation of somatic embryos of *Pinus strobus* is promoted by a high concentration of gellan gum // *Physiol. Plantarum.* 1997. Vol. 100. P. 947–957. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb00022.x

Krakau U. K., Liesebach M., Aronen T., Lelu-Walter M. A., Schneck V. Forest tree breeding in Europe: Current State-of-the-Art and Perspectives / Eds. L. E. Pagues. Dordrecht: Springer, 2013. P. 267–323. doi: 10.1007/978-94-007-6146-9_6

Kvaalen H. Bruk av foredla plantemateriale. God økonomi for skogeigaren og samfunnet. Stiftelsen det norske Skogfrøverk. Artikler skrevet i anledning Skogfrøverkets “Strategi for skogplanteforedling 2010–2040” [Improved forest reproductive materials. Good economy for forest owner and society]. Norwegian, The Norwegian Forest Seed Center. Append. to proposed “Strategy for tree breeding 2010–2040. 2010. P. 16–18.

Lambardi M., Ozudogru E. A., Benelli C. Plant cryopreservation: a practical guide / Eds. B. M. Reed. New York: Springer, 2008. P. 177–210. doi: 10.1007/978-0-387-72276-4_9

Lamhamedi M. S., Chamberland H., Bernier P., Tremblay F. M. Clonal variation in morphology, growth, physiology, anatomy and ultrastructure of container-grown white spruce somatic plants // *Tree Physiology.* 2000. Vol. 20. P. 869–880.

Latutrie M., Aronen T. Long-term cryopreservation of embryogenic *Pinus sylvestris* cultures // *Scand. J. For. Res.* 2013. Vol. 28, no. 2. P. 103–109. doi: 10.1080/02827581.2012.701325

Lelu M.-A., Bastien C., Drugeault A., Gouez M.-L., Klimaszewska K. Somatic embryogenesis and plantlet development in *Pinus sylvestris* and *Pinus pinaster* on medium with and without growth regulator // *Physiologia Plantarum.* 1999. Vol. 105, no. 4. P. 719–728. doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.105417.x

Lelu-Walter M. A., Bernier-Cardou M., Klimaszewska K. Clonal plant production from self- and cross-pollinated seed families of *Pinus sylvestris* (L.) through somatic embryogenesis // *PCTOC.* 2008. Vol. 92, no. 1. P. 31–45. doi: 10.1007/s11240-007-9300-x

Lelu-Walter M.-A., Klimaszewska K., Miguel C., Aronen T., Hargreaves C., Teyssier C. Somatic embryogenesis: fundamental aspects and applications / Eds. V. Loyola-Vargas, N. Ochoa-Alejo. Cham: Springer, 2016. P. 319–365. doi: 10.1007/978-3-319-33705-0_19

Linerós Y., Balocchi C., Muñoz X., Sánchez M., Ríos D. Cryopreservation of *Pinus radiata* embryogenic tissue: effects of cryoprotective pretreatments on maturation ability // *PCTOC.* 2018. Vol. 135, no. 2. P. 357–366. doi: 10.1007/s11240-018-1469-7

Litvay J. D., Verma D. C., Johnson M. A. Influence of a loblolly pine (*Pinus taeda* L.). Culture medium and its components on growth and somatic embryoge-

nesis of the wild carrot (*Daucus carota* L.) // *Plant Cell Reports.* 1985. Vol. 4, no. 6. P. 325–328. doi: 10.1007/BF00269890

Marum L., Rocheta M., Maroco J., Oliveira M. M., Miguel C. Analysis of genetic stability at SSR loci during somatic embryogenesis in maritime pine (*Pinus pinaster*) // *Plant Cell Reports.* 2009. Vol. 28, no. 4. P. 673–682. doi: 10.1007/s00299-008-0668-9

Montalbán I. A., García-Mendiguren O., Goicoa T., Ugarte M. D., Moncaleán P. Cold storage of initial plant material affects positively somatic embryogenesis in *Pinus radiata* // *New Forests.* 2015. Vol. 6, no. 2. doi: 10.1007/s11056-014-9457-1

Montalbán I. A., García-Mendiguren O., Moncaleán P. In vitro embryogenesis in higher plants. Methods in molecular biology. Vol. 1359 / Eds. M. A. Germanà, M. Lambardi. New York: Springer, 2016. P. 405–415. doi: 10.1007/978-1-4939-3061-6_21

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum.* 1962. Vol. 15, no. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Niemi K., Häggman H. *Pisolithus tinctorius* promotes germination and forms mycorrhizal structures in Scots pine somatic embryos in vitro // *Mycorrhiza.* 2002. Vol. 12, no. 5. P. 263–267. doi: 10.1007/s00572-002-0181-x

Niemi K., Krajnakova J., Häggman H. Interaction between embryogenic cultures of Scots pine and ectomycorrhizal fungi // *Mycorrhiza.* 1998. Vol. 8, no. 2. P. 101–107. doi: 10.1007/s005720050219

Niskanen A.-M., Lu J., Seitz S., Keinonen K., Von Weissenberg K., Pappinen A. Effect of parent genotype on somatic embryogenesis in Scots pine (*Pinus sylvestris*) // *Tree Physiology.* 2004. Vol. 24, no. 11. P. 1259–1265. doi: 10.1093/treephys/24.11.12592004

O’Brien I. E. W., Smith D. R., Gardner R. C., Murray B. G. Flow cytometric determination of genome size in *Pinus* // *Plant Science.* 1996. Vol. 115, no. 1. P. 91–99. doi: 10.1016/0168-9452(96)04356-7

Park Y. S. Implementation of conifer somatic embryogenesis in clonal forestry: technical requirements and deployment considerations // *Ann. For. Sci.* 2002. Vol. 59, no. 5–6. P. 651–656. doi: 10.1051/forest:2002051

Park Y. S., Lelu-Walter M. A., Harvengt L., Trontin J. F., MacEacheron I., Klimaszewska K., Bonga J. M. Initiation of somatic embryogenesis in *Pinus banksiana*, *P. strobus*, *P. pinaster*, and *P. sylvestris* at three laboratories in Canada and France // *PCTOC.* 2006. Vol. 86, no. 1. P. 87–101. doi: 10.1007/s11240-006-9101-7

Park Y.-S., Beaulieu J., Bousquet J. Vegetative propagation of forest trees. Eds. Y.-S. Park, J. M. Bonga, H.-K. Moon. Seoul, Korea: National Institute of Forest Science (NiFos), 2016. P. 302–322.

Pereira C., Montalbán I. A., García-Mendiguren O., Goicoa T., Ugarte M. D., Correia S., Canhoto J. M., Moncaleán P. *Pinus halepensis* somatic embryogenesis is affected by the physical and chemical conditions at the initial stages of the process // *J. For. Res.* 2016. Vol. 21, no. 3. P. 143–150. doi: 10.1007/s10310-016-0524-7

Rai M. K., Shekhawat N. S. H., Gupta A. K., Phulwaria M., Ram K., Jaiswal U. The role of abscisic

acid in plant tissue culture: a review of recent progress // PCTOC. 2011. Vol. 106, no. 2. P. 179–190. doi: 10.1007/s11240-011-9923-9

Review of the Swedish tree breeding programme / Ed. O. Rosvall. Skogforsk, 2011. 88 p.

Sarmast M. K. Genetic transformation and somaclonal variation in conifers // Plant Biotechnology Reports. 2016. Vol. 10, no. 6. P. 309–325. doi: 10.1007/s11816-016-0416-5

Simonsen R., Rosvall O., Gong P., Wibe S. Profitability of measures to increase forest growth

// For. Pol. Econ. 2010. Vol. 12, no. 6. P. 473–482. doi: 10.1016/j.forpol.2010.03.002

Thompson D. Challenges for the large-scale propagation of forest trees by somatic embryogenesis – a review // Proceed. of the Third Int. Conf. of the IUFRO Unit 2.09.02 on Woody Plant Production Integrating Genetic and Vegetative Propagation Technology (Vitoria-Gasteiz, Spain, September 18–12, 2014). 2014. P. 81–91.

Поступила в редакцию 01.08.2019

References

Anan'ev V. A., Soroka A. N. Struktura lesnogo fonda, dinamika i perspektivy lesopol'zovaniya v Karelii [The structure of the forest fund, the dynamics and prospects of forest management in Karelia]. *Lesnye resursy taezhnoi zony Rossii: probl. lesopol'zovaniya i lesovostanovleniya: Mat. Vseros. nauch. konf. s mezhdunarod. uchastiem (Petrozavodsk 30.09–03.10.2009 g.)* [Forest resources of the taiga zone in Russia. Issues of forest exploitation and restoration: Proceed. All-Russ. sci. conf. with int. part. (Petrozavodsk, 30.09 – 03.10.2009)]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2009. P. 15–17.

Il'inov A. A., Raevskii B. V. Sravnitel'naya otsenka geneticheskogo raznoobraziya estestvennykh populyatsii i klonovykh plantatsii sosny obyknovnoy i eli finskoi v Karelii [Genetic diversity comparative evaluation of *Pinus sylvestris* L. and *Picea x Fennica* (regel) kom. native populations and clonal seed orchards in Russian Karelia]. *Ekol. genetika* [Ecol. Genetics]. 2015. Vol. 13, no. 4. P. 55–67.

Raevskii B. V., Shurova M. L., Chepik F. A. Nekotorye rezul'taty selektsionno-geneticheskoi otsenki plyusovykh derev'ev sosny obyknovnoy v ispytatel'nykh kul'turakh Karelii [Some results of Scots pine plus trees breeding assessment in progeny trial in Karelia]. *Izvestiya Sankt-Peterburgskoi lesotekh. akad.* [News of the St. Petersburg State Forest Tech. Acad.]. 2018. Vol. 224. P. 6–20.

Shuklina A. S., Tret'yakova I. N. Somaticheskii embriogenez vidov roda *Pinus* v kul'ture *in vitro* [Somatic embryogenesis of species of the genus *Pinus* in culture *in vitro*]. *Uspekhi sovr. biol.* [Biol. Bull. Reviews]. 2019. Vol. 139, no. 2. P. 184–195. doi: 10.1134/S004213241902008X

Tret'yakova I. N. Embriogeny kletochnye linii i somaticheskii embriogenez v kul'ture *in vitro* u listvennitsy sibirskoi [Embryogenic cell lines and somatic embryogenesis in *in vitro* culture of the Siberian larch]. *DAN* [Dokl. Biol. Sci.]. 2013. Vol. 450, no. 1. P. 122–125. doi: 10.7868/S0869565213130306

Ukazaniya po lesnomu semenovodstvu v Rossijskoi Federatsii [Guidance on forest seed production in the Russian Federation]. Moscow, 2000. 197 pp.

Abrahamsson M., Clapham D., von Arnold S. Step wise protocols for somatic embryogenesis of important woody plants. Cham, Switzerland: Springer, 2018. Vol. I. P. 123–133.

Ahtikoski A., Salminen H., Ojansuu R., Hynynen J., Kärkkäinen K., Haapanen M. Optimizing stand management involving the effect of genetic gain: preliminary

results for Scots pine in Finland. *Can. J. For. Res.* 2013. Vol. 43, no. 3. P. 299–305. doi: 10.1139/cjfr-2012-0393

Aronen T. Vegetative propagation of forest trees. Seoul, Korea: Nat. Inst. For. Sci., 2016. P. 515–527.

Aronen T., Pehkonen T., Ryyänen L. Enhancement of somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of *Pinus sylvestris*. *Scan. J. For. Res.* 2009. Vol. 24, no. 5. P. 372–383. doi: 10.1080/02827580903228862

Becwar M. R., Levis E. C., Handley W. III, Rutter M. R. Method for regeneration of coniferous plants by somatic embryogenesis. US Patent 5,413,930. 1995.

Becwar M. R., Pullman G. S. Somatic embryogenesis in woody plants. Forestry sciences. Dordrecht Högberg: Springer, 2015. Vol. 44–46. P. 287–301. doi: 10.1007/978-94-011-0960-4_18

Benowicz A., Grossnickle S. C., El-Kassaby Y. A. Field assessment of Douglas-fir somatic and zygotic seedlings with respect to gas exchange, water relations, and frost hardiness. *Can. J. For. Res.* 2002. Vol. 32, no. 10. P. 1822–1828. doi: 10.1139/x02-093

Bonga J., Park Y.-S., Ding C. What technical improvements are needed to achieve industrial application of conifer somatic embryogenesis? Proceed. the Fifth Int. Conf. of the IUFRO Unit 2.09.02: Somatic Embryogenesis and Other Vegetative Propagation Technologies (Coimbra, Portugal, September 10–15, 2018). 2018. P. 4–24.

Bozhkov P. V., von Arnold S. Polyethylene glycol promotes maturation but inhibits further development of *Picea abies* somatic embryos. *Physiologia Plantarum*. 2002. Vol. 104, no. 2. P. 211–224. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1040209.x

Burg K., Helmersson A., Bozhkov P., von Arnold S. Developmental and genetic variation in nuclear microsatellite stability during somatic embryogenesis in pine. *J. Exp. Bot.* 2007. Vol. 58, no. 3. P. 687–698. doi: 10.1093/jxb/erl241

Carneros E., Hernández I., Toribio M., Díaz-Sala C., Celestino C. Effect of different cryoprotectant procedures on the recovery and maturation ability of cryopreserved *Pinus pinea* embryogenic lines of different ages. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2017. Vol. 53, no. 5. P. 469–477. doi: 10.1007/s11627-017-9833-6

Durrant T., de Rigo D., Caudullo G. European atlas of forest tree species. Luxembourg e012300p: Publications Office of the European Union, 2016. P. 132–133.

Durzan D. J., Gupta P. K. Somatic polyembryogenesis and polyembryogenesis in Douglas-fir cell suspen-

- sion cultures. *Plant Sci.* 1987. Vol. 52, no. 3. P. 229–235. doi: 10.1016/0168-9452(87)90056-2
- Ford C. S., Jones N. B., van Staden J. Cryopreservation and plant regeneration from somatic embryos of *Pinus patula*. *Plant Cell Reports*. 2000. Vol. 19, no. 6. P. 610–615. doi: 10.1007/s002990050781
- García-Mendiguren O., Montalbán I. A., Goicoa T., Ugarte M. D., Moncaleán P. Environmental conditions at the initial stages of *Pinus radiata* somatic embryogenesis affect the production of somatic embryos. *Trees*. 2016. Vol. 30, no. 3. P. 949–958. doi: 10.1007/s00468-015-1336-7
- Grossnickle S. C., Major J. E. Interior spruce seedlings compared with emblings produced from somatic embryogenesis. II. Stock quality assessment prior to planting. *Can. J. For. Res.* 1994a. Vol. 24, no. 7. P. 1385–1396. doi: 10.1139/x94-179
- Grossnickle S. C., Major J. E. Interior spruce seedlings compared with emblings produced from somatic embryogenesis. II. Stock quality assessment prior to planting. *Can. J. For. Res.* 1994b. Vol. 24, no. 7. P. 1397–1407. doi: 10.1139/x94-180
- Gupta P. K., Durzan D. J. Shoot multiplication from mature trees of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). *Plant Cell Reports*. 1985. Vol. 4, no. 4. P. 177–179. doi: 10.1007/BF00269282
- Haapanen M., Hynynen J., Ruotsalainen S., Siipilehto J., Kilpeläinen M. Realised and projected gains in growth, quality and simulated yield of genetically improved Scots pine in southern Finland. *Eur. J. For. Res.* 2016. Vol. 35, no. 6. P. 997–1009. doi: 10.1007/s10342-016-0989-0
- Häggman H. M., Ryyänen L. A., Aronen T. S., Krajinakova J. Cryopreservation of embryogenic cultures of Scots pine. *PCTOC*. 1998. Vol. 54, no. 1. P. 45–53. doi: 10.1023/A:1006104325426
- Häggman H., Jokela A., Krajinakova J., Kauppi A., Niemi K., Aronen T. Somatic embryogenesis of Scots pine: cold treatment and characteristics of explants affecting induction. *J. Exp. Bot.* 1999. Vol. 50, no. 341. P. 1769–1778. doi: 10.1093/jxb/50.341.1769
- Högberg K.-A., Bozhkov P. V., Grönroos R., von Arnold S. Critical factors affecting ex vitro performance of somatic embryo plants of *Picea abies*. *Scand. J. For. Res.* 2001. Vol. 16, no. 4. P. 295–304. doi: 10.1080/02827580116772
- Högberg K.-A., Bozhkov P. V., von Arnold S. Early selection improves clonal performance and reduces intracultural variation of Norway spruce plants propagated by somatic embryogenesis. *Tree Physiology*. 2003. Vol. 23, no. 3. P. 211–216. doi: 10.1093/treephys/23.3.211
- Jansson G. Gains from selecting *Pinus sylvestris* in southern Sweden for volume per hectare. *Scand. J. For. Res.* 2007. Vol. 22, no. 3. P. 185–192. doi: 10.1080/02827580701330894
- Jansson G., Hansen J. K., Haapanen M., Kvaalen H., Steffenrem A. The genetic and economic gains from forest tree breeding programmes in Scandinavia and Finland. *Scand. J. For. Res.* 2017. Vol. 32, no. 4. P. 273–286. doi: 10.1080/02827581.2016.1242770
- Keinonen-Mettälä K., Jalonen P., Eurola P., von Arnold S., von Weissenberg K. Somatic embryogenesis of *Pinus sylvestris*. *Scand. J. For. Res.* 1996. Vol. 11, no. 1–4. P. 242–250. doi: 10.1080/02827589609382933
- Klimaszewska K., Smith D. R. Maturation of somatic embryos of *Pinus strobus* is promoted by a high concentration of gellan gum. *Physiologia Plantarum*. 1997. Vol. 100. P. 947–957. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb00022.x
- Krakau U. K., Liesebach M., Aronen T., Lelu-Walter M. A., Schneck V. Forest tree breeding in Europe: Current State-of-the-Art and Perspectives. Dordrecht: Springer, 2013. P. 267–323. doi: 10.1007/978-94-007-6146-9_6
- Kvaalen H. Bruk av foredla plantemateriale. God økonomi for skogeigaren og samfunnet. Stiftelsen det norske Skogfrøverk. Artikler skrevet i anledning Skogfrøverkets “Strategi for skogplanteforedling 2010–2040” [Improved forest reproductive materials. Good economy for forest owner and society.] Norwegian, The Norwegian Forest Seed Center. Append. to proposed “Strategy for tree breeding 2010–2040. 2010. P. 16–18.
- Lambardi M., Ozudogru E. A., Benelli C. Plant cryopreservation: a practical guide. York: Springer, 2008. P. 177–210. doi: 10.1007/978-0-387-72276-4_9
- Lamhamedi M. S., Chamberland H., Bernier P., Tremblay F. M. Clonal variation in morphology, growth, physiology, anatomy and ultrastructure of container-grown white spruce somatic plants. *Tree Physiology*. 2000. Vol. 20. P. 869–880.
- Latutrie M., Aronen T. Long-term cryopreservation of embryogenic *Pinus sylvestris* cultures. *Scand. J. For. Res.* 2013. Vol. 28, no. 2. P. 103–109. doi: 10.1080/02827581.2012.701325
- Lelu M.-A., Bastien C., Dugeault A., Gouez M.-L., Klimaszewska K. Somatic embryogenesis and plantlet development in *Pinus sylvestris* and *Pinus pinaster* on medium with and without growth regulator. *Physiologia Plantarum*. 1999. Vol. 105, no. 4. P. 719–728. doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.105417.x
- Lelu-Walter M. A., Bernier-Cardou M., Klimaszewska K. Clonal plant production from self- and cross-pollinated seed families of *Pinus sylvestris* (L.) through somatic embryogenesis. *PCTOC*. 2008. Vol. 92, no. 1. P. 31–45. doi: 10.1007/s11240-007-9300-x
- Lelu-Walter M.-A., Klimaszewska K., Miguel C., Aronen T., Hargreaves C., Teyssier C. Somatic embryogenesis: fundamental aspects and applications. Cham: Springer, 2016. P. 319–365. doi: 10.1007/978-3-319-33705-0_19
- Linerós Y., Balocchi C., Muñoz X., Sánchez M., Ríos D. Cryopreservation of *Pinus radiata* embryogenic tissue: effects of cryoprotective pretreatments on maturation ability. *PCTOC*. 2018. Vol. 135, no. 2. P. 357–366. doi: 10.1007/s11240-018-1469-7
- Litvay J. D., Verma D. C., Johnson M. A. Influence of a loblolly pine (*Pinus taeda* L.). Culture medium and its components on growth and somatic embryogenesis of the wild carrot (*Daucus carota* L.). *Plant Cell Reports*. 1985. Vol. 4, no. 6. P. 325–328. doi: 10.1007/BF00269890
- Marum L., Rocheta M., Maroco J., Oliveira M. M., Miguel C. Analysis of genetic stability at SSR loci during somatic embryogenesis in maritime pine (*Pinus pinaster*). *Plant Cell Reports*. 2009. Vol. 28, no. 4. P. 673–682. doi: 10.1007/s00299-008-0668-9

Montalbán I. A., García-Mendiguren O., Goicoa T., Ugarte M. D., Moncaleán P. Cold storage of initial plant material affects positively somatic embryogenesis in *Pinus radiata*. *New Forests*. 2015. Vol. 6, no. 2. doi: 10.1007/s11056-014-9457-1

Montalbán I. A., García-Mendiguren O., Moncaleán P. In vitro embryogenesis in higher plants. *Methods in molecular biology*. Vol. 1359. New York: Springer, 2016. P. 405–415. doi: 10.1007/978-1-4939-3061-6_21

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, no. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Niemi K., Häggman H. *Pisolithus tinctorius* promotes germination and forms mycorrhizal structures in Scots pine somatic embryos in vitro. *Mycorrhiza*. 2002. Vol. 12, no. 5. P. 263–267. doi: 10.1007/s00572-002-0181-x

Niemi K., Krajinakova J., Häggman H. Interaction between embryogenic cultures of Scots pine and ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 1998. Vol. 8, no. 2. P. 101–107. doi: 10.1007/s005720050219

Niskanen A.-M., Lu J., Seitz S., Keinonen K., Von Weissenberg K., Pappinen A. Effect of parent genotype on somatic embryogenesis in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Tree Physiology*. 2004. Vol. 24, no. 11. P. 1259–1265. doi: 10.1093/treephys/24.11.12592004

O'Brien I. E. W., Smith D. R., Gardner R. C., Murray B. G. Flow cytometric determination of genome size in *Pinus*. *Plant Science*. 1996. Vol. 115, no. 1. P. 91–99. doi: 10.1016/0168-9452(96)04356-7

Park Y. S. Implementation of conifer somatic embryogenesis in clonal forestry: technical requirements and deployment considerations. *Ann. For. Sci.* 2002. Vol. 59, no. 5–6. P. 651–656. doi: 10.1051/forest:2002051

Park Y. S., Lelu-Walter M. A., Harvengt L., Trontin J. F., MacEacheron I., Klimaszewska K., Bonga J. M.

Initiation of somatic embryogenesis in *Pinus banksiana*, *P. strobus*, *P. pinaster*, and *P. sylvestris* at three laboratories in Canada and France. *PCTOC*. 2006. Vol. 86, no. 1. P. 87–101. doi: 10.1007/s11240-006-9101-7

Park Y.-S., Beaulieu J., Bousquet J. Vegetative propagation of forest trees. Seoul, Korea: National Institute of Forest Science (NiFos), 2016. P. 302–322.

Pereira C., Montalbán I. A., García-Mendiguren O., Goicoa T., Ugarte M. D., Correia S., Canhoto J. M., Moncaleán P. *Pinus halepensis* somatic embryogenesis is affected by the physical and chemical conditions at the initial stages of the process. *J. For. Res.* 2016. Vol. 21, no. 3. P. 143–150. doi: 10.1007/s10310-016-0524-7

Rai M. K., Shekhawat N. S. H., Gupta A. K., Phulwaria M., Ram K., Jaiswal U. The role of abscisic acid in plant tissue culture: a review of recent progress. *PCTOC*. 2011. Vol. 106, no. 2. P. 179–190. doi: 10.1007/s11240-011-9923-9

Review of the Swedish tree breeding programme. Ed. O. Rosvall. Skogforsk, 2011. 88 p.

Sarmast M. K. Genetic transformation and somaclonal variation in conifers. *Plant Biotechnology Reports*. 2016. Vol. 10, no. 6. P. 309–325. doi: 10.1007/s11816-016-0416-5

Simonsen R., Rosvall O., Gong P., Wibe S. Profitability of measures to increase forest growth. *For. Pol. Econ.* 2010. Vol. 12, no. 6. P. 473–482. doi: 10.1016/j.forpol.2010.03.002

Thompson D. Challenges for the large-scale propagation of forest trees by somatic embryogenesis – a review. *Proceed. of the Third Int. Conf. of the IUFRO Unit 2.09.02 on Woody Plant Production Integrating Genetic and Vegetative Propagation Technology (Vitoria-Gasteiz, Spain, September 18–12, 2014)*. 2014. P. 81–91.

Received August 01, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Новичонок Елена Валентиновна

старший научный сотрудник лаб. биотехнологии растений, к. б. н.

Отдел комплексных научных исследований

научный сотрудник 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: enovichonok@inbox.ru

тел.: +79062092156

Галибина Наталия Алексеевна

ведущий научный сотрудник лаб. биотехнологии растений, д. б. н.

Отдел комплексных научных исследований

зам. директора по научной работе

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.: +79062095199

CONTRIBUTORS:

Novichonok, Elena

Department for Multidisciplinary Scientific Research, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences

Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: enovichonok@inbox.ru

tel.: +79062092156

Galibina, Natalia

Department for Multidisciplinary Scientific Research, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences

Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: galibina@krc.karelia.ru

tel.: +79062095199

Раевский Борис Владимирович

старший научный сотрудник, д. с.-х. н.
Отдел комплексных научных исследований

ведущий научный сотрудник, руководитель лаб. лесных биотехнологий
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: borisraevsky@gmail.com
тел.: +79114014890

Ершова Мария Алексеевна

младший научный сотрудник лаб. биотехнологии растений
Отдел комплексных научных исследований,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: maria_ershova_karnc@mail.ru
тел.: +79535473065

Raevsky, Boris

Department for Multidisciplinary Scientific Research,
Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: borisraevsky@gmail.com
tel.: +79114014890

Ershova, Maria

Department for Multidisciplinary Scientific Research,
Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: maria_ershova_karnc@mail.ru
tel.: +79535473065

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 633.11:581.5:547.587.11

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА КРАТКОВРЕМЕННОЕ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ОПТИМАЛЬНОЙ И НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Е. С. Холопцева, А. А. Игнатенко, Н. С. Репкина, В. В. Таланова

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

В условиях оптимальной (22 °С) и низкой закаливающей (4 °С) температуры изучали разной продолжительности воздействие салициловой кислоты (СК, 100 мкМ) на некоторые показатели CO_2 -газообмена, водного режима, роста и холодоустойчивость растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Для этого недельные проростки в течение всего опыта (7 суток) выдерживали на питательном растворе с добавлением СК при 22 и 4 °С (продолжительное действие СК) или помещали на 1 сутки при 22 °С на питательный раствор с СК, а затем на растворе без СК подвергали (в течение 6 суток) действию температуры 22 и 4 °С (предобработка СК). Показано, что при температуре 22 °С продолжительное действие СК приводило к снижению скорости видимого фотосинтеза и доли дыхания в процессе CO_2 -газообмена, не влияло на эффективность использования воды (WUE), увеличивало биомассу побега и корня. Напротив, суточное воздействие СК практически не влияло на динамику ассимиляции CO_2 , снижало долю дыхания в CO_2 -газообмене и транспирацию, но повышало WUE. При температуре 4 °С постоянное действие СК способствовало поддержанию скорости фотосинтеза на более высоком уровне, чем в контроле, снижало долю дыхания в CO_2 -газообмене, увеличивало WUE, а также стабилизировало накопление биомассы растения. В отличие от этого суточная предобработка СК усиливала негативный эффект низкой температуры на ассимиляцию CO_2 , приводила к росту дыхательных затрат, не влияла на уровень транспирации, вызывала снижение WUE. Важно, что экзогенная СК способствовала росту холодоустойчивости пшеницы в условиях как обычной, так и низкой закаливающей температуры. Таким образом, реакция растений пшеницы на воздействие СК зависит от его продолжительности, при этом характер изменений физиологических процессов различается в условиях оптимальной и низкой температуры.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; салициловая кислота; продолжительность действия; газообмен; транспирация; биомасса; холодоустойчивость; оптимальная и низкая температура.

**E. S. Kholoptseva, A. A. Ignatenko, N. S. Repkina, V. V. Talanova.
CHARACTERISTICS OF WHEAT PLANT RESPONSES TO SHORT-TERM
AND PROLONGED EXPOSURE TO SALICYLIC ACID UNDER OPTIMAL AND
LOW TEMPERATURE**

The effect of salicylic acid (SA, 100 μM) of various durations on some indexes of CO_2 -gas exchange, water regime, growth and cold resistance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) under optimal (22 $^\circ\text{C}$) and low hardening (4 $^\circ\text{C}$) temperatures were studied. To this end, week-old seedlings were either kept throughout the experiment (7 days) on a nutrient solution with SA at 22 and 4 $^\circ\text{C}$ (prolonged SA action), or kept on a nutrient solution with SA for 1 day at 22 $^\circ\text{C}$ and then another 6 days on a solution without SA at 22 and 4 $^\circ\text{C}$ (pre-treatment with SA). It was shown that at a temperature of 22 $^\circ\text{C}$, the prolonged action of SA led to a decrease in the rate of visible photosynthesis and the contribution of respiration to the process of CO_2 -gas exchange, did not affect water use efficiency (WUE), increased shoot and root biomass. On the contrary, 24-h exposure to SA had virtually no effect on the pattern of CO_2 assimilation, reduced the contribution of respiration to CO_2 -gas exchange and transpiration, but promoted WUE. At a temperature of 4 $^\circ\text{C}$, the prolonged exposure to SA contributed to maintaining the rate of photosynthesis at a higher level than in the control, reduced the contribution of respiration to CO_2 -gas exchange, increased WUE, as well as stabilized the accumulation of plant biomass. In contrast, the 24-h pre-treatment with SA intensified the negative effect of low temperature on CO_2 assimilation, increased the costs of respiration, did not affect the level of transpiration, caused WUE to decline. Importantly, exogenous SA promoted the cold tolerance of wheat under both normal and low hardening temperatures. Thus, the response of wheat plants to the action of SA depends on its duration, while the nature of changes in physiological processes differs between treatment under optimal and low temperatures.

Key words: *Triticum aestivum* L.; salicylic acid; duration of exposure; gas exchange; transpiration; biomass; cold tolerance; optimal and low temperature.

Введение

Салициловая кислота (СК) является фитогормоном фенольной природы, который участвует в регуляции многих физиологических процессов растений, таких как фотосинтез, дыхание, транспирация, рост, развитие, термогенез и др. [Шакирова, 2001; Тарчевский, 2002; Vlot et al., 2009; Janda et al., 2014]. Общеизвестно, что она является одним из ключевых компонентов в развитии системной приобретенной устойчивости растений при патогенезе [Тарчевский, 2002; Васюкова, Озерецковская, 2007; Максимов и др., 2011; Kumar, 2014]. Кроме того, СК способна повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды абиотической природы, включая низкие температуры [Шакирова, 2001; Horvath et al., 2007; Vlot et al., 2009; Hayat et al., 2010; Pal et al., 2013; Kang, Guo, 2014; Miura, Tada, 2014; Jayakannan et al., 2015; Khan et al., 2015]. При этом реакция растительных организмов на действие экзогенной СК зависит от вида растений, условий их выращивания, интенсивности и продолжительности стрессового воздействия, а также особенностей обработки СК: способа (опрыскивание листьев / внесение в питательный раствор), длительности (кратковременное / продолжительное) и концентрации

СК [Janda et al., 1998; Wang et al., 2009; Рахманкулова и др., 2010; Hayat et al., 2010].

Большинство исследователей в первую очередь уделяют внимание изучению реакции растений на действие разных концентраций СК. Так, например, показано, что СК в низких концентрациях (10–100 μM) оказывает позитивное влияние на фотосинтетическую активность [Fariduddin et al., 2003; Hayat et al., 2010], поддержание энергетического баланса [Рахманкулова и др., 2010] и про-/антиоксидантного равновесия [Pancheva et al., 1996; Chen et al., 2016], способствует повышению устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды, в том числе к низким температурам [Taşgın et al., 2003; Фенько и др., 2015; Yu et al., 2016; Min et al., 2018]. Напротив, СК в высоких концентрациях (500–1000 μM) ингибирует ростовые процессы, вызывает снижение интенсивности фотосинтеза и активности РУБИСКО [Pancheva et al., 1996; Sahu et al., 2002; Poor, Tari, 2012], усиливает перекисное окисление липидов (ПОЛ) и выход электролитов из клеток [Chen et al., 2016], снижает устойчивость растений к действию стресс-факторов [Taşgın et al., 2003; Jayakannan et al., 2015].

Гораздо меньше изучено влияние длительности воздействия экзогенной СК на физиоло-

го-биохимические процессы в клетках растений, выращиваемых при разных температурных режимах, а имеющиеся в настоящее время сведения неоднозначны и противоречивы. Например, согласно одним данным, кратковременное (2–24 часа) действие СК в низкой концентрации не влияет на интенсивность фотосинтеза и транспирации или их повышает, а продолжительное (несколько суток) – снижает интенсивность этих процессов [Pancheva et al., 1996; Khan et al., 2003]. В то же время согласно другим данным, кратковременное действие СК вызывает снижение ассимиляции CO_2 , содержания хлорофиллов, устьичной проводимости и транспирации [Janda et al., 1998; Yordanova, Popova, 2007], а длительное – не влияет на накопление биомассы растений и содержание фотосинтетических пигментов [Kang et al., 2012]. Однако исследования, посвященные сравнительному изучению влияния кратковременного и длительного действия СК на растения, отсутствуют.

Учитывая вышеизложенное, цель данного исследования заключалась в изучении влияния продолжительности воздействия СК на некоторые показатели CO_2 -газообмена, водного режима, роста и холодоустойчивость растений пшеницы, находящихся в условиях оптимальной или пониженной температуры.

Материалы и методы

Опыты проводили на проростках озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Растения выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе с добавлением микроэлементов в камере искусственного климата при постоянных условиях: температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности ФАР 180 мкмоль/(м²·с), фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста часть растений подвергли воздействию СК. В первом варианте (постоянное действие СК) использовали питательный раствор с добавлением СК до концентрации 100 мкМ, на котором выращивали растения при оптимальной температуре 22 °С или низкой закалывающей температуре 4 °С. Во втором варианте (предобработка СК) первоначально (при 22 °С) использовали питательный раствор с добавлением СК до концентрации 100 мкМ, но через 1 сутки растения переносили на питательный раствор, не содержащий СК, и подвергали действию температуры 22 или 4 °С. В контрольном варианте использовали растения, которые выращивали на питательном растворе без добавления СК при температуре 22 или 4 °С. Продолжительность опыта составляла 7 суток.

Показатели CO_2 -обмена и транспирацию анализировали с помощью установки для исследования CO_2 -газообмена и водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия). В ходе экспериментов измеряли интенсивность нетто-фотосинтеза, темнового дыхания, транспирации. Рассчитывали отношение суммарного темнового дыхания к истинному фотосинтезу (R_d/P_g) [Рахманкулова, 2002]. Фотосинтетическую эффективность использования воды (WUE) рассчитывали как отношение величины видимого фотосинтеза к интенсивности транспирации растений [Polley, 2002]. Измерения проводили в климатической камере при температурах, соответствующих вариантам опыта (22 или 4 °С).

Накопление сырой и сухой биомассы побегов анализировали в соответствии с общепринятой методикой [Рогожин, Рогожина, 2013]. Оводненность тканей рассчитывали как отношение сухой и сырой биомассы, выраженное в процентах.

О холодоустойчивости проростков судили по температуре (LT_{50} , °С), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток паренхимы листовых высеков после их 5-минутного промораживания в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/–20 (Интерм, Россия) при последовательном снижении температуры с интервалом 0,4 °С [Балагурова и др., 1982]. Жизнеспособность клеток после промораживания определяли с помощью светового микроскопа (ЛОМО, Россия) по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных показателей от 5 до 10 растений. Весь опыт повторяли трижды. В статье обсуждаются величины, статистически значимо различающиеся при $p < 0,05$.

Результаты

Установлено, что воздействие на проростки пшеницы СК (100 мкМ) в условиях оптимальной температуры (22 °С) уже через 1 сутки вызывало снижение скорости видимого фотосинтеза листьев (до 82 % от уровня контроля) (рис. 1, А). Увеличение продолжительности воздействия СК при 22 °С приводило к усилению ингибирования процесса ассимиляции CO_2 . В отличие от этого у проростков, подвергавшихся действию СК только в течение 1 суток, в дальнейшем на протяжении всего эксперимента интенсивность фотосинтеза практически не отличалась от контрольного варианта (рис. 1, А).

Под влиянием низкой температуры (4 °С) интенсивность фотосинтеза проростков пшеницы резко снижалась (до 43 % от исходного

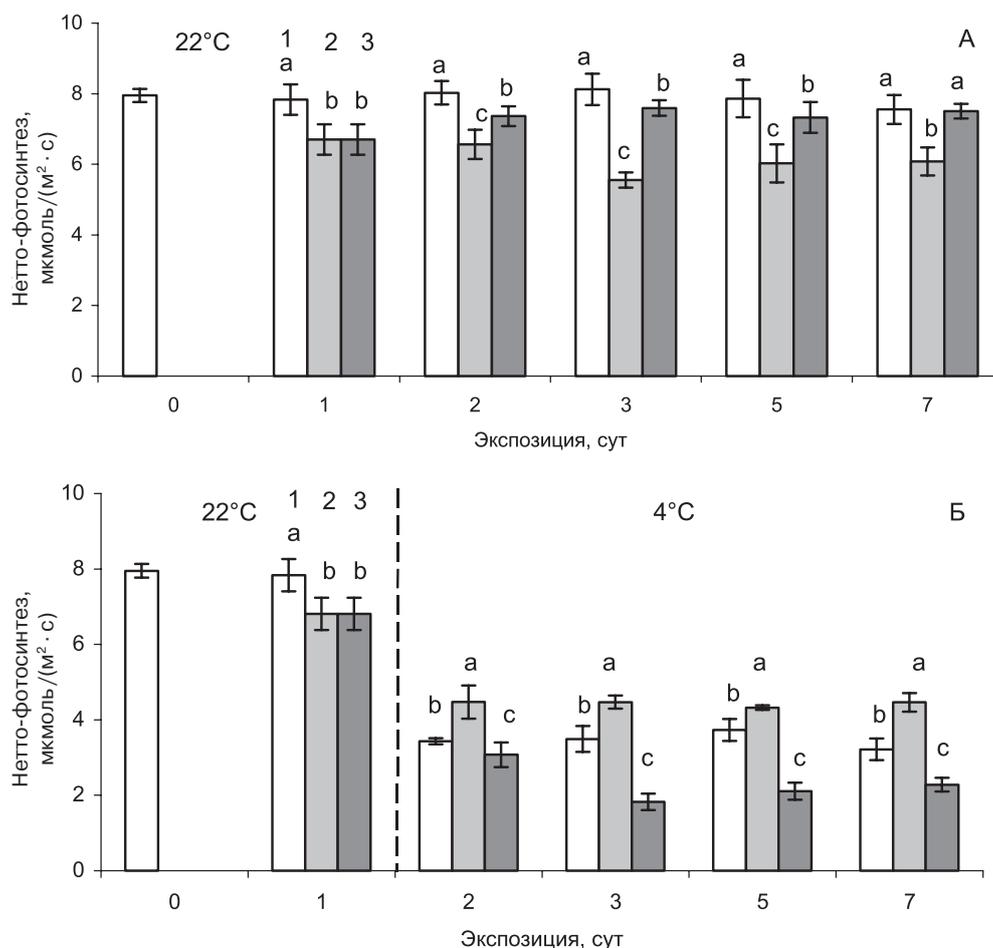


Рис. 1. Влияние СК (100 мкМ) на интенсивность видимого фотосинтеза листьев проростков пшеницы в условиях температуры 22 (А) и 4 (Б) °С.

Здесь и на рис. 2–4: 1 – контроль, 2 – продолжительное действие СК, 3 – обработка СК в течение 1 сут; 0 – исходные значения показателя при температуре 22 °С без обработки СК; линия пунктира – начало действия температуры 4 °С. Разные латинские буквы обозначают статистически значимые различия между средними значениями при $p < 0,05$ в пределах каждой экспозиции

Fig. 1. The effect of SA (100 μM) on the intensity of the visible photosynthesis in wheat seedlings leaves at temperatures of 22 (A) and 4 (B) °C.

Here and in Figures 2–4: 1 – control, 2 – prolonged effect of SA, 3 – treatment of SA for 1 day; 0 – the original values at a temperature of 22 °C without treatment with SA; dotted line – start of the exposure to temperature 4 °C. Different letters indicate statistically significant differences between the average values at $p < 0.05$ within each exposure

уровня) (рис. 1, Б). Важно, что в этих температурных условиях постоянное действие СК способствовало поддержанию более высокой интенсивности фотосинтеза по сравнению с контролем (не обработанные СК растения). Напротив, суточная предобработка СК приводила к усилению ингибирующего действия холода на ассимиляцию CO_2 (рис. 1, Б).

Интенсивность транспирации листьев пшеницы в оптимальных температурных условиях при постоянном действии СК постепенно снижалась (до 58 % от исходного уровня на 7-е сутки эксперимента) (рис. 2, А). В варианте «предобработка СК» данный показатель снижался до 45 % от исходного уровня. При низ-

котемпературном воздействии уже через сутки происходило значительное снижение интенсивности транспирации, которое сохранялось на протяжении всего эксперимента, а обработка проростков СК (как суточная, так и более продолжительная) не оказывала существенного влияния на этот процесс (рис. 2, Б).

Установлено, что отношение темнового дыхания к истинному фотосинтезу (Rd/Pg) в условиях оптимальной температуры как при обработке проростков пшеницы СК в течение суток, так и при более продолжительном ее действии значительно снижалось по сравнению с контролем (рис. 3, А). При низкой температуре в контрольном варианте этот показа-

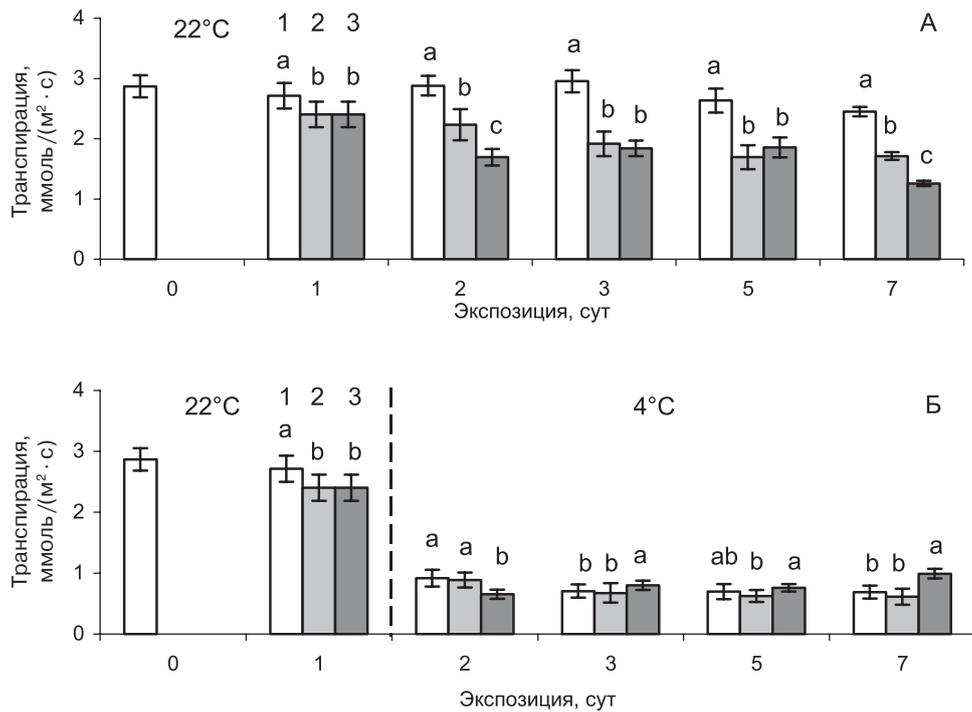


Рис. 2. Влияние СК (100 мкМ) на интенсивность транспирации листьев проростков пшеницы в условиях температуры 22 (А) и 4 (Б) °С

Fig. 2. The effect of SA (100 μM) on the intensity of wheat seedlings leaves transpiration at temperatures of 22 (A) and 4 (B) °C

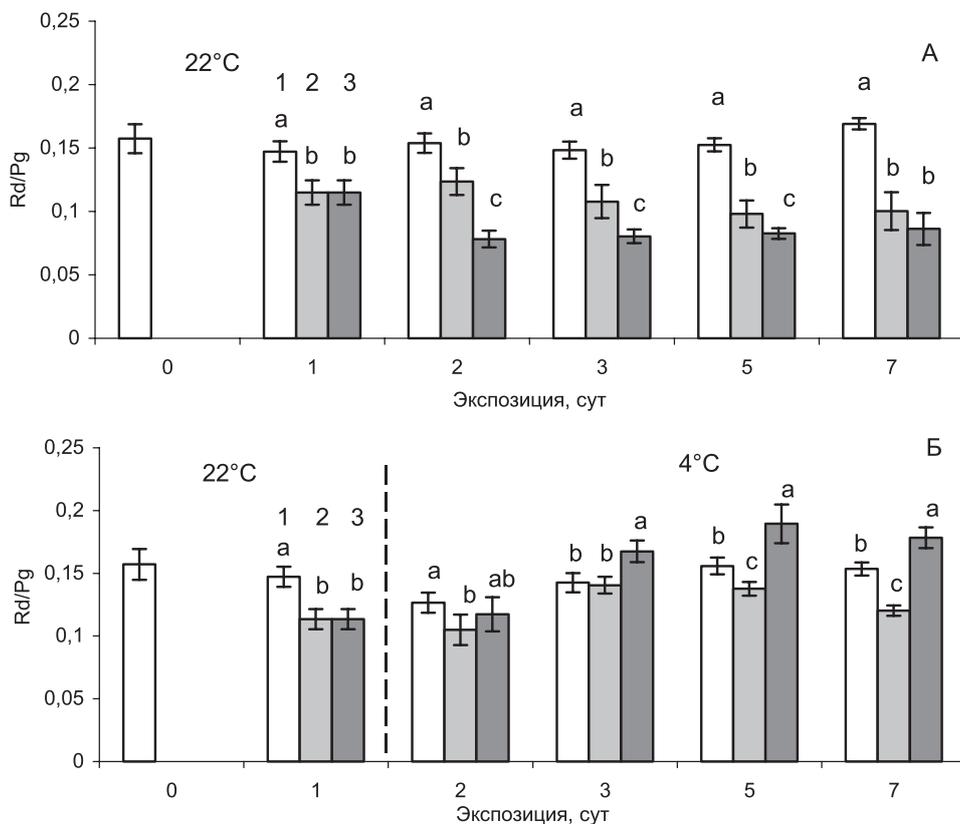


Рис. 3. Влияние СК (100 мкМ) на отношение темнового дыхания и истинного фотосинтеза (Rd/Pg) в листьях проростков пшеницы в условиях температуры 22 (А) и 4 (Б) °С

Fig. 3. Effect of SA (100 μM) on the ratio of dark respiration and gross photosynthesis (Rd/Pg) in the leaves of wheat seedlings at temperatures of 22 (A) and 4 (B) °C

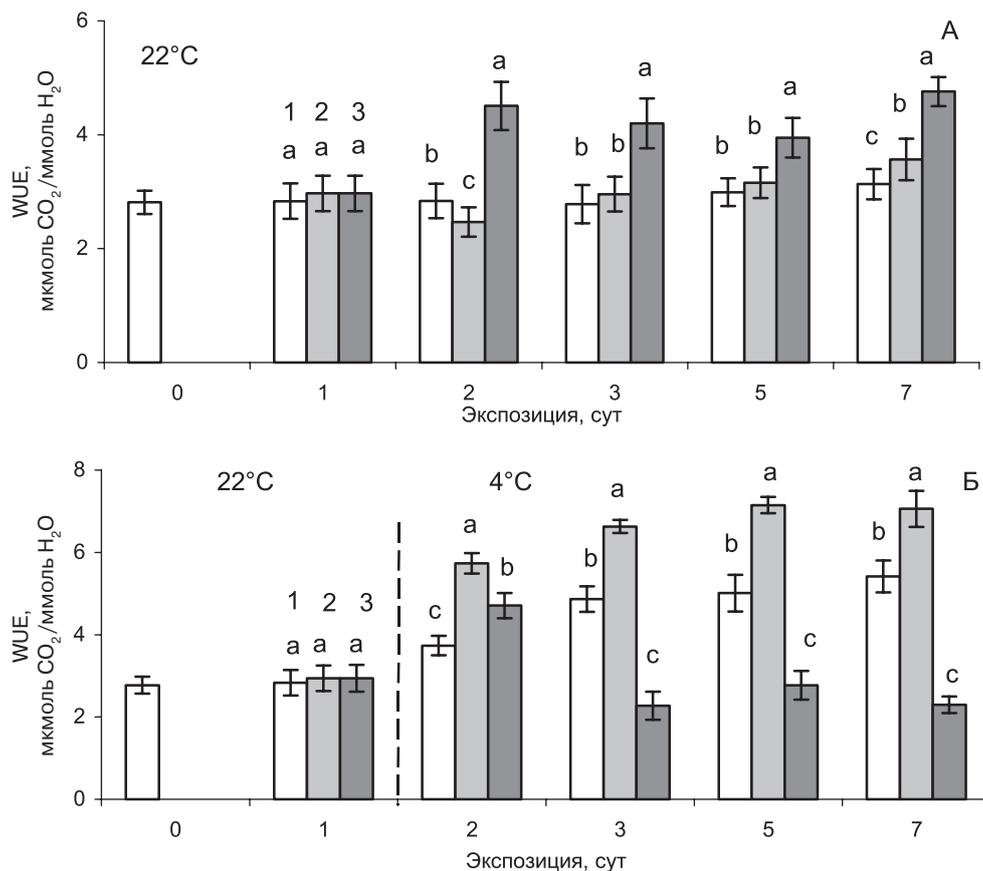


Рис. 4. Влияние СК (100 мкМ) на эффективность использования воды в процессе фотосинтеза (WUE) листьев проростков пшеницы в условиях температуры 22 (А) и 4 (Б) °С

Fig. 4. The effect of SA (100 μM) on the water use efficiency (WUE) of wheat seedlings leaves at temperatures of 22 (A) and 4 (B) °C

тель газообмена в первые сутки снижался до 70 % от исходного уровня, однако в дальнейшем постепенно возвращался к нему (рис. 3, Б). Продолжительное воздействие СК приводило к снижению показателя Rd/Pg по сравнению с контролем, а суточная предобработка СК – к его постепенному повышению с увеличением продолжительности охлаждения (рис. 3, Б).

Показатель эффективности использования воды при фотосинтезе в условиях оптимальной температуры в варианте «суточная предобработка СК» существенно увеличивался (на 70 % от исходного уровня на 7-е сутки), в то время как при постоянном действии СК – практически не отличался от контроля (рис. 4, А). В отличие от этого в условиях низкой температуры суточная предобработка СК приводила к значительному снижению WUE, а продолжительное воздействие СК – к его повышению (рис. 4, Б).

Установлено, что продолжительное воздействие СК в оптимальных температурных условиях (22 °C) способствовало накоплению сырой и сухой биомассы побегов и корней, а так-

же поддержанию высокой оводненности их тканей (табл. 1). В то же время предобработка СК в течение суток в дальнейшем практически не влияла на сырую и сухую биомассу побегов, сырую биомассу корней, но повышала сухую биомассу корней, при этом оводненность их тканей снижалась (табл. 1). В условиях низкой температуры при продолжительном воздействии СК отмечено повышение сырой и сухой биомассы побегов и корней по сравнению с контролем, оводненность тканей при этом достоверно не изменялась. В случае суточной предобработки СК проростков биомасса побегов и их оводненность не изменялись, тогда как сухая масса корней повышалась при снижении содержания воды в их тканях.

Важно отметить, что экзогенная СК положительно влияла на холодоустойчивость проростков пшеницы. В частности, при температуре 22 °C как постоянное продолжительное воздействие СК, так и предобработка ею в течение 1 суток вызывали повышение холодоустойчивости (табл. 2). В условиях низкой по-

Таблица 1. Влияние СК (100 мкМ) на биомассу и оводненность проростков пшеницы при температуре 22 и 4 °С

Table 1. The effect of SA (100 μM) on biomass and water content of wheat seedlings at temperature of 22 and 4 °C

Показатели Index	22 °C	22 °C + СК 22 °C + SA	4 °C	4 °C + СК 4 °C + SA
Продолжительное действие СК Prolonged effect of SA				
Сырая биомасса побега, мг Fresh shoot biomass, mg	259,7 ± 6,2	277,2 ± 6,7	164,4 ± 3,6	174,3 ± 4,8
Сухая биомасса побега, мг Dry shoot biomass, mg	26,7 ± 0,7	28,7 ± 0,7	19,9 ± 0,5	21,4 ± 0,1
Оводненность побега, % Shoot water content, %	90,1 ± 0,2	89,4 ± 0,2	87,4 ± 0,1	87,2 ± 0,2
Сырая биомасса корня, мг Fresh root biomass, mg	81,0 ± 2,9	87,2 ± 3,6	59,5 ± 1,9	64,2 ± 2,3
Сухая биомасса корня, мг Dry root biomass, mg	7,9 ± 0,3	7,8 ± 0,4	6,3 ± 0,1	6,6 ± 0,3
Оводненность корня, мг Root water content, %	91,3 ± 0,3	91,0 ± 0,4	89,4 ± 0,2	89,7 ± 0,2
Предобработка СК (1 сут) Pre-treatment of SA (1 day)				
Сырая биомасса побега, мг Fresh shoot biomass, mg	237,8 ± 5,9	238,0 ± 2,1	156,8 ± 2,4	158,1 ± 3,5
Сухая биомасса побега, мг Dry shoot biomass, mg	27,8 ± 4,6	29,1 ± 1,5	18,7 ± 0,7	19,9 ± 0,8
Оводненность побега, % Shoot water content, %	88,3 ± 0,3	87,8 ± 0,2	88,1 ± 0,4	87,4 ± 0,3
Сырая биомасса корня, мг Fresh root biomass, mg	78,9 ± 3,8	75,7 ± 3,6	57,3 ± 3,1	54,1 ± 3,4
Сухая биомасса корня, мг Dry root biomass, mg	8,1 ± 0,3	11,4 ± 0,5	6,3 ± 0,4	8,9 ± 0,5
Оводненность корня, мг Root water content, %	89,7 ± 0,7	84,9 ± 0,8	89,0 ± 0,7	83,5 ± 0,6

Примечание. Экспозиция при 22 и 4 °С – 7 сут.

Note. Exposition at 22 and 4 °C – 7 days.

Таблица 2. Влияние СК (100 мкМ) на холодоустойчивость (LT₅₀, °С) проростков пшеницы при температуре 22 и 4 °С

Table 2. The effect of SA (100 μM) on cold tolerance (LT₅₀, °C) of wheat seedlings at temperature of 22 and 4 °C

Вариант Variant	22 °C	22 °C + СК 22 °C + SA	4 °C	4 °C + СК 4 °C + SA
Продолжительное действие СК Prolonged effect of SA	-5,7 ± 0,16	-6,2 ± 0,16*	-8,6 ± 0,05	-9,1 ± 0,07*
Предобработка СК (1 сут) Pre-treatment of SA (1 day)	-5,7 ± 0,06	-6,3 ± 0,05*	-7,2 ± 0,05	-7,3 ± 0,02

Примечание. *Отличия от контроля (без СК) статистически значимы при p < 0,05. Продолжительность опыта – 7 сут.

Note. *Differences from the control (without SA) are statistically significant at p < 0,05. The duration of the experiment is 7 days.

положительной температуры (4 °С) постоянное воздействие СК способствовало существенно повышению холодоустойчивости растений, а предобработка СК на нее практически не влияла (табл. 2).

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что как при оптимальной (22 °С), так и при низкой

положительной температуре (4 °С) реакция растений пшеницы на воздействие экзогенной СК в низкой концентрации (100 мкМ) в значительной степени зависит от его продолжительности. При этом характер изменений ряда физиологических процессов растений под влиянием СК различался в условиях оптимальной и низкой температуры.

В частности, продолжительное воздействие СК при температуре 22 °С вызывало сниже-

ние интенсивности фотосинтеза, транспирации, а также доли дыхания в процессе CO_2 -газообмена. При этом, несмотря на некоторое снижение скорости фотосинтеза, экзогенная СК положительно влияла на накопление биомассы побега и корня. Эти данные корреспондируются с результатами исследований других авторов. Например, при длительном (7 сут) действии СК в концентрации 100 мкМ при температуре 27 °С у растений ячменя отмечено снижение скорости нетто-фотосинтеза, транспирации и устьичной проводимости, что связано с закрыванием устьиц [Pancheva et al., 1996]. В этой связи заслуживают внимания результаты изучения показателя эффективности использования воды (WUE), который, по мнению ряда авторов, характеризует формирование продуктивности растений, а также успешность их адаптации к неблагоприятным условиям среды [Abbate et al., 2001]. В нашем опыте при продолжительном воздействии СК в условиях температуры 22 °С отмечена высокая оводненность тканей растений, а WUE сохранялся на уровне контрольных значений, что объясняется сохранением стабильного уровня фотосинтеза на фоне снижения транспирации. Отдельно следует подчеркнуть, что экзогенная СК в условиях оптимальной температуры вызвала повышение холодоустойчивости растений пшеницы, и это согласуется с данными о повышении морозоустойчивости растений шпината при длительном действии (8–10 суток) СК в близких по значению температурных условиях (20/18 °С) [Min et al., 2018].

Иной характер изменений физиологических процессов отмечен нами в оптимальных температурных условиях после суточной предобработки СК. В этом случае экзогенная СК не снижала интенсивность нетто-фотосинтеза по сравнению с контролем, ингибировала транспирацию и повышала WUE. В то же время не происходило значимого прироста биомассы растений пшеницы и повышалась их холодоустойчивость. По нашему мнению, это объясняется снижением доли дыхания в CO_2 -газообмене, что, по-видимому, позволило растениям использовать продукты ассимиляции, накопленные в процессе фотосинтеза, для повышения устойчивости растений. Можно предположить, что в этом случае СК выступает в качестве стрессового фактора, на действие которого растение реагирует неспецифическим повышением устойчивости. В частности, экзогенная СК может вызывать генерацию пероксида водорода [Miura, Tada, 2014], который, как сигнальная молекула, активизирует защитные реакции растений [Креславский и др., 2012].

В наших опытах в условиях температуры 4 °С происходило снижение скорости фотосинтеза проростков пшеницы и замедление их роста, что, как известно, является необходимым условием адаптации холодостойких растений к низким температурам [Лось, 2005; Трунова, 2007; Theocharis et al., 2012]. Причем при низких положительных температурах у холодостойких растений интенсивность фотосинтеза превышает активность дыхания, что приводит к накоплению сахаров, выполняющих важную роль в процессах низкотемпературной адаптации [Трунова, 2007]. Важно подчеркнуть, что продолжительное воздействие СК приводило к частичной компенсации снижения уровня нетто-фотосинтеза в листьях пшеницы, вызванного действием холода. Сходные данные получены другими авторами на растениях жасмина: обработка СК в течение 3 суток способствовала повышению скорости нетто-фотосинтеза и стабилизации устьичной проводимости при действии холода (4 °С) [Cai et al., 2015]. Следует также отметить, что при низкой температуре экзогенная СК способствует повышению активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, пероксидазы, каталазы [Janda et al., 1998; Yu et al., 2016] и накоплению низкомолекулярных соединений, участвующих в процессах адаптации растений – пролина, токоферола, углеводов [Min et al., 2018]. Таким образом, активизация этим гормоном антиоксидантной системы препятствует развитию окислительного стресса, что способствует повышению устойчивости к низким температурам.

Следует также отметить, что длительное воздействие СК при низкой температуре усиливало накопление биомассы побегов и корней пшеницы по сравнению с контролем. Сходное действие СК обнаружено и в условиях других стресс-факторов, в частности хлорида натрия – у пшеницы [Kang et al., 2012] и кадмия – у гороха [Porova et al., 2008]. Следовательно, при длительном воздействии СК в условиях низкой температуры более высокий, чем при действии только температуры 4 °С, уровень фотосинтеза пшеницы даже при небольшом снижении доли дыхания в общем газообмене, по-видимому, позволял не только снабжать растения фотоассимилятами для процесса адаптации, но и использовать их на накопление биомассы. Таким образом, при постоянном действии СК в условиях холода некоторая компенсация снижения фотосинтеза, значительное повышение показателя WUE и дополнительный прирост холодоустойчивости растений свидетельствуют об успешной адаптации растений пшеницы к низкой температуре.

В отличие от этого суточная предобработка СК при последующем действии низкой температуры приводила к более значительному снижению интенсивности фотосинтеза, чем в контроле, а также к уменьшению транспирации и WUE. При этом доля дыхательных затрат от истинного фотосинтеза постепенно повышалась по сравнению с контролем. Низкий уровень фотосинтеза и, как следствие, снижение притока ассимилятов, необходимых для процесса холодовой адаптации, в сочетании с более высоким уровнем расходов на дыхание в общем газообмене не способствовали приросту холодоустойчивости и накоплению биомассы растений.

Таким образом, проведенные исследования показали, что характер изменений физиологических процессов, таких как фотосинтез, транспирация, дыхание, рост, у растений пшеницы в ответ на воздействие экzogенной СК в значительной степени зависит от его продолжительности. При этом характер изменений физиологических процессов различается в условиях оптимальной и низкой температур. Происходящие при продолжительном воздействии СК изменения физиологических процессов способствовали формированию повышенной холодоустойчивости растений в условиях как оптимальной, так и низкой температуры. В отличие от этого кратковременное действие СК увеличивало холодоустойчивость растений при оптимальной температуре, но в условиях низкой температуры не приводило к дополнительному ее повышению.

Исследования выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования КарНЦ РАН. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0074).

Литература

- Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Кар. фил. АН СССР, 1982. 6 с.
- Васюкова Н. И., Озерецковская О. Л. Индуцированная устойчивость растений и салициловая кислота (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. Т. 43, № 4. С. 405–411.
- Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов Вл. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 2. С. 163–178.
- Лось Д. А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестник РАН. 2005. Т. 75, № 4. С. 338–345.
- Максимов И. В., Сорокань А. В., Черепанова Е. А., Сурина О. Б., Трошина Н. Б., Яруллина Л. Г. Влияние салициловой и жасмоновой кислот на компоненты про-/антиоксидантной системы в растениях картофеля при фитофторозе // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 2. С. 243–251.
- Рахманкулова З. Ф. Энергетический баланс целого растения в норме и при неблагоприятных внешних условиях // Журн. общ. биологии. 2002. Т. 63, № 3. С. 239–248.
- Рахманкулова З. Ф., Федяев В. В., Рахматулина С. Р., Иванов С. П., Гильванова И. Р., Усманов И. Ю. Влияние предпосевной обработки семян пшеницы салициловой кислотой на ее эндогенное содержание, активность дыхательных путей и антиоксидантный баланс растений // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 6. С. 835–840.
- Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Практикум по физиологии и биохимии растений. СПб.: ГИОРД, 2013. 352 с.
- Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
- Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс // Тимирязевские чтения. Т. 64. М.: Наука, 2007. 54 с.
- Фенько А. А., Репкина Н. С., Таланова В. В. Влияние салициловой кислоты на холодоустойчивость проростков огурца // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 11. С. 26–34. doi: 10.17076/eb188
- Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
- Abbate P. E., Dardanelli J. L., Cantarero M. G., Maturano M., Melchiori R. J. M., Cuero E. E. Climatic and water availability effects on water use efficiency in wheat // Crop science abstract – Crop physiology and metabolism. 2001. Vol. 44, no. 2. P. 474–483.
- Cai H., He M., Ma K., Huang Y., Wang Y. Salicylic acid alleviates cold-induced photosynthesis inhibition and oxidative stress in *Jasminum sambac* // Turk. J. Biol. 2015. Vol. 39. P. 241–247. doi: 10.3906/bjy-1406-35
- Chen Y. E., Cui J. M., Li G. X., Yuan M., Zhang Z. W., Yuan S., Zhang H. Y. Effect of salicylic acid on the antioxidant system and photosystem II in wheat seedlings // Biol. Plant. 2016. Vol. 60. P. 139–147. doi: 10.1007/s10535-015-0564-4
- Fariduddin Q., Hayat S., Ahmad A. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea* // Photosynthetica. 2003. Vol. 41. P. 281–284.
- Hayat Q., Hayat S., Ahmad A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review // Environ. Exp. Bot. 2010. Vol. 68. P. 14–25. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.08.005
- Horvath E., Szalai G., Janda T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling // J. Plant Growth Reg. 2007. Vol. 26. P. 290–300. doi: 10.1007/s00344-007-9017-4
- Jayakannan M., Bose J., Babourina O., Rengel Z., Shabala S. Salicylic acid in plant salinity stress signalling

and tolerance // *J. Plant Growth Regul.* 2015. Vol. 75. P. 25–40.

Janda T., Gondor O. K., Yordanova R., Szalai G., Pal M. Salicylic acid and photosynthesis: signaling and effects // *Acta Physiol. Plant.* 2014. Vol. 36, no. 10. P. 2537–2546. doi: 10.1007/s11738-014-1620-y

Janda T., Szalai G., Tari I., Páldi E. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants // *Planta.* 1998. Vol. 208. P. 175–180.

Kang G., Li G., Zheng B., Han Q., Wang C., Zhu Y., Guo T. Proteomic analysis on salicylic acid-induced salt tolerance in common wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. Vol. 1824. P. 1324–1333.

Kang G., Li G., Guo T. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants // *Acta Physiol. Plant.* 2014. Vol. 36. P. 2287–2297. doi: 10.1007/s11738-014-1603-z

Khan M. I. R., Fatma M., Per T. S., Anjum N. A., Khan N. A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants // *Front. Plant Sci.* 2015. Vol. 6. Art. 462. P. 1–17. doi: 10.3389/fpls.2015.00462

Khan W., Prithviraj B., Smith D. L. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates // *J. Plant Physiol.* 2003. Vol. 160. P. 485–492.

Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance // *Plant Sci.* 2014. Vol. 228. P. 127–134.

Min K., Showman L., Perera A., Arora R. Salicylic acid-induced freezing tolerance in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves explored through metabolite profiling // *Environ. Exp. Bot.* 2018. Vol. 156. P. 214–227. doi: 10.1016/j.envexpbot.2018.09.011

Miura K., Tada Y. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid // *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5, no. 4. P. 1–13. doi: 10.3389/fpls.2014.00004

Pal O., Condor O. K., Janda T. Role of salicylic acid in acclimation to low temperature // *Acta Agron. Hung.* 2013. Vol. 61. P. 161–172.

References

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

Fen'ko A. A., Repkina N. S., Talanova V. V. Vliyanie salitsilovoi kisloty na kholodoustoichivost' prorstkov ogurtsa [The influence of salicylic acid on the cold tolerance of cucumber seedlings]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 11. P. 26–34. doi: 10.17076/eb188

Kreslavskii V. D., Los' D. A., Allakhverdiev S. I., Kuznetsov V. V. Signal'naya rol' aktivnykh form kisloroda pri stresse u rastenii [Signal role of reactive oxygen species under stress in plants]. *Fiziol. rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2012. Vol. 59, no. 2. P. 163–178.

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

Pancheva T. V., Popova L. P., Uzunova A. N. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants // *J. Plant Physiol.* 1996. Vol. 149. P. 57–63.

Polley W. H. Implications of atmospheric and climatic change for crop yield and water use efficiency // *Crop Science.* 2002. Vol. 42. P. 131–140. doi: 10.2135/cropsci2002.1310

Poor P., Tari I. Regulation of stomatal movement and photosynthetic activity in guard cells of tomato abaxial epidermal peels by salicylic acid // *Funct. Plant Biol.* 2012. Vol. 39. P. 1028–1037.

Popova L., Maslenkova L., Yordanova R., Krantev A., Szalai G., Janda T. Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants // *Gen. Appl. Plant Physiol.* 2008. Vol. 34, no. 3–4. P. 133–148.

Sahu G. K., Kar M., Sabat S. C. Electron transport activities of isolated thylakoids from wheat plants grown in salicylic acid // *Plant. Biol.* 2002. Vol. 4. P. 321–328.

Taşgın E., Atıcı O., Nalbantoğlu B. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves // *J. Plant Growth Regul.* 2003. Vol. 41. P. 231–236.

Theocharis A., Clement Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta.* 2012. Vol. 235, no. 6. P. 1091–1105.

Vlot A. C., Dempsey D. A., Klessing D. F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2009. Vol. 47. P. 177–206.

Wang D. H., Li X. X., Su Z. K., Ren H. X. The role of salicylic acid in response of two rice cultivars to chilling stress // *Biol. Plant.* 2009. Vol. 53. P. 545–552.

Yordanova R., Popova L. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants // *Gen. Appl. Plant Physiol.* 2007. Vol. 33, no. 3–4. P. 155–170.

Yu J., Cang J., Li Y., Huang R., Lu Q., Wang X., Liu L., Xu Q., Zhang K. Salicylic acid-induced protection against low temperature in cold-hardy winter wheat // *Acta Physiol. Plant.* 2016. Vol. 38. P. 261. doi: 10.1007/s11738-016-2272-x

Поступила в редакцию 15.04.2019

tenii [Impact of presowing treatment of wheat seeds with salicylic acid on its endogenous content, respiratory tract activity and antioxidant balance of plants]. *Fiziol. rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2010. Vol. 57, no. 6. P. 835–840.

Rogozhin V. V., Rogozhina T. V. Praktikum po fiziologii i biokhīmii rastenii [Workshop on the physiology and biochemistry of plants]. St. Petersburg: GIOR, 2013. 352 p.

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

Trunova T. I. Rastenie i nīzkotemperaturnyi stress [Plant and low-temperature stress]. *Timiryazevskie chteniya* [Timiryazev Readings]. 2007. Vol. 64. 54 p.

Shakirova F. M. Nespetsificheskaya ustoičivost' rastenii k stressovym faktoram i ee regulatsiya [Non-specific resistance of plants to stress factors and its regulation]. Ufa: Gilem, 2001. 160 p.

Vasyukova N. I., Ozeretskovskaya O. L. Indutsirovannaya ustoičivost' rastenii i salitsilovaya kislota (obzor) [Induced plant resistance and salicylic acid (a review)]. *Priklad. biokhim. i mikrobiol.* [Appl. Biochem. and Microbiol.]. 2007. Vol. 43, no. 4. P. 405–411.

Abbate P. E., Dardanelli J. L., Cantarero M. G., Maturano M., Melchiorri R. J. M., Cuero E. E. Climatic and water availability effects on water use efficiency in wheat. *Crop science abstract – Crop physiology and metabolism*. 2001. Vol. 44, no. 2. P. 474–483.

Ananieva E. A., Alexieva V. S., Popova L. P. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. *J. Plant Physiol.* 2002. Vol. 159. P. 685–693.

Cai H., He M., Ma K., Huang Y., Wang Y. Salicylic acid alleviates cold-induced photosynthesis inhibition and oxidative stress in *Jasminum sambac*. *Turkish Journal of Biology*. 2015. Vol. 39. P. 241–247. doi: 10.3906/biy-1406-35

Chen Y. E., Cui J. M., Li G. X., Yuan M., Zhang Z. W., Yuan S., Zhang H. Y. Effect of salicylic acid on the antioxidant system and photosystem II in wheat seedlings. *Biol. Plant*. 2016. Vol. 60. P. 139–147. doi: 10.1007/s10535-015-0564-4

Fariduddin Q., Hayat S., Ahmad A. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*. 2003. Vol. 41. P. 281–284.

Hayat Q., Hayat S., Ahmad A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environ. Exp. Bot.* 2010. Vol. 68. P. 14–25. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.08.005

Horvath E., Szalai G., Janda T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *J. Plant Growth Regul.* 2007. Vol. 26. P. 290–300. doi: 10.1007/s00344-007-9017-4

Jayakannan M., Bose J., Babourina O., Rengel Z., Shabala S. Salicylic acid in plant salinity stress signaling and tolerance. *J. Plant Growth Regul.* 2015. Vol. 75. P. 25–40.

Janda T., Gondor O. K., Yordanova R., Szalai G., Pal M. Salicylic acid and photosynthesis: signaling and effects. *Acta Physiol. Plant*. 2014. Vol. 36, no. 10. P. 2537–2546. doi: 10.1007/s11738-014-1620-y

Janda T., Szalai G., Tari I., Páldi E. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta*. 1998. Vol. 208. P. 175–180.

Kang G., Li G., Zheng B., Han Q., Wang C., Zhu Y., Guo T. Proteomic analysis on salicylic acid-induced salt tolerance in common wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Biochim. Biophys. Acta*. 2012. Vol. 1824. P. 1324–1333.

Kang G., Li G., Guo T. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants. *Acta Physiol. Plant*. 2014. Vol. 36. P. 2287–2297. doi: 10.1007/s11738-014-1603-z

Khan M. I. R., Fatma M., Per T. S., Anjum N. A., Khan N. A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Front. Plant Sci*. 2015. Vol. 6. Art. 462. P. 1–17. doi: 10.3389/fpls.2015.00462

Khan W., Prithviraj B., Smith D. L. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *J. Plant Physiol.* 2003. Vol. 160. P. 485–492.

Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance. *Plant Sci*. 2014. Vol. 228. P. 127–134.

Min K., Showman L., Perera A., Arora R. Salicylic acid-induced freezing tolerance in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves explored through metabolite profiling. *Environ. Exp. Bot.* 2018. Vol. 156. P. 214–227. doi: 10.1016/j.envexpbot.2018.09.011

Miura K., Tada Y. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front. Plant Sci*. 2014. Vol. 5, no. 4. P. 1–13. doi: 10.3389/fpls.2014.00004

Pal O., Condor O. K., Janda T. Role of salicylic acid in acclimation to low temperature. *Acta Agron. Hung.* 2013. Vol. 61. P. 161–172.

Pancheva T. V., Popova L. P., Uzunova A. N. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. *J. Plant Physiol.* 1996. Vol. 149. P. 57–63.

Polley W. H. Implications of atmospheric and climatic change for crop yield and water use efficiency. *Crop Science*. 2002. Vol. 42. P. 131–140. doi: 10.2135/cropsci2002.1310

Poor P., Tari I. Regulation of stomatal movement and photosynthetic activity in guard cells of tomato abaxial epidermal peels by salicylic acid. *Funct. Plant Biol*. 2012. Vol. 39. P. 1028–1037.

Popova L., Maslenkova L., Yordanova R., Krantev A., Szalai G., Janda T. Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *Gen. Appl. Plant Physiol*. 2008. Vol. 34, no. 3–4. P. 133–148.

Sahu G. K., Kar M., Sabat S. C. Electron transport activities of isolated thylakoids from wheat plants grown in salicylic acid. *Plant. Biol*. 2002. Vol. 4. P. 321–328.

Taşgın E., Atıcı O., Nalbantoğlu B. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *J. Plant Growth Regul.* 2003. Vol. 41. P. 231–236.

Theocharis A., Clement Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature. *Planta*. 2012. Vol. 235, no. 6. P. 1091–1105.

Vlot A. C., Dempsey D. A., Klessing D. F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu. Rev. Phytopathol*. 2009. Vol. 47. P. 177–206.

Wang D. H., Li X. X., Su Z. K., Ren H. X. The role of salicylic acid in response of two rice cultivars to chilling stress. *Biol. Plant.* 2009. Vol. 53. P. 545–552.

Yordanova R., Popova L. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 2007. Vol. 33. no. 3–4. P. 155–170.

Yu J., Cang J., Li Y., Huang R., Lu Q., Wang X., Liu L., Xu Q., Zhang K. Salicylic acid-induced protection against low temperature in cold-hardy winter wheat. *Acta Physiol. Plant.* 2016. Vol. 38. P. 261. doi: 10.1007/s11738-016-2272-x

Received April 15, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Холоптцева Екатерина Станиславовна

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: holoptseva@krc.karelia.ru

Игнатенко Анна Анатольевна

и. о. младшего научного сотрудника, 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: angelina911@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Репкина Наталья Сергеевна

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: nrt9@ya.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: holoptseva@krc.karelia.ru

Ignatenko, Anna

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: angelina911@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Repkina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nrt9@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Talanova, Vera

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

УДК 581.143.31: 577.175.132

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ГИББЕРЕЛЛИНА И ЕГО СМЕСИ С САХАРОЗОЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРИРОСТА КСИЛЕМЫ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ

Л. Л. Новицкая, Т. В. Тарелкина, Н. Н. Николаева, Д. С. Иванова, Л. И. Семенова

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

Исследовали влияние гиббереллина на деятельность камбия в сторону ксилемы у взрослых деревьев березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*, обычная береза повислая). В качестве методического приема использовали введение экзогенных растворов. Для этого на стволах деревьев делали «камеры» путем вырезания наружных слоев коры вплоть до нижней части непроводящей флоэмы, оставляя нетронутыми проводящую флоэму и камбиальную зону. В камеры с помощью шприца вводили растворы гиббереллина GA₃ разной концентрации (0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 %) и смесь гиббереллина с сахарозой (GA₃ 0,01 % + сахароза 1–20 %). Установлен сильный стимулирующий эффект гормона на формирование прироста ксилемы. Зависимость величины прироста от использованных концентраций выявить не удалось, поскольку их значения, очевидно, превысили уровень, при котором достигается максимально возможный отклик камбиальной зоны на действие гиббереллина при данном метаболическом статусе клеток и тканей. Это подтверждает эффект остаточного влияния экзогенных растворов, проявившийся после прекращения их введения: в вариантах с более высокими концентрациями гормона окончательный прирост ксилемы был больше. Впервые показано, что высокие концентрации сахарозы (10 и 20 %) снижают стимулирующий эффект гиббереллина. Высказано предположение, что в данном случае сахароза может действовать через повышение уровня УДФ-глюкозы, взаимодействие которой с гиббереллином приводит к его конъюгации (инактивации). Нельзя также исключить реакцию УДФ-глюкозы с ауксином, в результате которой образуется конъюгат ИУК-глюкоза, поскольку гиббереллин обеспечивает ускорение камбиального роста только при наличии в ткани физиологически активного, т. е. свободного, ауксина.

Ключевые слова: *Betula pendula* Roth var. *pendula*; регуляция камбиального роста; GA₃; сахароза.

L. L. Novitskaya, T. V. Tarelkina, N. N. Nikolaeva, D. S. Ivanova, L. I. Semenova. EFFECT OF EXOGENOUS GIBBERELLIN AND ITS MIXTURE WITH SUCROSE ON XYLEM INCREMENT FORMATION IN SILVER BIRCH

We studied the effect of gibberellin on cambial activity towards xylem formation in adult birch trees (*Betula pendula* Roth var. *pendula*, common silver birch). The technique used was the injection of exogenous solutions. To this end, “chambers” were made on tree trunks by cutting out the outer layers of bark up to the inner parts of the non-conduct-

ing phloem, leaving the conducting phloem and the cambial zone intact. GA₃ gibberellin solutions (0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 %) and a mixture of gibberellin with sucrose (GA₃ 0.01 % + sucrose 1–20 %) were injected into the chambers using a syringe. The hormone produced a strong stimulating effect on xylem increment. We failed to determine the dependence of the increment on the concentration, since its values obviously exceeded the level at which the maximum possible response of the cambial zone to the action of gibberellin was attained with a given metabolic status of cells and tissues. This is confirmed by the effect of residual action of exogenous solutions, which manifested itself after the termination of their administration: the final xylem increment was greater in variants with higher concentrations of the hormone. It was demonstrated for the first time that high sucrose concentrations (10 and 20 %) reduce the stimulating effect of gibberellin. It is hypothesized that in this case, sucrose may act through an increase in the level of UDP-glucose, whose interaction with gibberellin leads to its conjugation (inactivation). Neither can one rule out a reaction of UDP-glucose with auxin, resulting in the formation of conjugate IAA-glucose, since gibberellin can accelerate cambial growth only in the presence of physiologically active (free) auxin in the tissue.

Key words: *Betula pendula* Roth var. *pendula*; regulation of cambial growth; GA₃; sucrose.

Введение

В регуляции деятельности камбия и дифференциации камбиальных производных участвуют гормоны, в т. ч. гиббереллин [Sorice et al., 2013; Aloni, 2015]. Гиббереллин (гиббереллины) – это группа гормонов, включающая более 100 соединений, большинство из которых не обладают биологической активностью, а являются прекурсорами биоактивных форм. Гиббереллины синтезируются в зрелых листьях, после чего транспортируются по флоэме в акцепторные органы [Hedden, Thomas, 2012]. На тополе показано, что в стволе древесных растений превращение прекурсоров в биоактивные формы происходит в зоне растяжения ксилемы [Israelsson et al., 2005].

Установлено, что гиббереллин оказывает стимулирующее действие на формирование ксилемы. Однако следует отметить, что основная часть работ по изучению влияния гиббереллина на ксилогенез древесных растений выполнена на побегах и молодых растениях [Bradley, Crane, 1957; Digby, Wareing, 1966; Philipson, Coutts, 1980; Zakrzewski, 1983; Ridoutt et al., 1996; Eriksson et al., 2000; Funada et al., 2008; Guo et al., 2015]. На стволах взрослых деревьев исследования в данном направлении очень немногочисленны и охватывают только один вид лиственных (осина) [Israelsson et al., 2005] и один вид хвойных (криптомерия японская) [Kijidani et al., 2016, 2017] древесных растений.

Имеющиеся в литературе сведения позволяют предположить влияние сахарозы на конъюгацию гиббереллина [Schneider, Schliemann, 1994]. Так, в процессе клубнеобразования у картофеля использование экзогенной саха-

розы вызывало уменьшение уровня биоактивного гиббереллина и соответствующее повышение уровня конъюгированного, неактивного гормона [Šimko, 1994]. У большинства древесных растений умеренного климата сахароза является основной транспортной формой фотоассимилятов [Zimmermann, Ziegler, 1975; Turgeon, Wolf, 2009]. На протяжении многих лет мы проводим исследования на формах березы повислой (*Betula pendula* Roth) [Novitskaya, Kushnir, 2006; Новицкая, 2008; Тарелкина и др., 2015; Novitskaya et al., 2019]. В период активного камбиального роста сахароза является практически единственным сахаром, который обнаруживается во флоэмном экссудате этого древесного растения [Колесниченко, 1985]. В данной связи береза повислая представляет собой перспективный объект исследования для выявления взаимосвязи между повышением уровня сахарозы и влиянием гиббереллина на формирование древесины.

Цель настоящей работы заключалась в изучении действия экзогенных растворов, содержащих гиббереллин, сахарозу и смесь гиббереллина с сахарозой, на продукцию ксилемы в стволах взрослых деревьев березы повислой (*B. pendula* var. *pendula*, обычная береза повислая).

Материалы и методы

Объектом исследования была обычная береза повислая (*Betula pendula* Roth var. *pendula*). Возраст растений 15–20 лет. Подбирали деревья с ровными стволами, без сучков в нижней трети ствола и без видимых внешних повреждений. Все опытные растения произрастали в одинаковых почвенно-климатических условиях (Аг-

Варианты эксперимента с введением растворов гиббереллина и сахарозы в ткани ствола березы повислой
Variants of the experiment with the introduction of solutions of gibberellin and sucrose into the birch trunk tissues

Период проведения эксперимента Experimental period	Действующее вещество Active substance	Вариант эксперимента Variant of the experiment
15.07–21.08.2006	Эксперимент № 1 Experiment No. 1	
	Гиббереллин (GA ₃) Gibberellin (GA ₃)	0,05 % GA ₃
		0,1 % GA ₃
		0,2 % GA ₃
		Контроль – дистиллированная вода (0 %) Control – distilled water (0 %)
06.07–12.08.2007	Эксперимент № 2 Experiment No. 2	
	Гиббереллин (GA ₃) Gibberellin (GA ₃)	0,005 % GA ₃
		0,01 % GA ₃
		0,02 % GA ₃
		Контроль – дистиллированная вода (0 %) Control – distilled water (0 %)
	Эксперимент № 3 Experiment No. 3	
	Сахароза (Suc) Sucrose (Suc)	1,0 % Suc
		2,5 % Suc
		5,0 % Suc
		10,0 % Suc
		20,0 % Suc
	Эксперимент № 4 Experiment No. 4	
	Гиббереллин (GA ₃) + Сахароза (Suc) Gibberellin (GA ₃) + Sucrose (Suc)	0,01 % GA ₃ + 1,0 % Suc
		0,01 % GA ₃ + 2,5 % Suc
		0,01 % GA ₃ + 5,0 % Suc
0,01 % GA ₃ + 10,0 % Suc		
0,01 % GA ₃ + 20,0 % Suc		

робиологическая станция КарНЦ РАН, 2 км к югу от г. Петрозаводска, 61°45' с. ш., 34°20' в. д.).

В работе использован разработанный ранее методический подход [Novitskaya, Kushnir, 2006; Новицкая, 2008], позволяющий изучать влияние различных соединений на активность интактно-го камбия и дифференциацию его производных. Графическое изображение и детали постановки эксперимента представлены в статье [Тарелкина, Новицкая, 2019]. В ходе подготовительных операций на высоте 130 см от поверхности почвы по периметру ствола на равном расстоянии друг от друга получали несколько камер, в которых наружные слои коры были удалены, а проводящая флоэма и камбий оставались неповрежденными. В камеры с помощью шприца вводили опытные растворы. Каждый вариант раствора вводили в одну из камер.

В 2006 и 2007 гг. поставлены четыре эксперимента (табл.). В двух из них использовали растворы гиббереллина (GA₃) различной концентрации: эксперимент № 1 – 0,05%, 0,1%,

0,2%, эксперимент № 2 – 0,005%, 0,01%, 0,02%. Эксперимент № 3 включал введение сахарозы (Suc) – 1,0%, 2,5%, 5,0%, 10,0%, 20,0%, эксперимент № 4 – введение смеси, состоящей из гиббереллина (0,01 % GA₃, фоновый раствор) и сахарозы (1,0–20,0 % Suc). Для приготовления растворов использовали биологически активный гиббереллин GA₃ (Sigma Aldrich, Германия). Поскольку концентрация растворов GA₃ была очень низкой, в экспериментах с чистым гиббереллином контролем служили варианты опытов с дистиллированной водой. В опытах с введением сахарозы и смеси «GA₃ + сахароза» варианты сравнивали между собой. Каждый вариант опыта поставлен в трех повторностях (на трех деревьях).

Погодные условия в оба года проведения эксперимента находились в пределах климатической нормы (рис. 1). Введение растворов осуществляли в течение 5 недель. В 2006 г. этот отрезок времени охватывал период активного камбиального роста и завершение деятель-

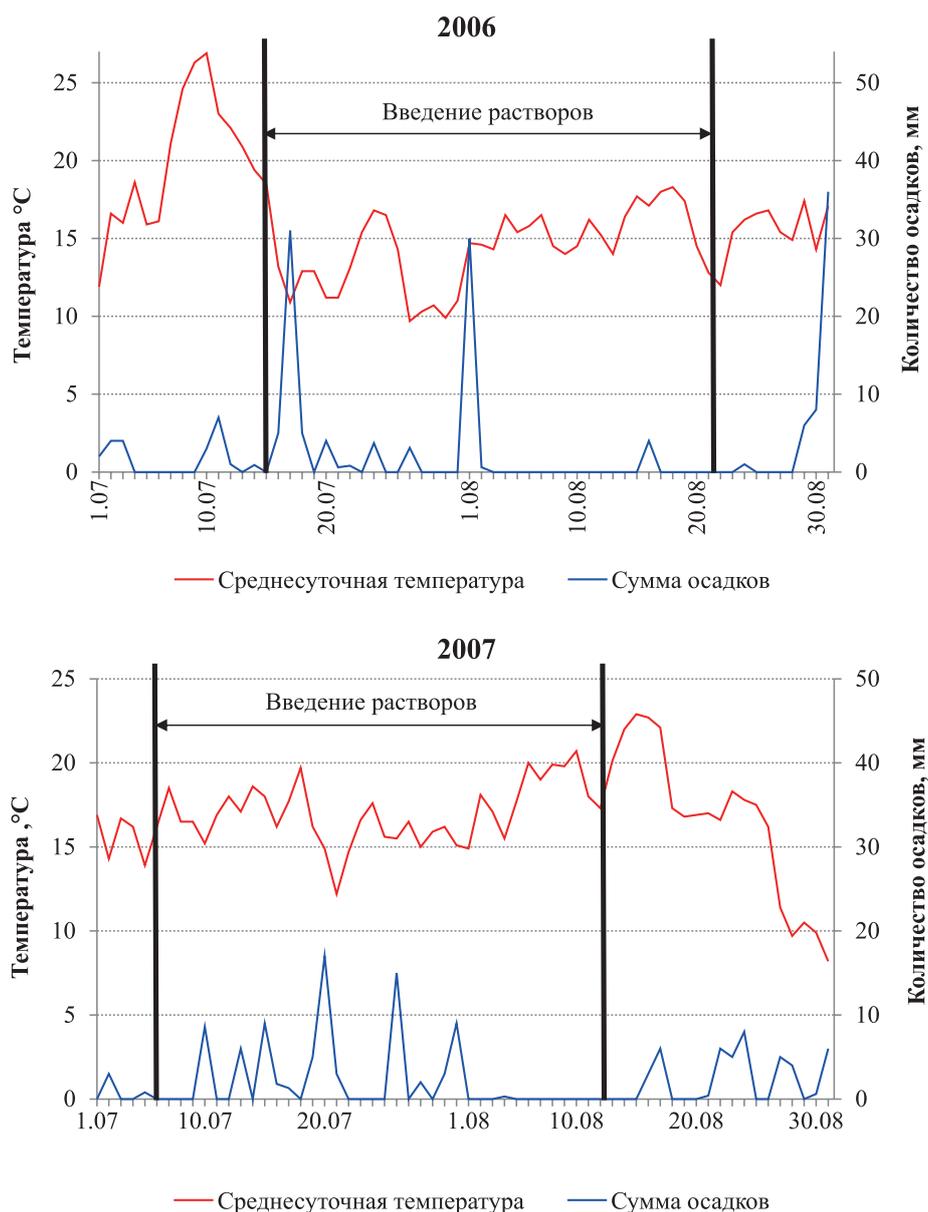


Рис. 1. Среднесуточная температура воздуха и количество осадков во время проведения экспериментов в 2006 и 2007 гг. Данные получены с сервера <https://rp5.ru> по г. Петрозаводску. Сплошной вертикальной линией обозначены даты начала и окончания введения растворов

Fig. 1. The average daily air temperature and precipitation during the experiments in 2006 and 2007. The data was received from the server <https://rp5.ru> in the city of Petrozavodsk. The solid vertical line indicates the start and end dates of the introduction of the solutions

ности камбия. В 2007 г. введение растворов прекратили, когда на фоне высоких среднесуточных температур и достаточного количества осадков камбий еще продолжал работать.

Отбор образцов проводили в октябре. К этому времени структурные элементы ксилемы текущего года были полностью сформированы. Для микроскопических исследований из средней части камеры вырезали блок тканей объ-

емом $5 \times 5 \times 3$ мм (длина \times ширина \times высота), включающий слои от зоны контакта опытного раствора с раневой поверхностью коры до начала годичного кольца ксилемы предыдущего года. Образцы фиксировали глутаральдегидом с последующей постфиксацией осмием и заключали в эпон [Уикли, 1975]. На ультратоме LKB Ultratome IV (Швеция) изготавливали срезы толщиной 2 мкм, которые окрашивали 1% вод-

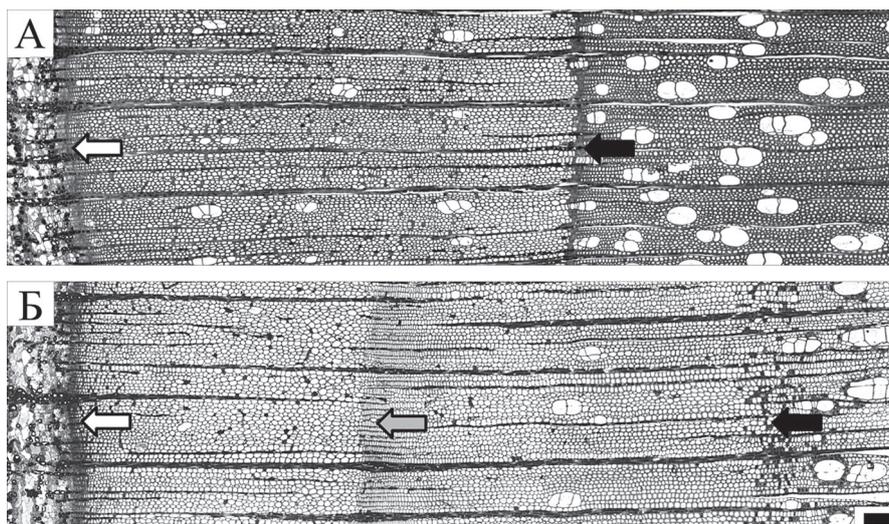


Рис. 2. Поперечные срезы ксилемы из зоны экспериментального воздействия. А – эксперимент 2006 г., вариант с введением 0,2% гиббереллина; Б – эксперимент 2007 г., вариант с введением 0,01% гиббереллина. Черными стрелками обозначена барьерная зона, серой стрелкой – промежуточный слой уплощенных клеток, белыми стрелками – слой терминальной ксилемы. Длина отрезка = 100 мкм

Fig. 2. Cross sections of xylem from the experimental zone. А – experiment in 2006, a variant with the introduction of 0.2% gibberellin; Б – experiment in 2007, variant with the introduction of 0.01% gibberellin. Black arrows indicate the barrier zone, gray arrows indicate the intermediate layer of flattened cells, white arrows indicate the terminal xylem. Scale bar = 100 microns

ным раствором сафранина. Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе AxioImager A1 (Karl Zeiss, Германия), используя фотокамеру ADF PRO03 и программное обеспечение ADF Image Capture (ADF Optics, Китай). В ходе анатомических исследований руководствовались рекомендациями [Яценко-Хмельевский, 1954; IAWA ..., 1989]. На трех микрофотографиях срезов с помощью программы ImageJ v. 1.50 (NIH, США) измеряли приросты ксилемы в 3-кратной повторности для каждого среза.

Статистическую обработку результатов проводили на базе программы Statistica, версия 10 (StatSoft, Россия). Оценку достоверности различий между вариантами осуществляли с применением процедуры общих линейных моделей (GLM). Статистически достоверными считались различия при уровне значимости $p < 0,05$. Если значение p было меньше 0,001, то p указывали в формате $p < 0,001$. Все данные на диаграммах представлены как $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

В оба года исследований в ксилеме всех опытных деревьев была отчетливо видна барьерная зона, сложенная сплюснутыми в ради-

альном направлении элементами, многие из которых сохранили протопласт, т. е. представляли собой клетки паренхимы (рис. 2). Барьерная зона – это часть ксилемы, формирующаяся в ответ на различные неспецифические поражения тканей ствола и выполняющая защитную функцию [Shigo, Dudzik, 1985]. В нашем эксперименте барьерная зона появилась в результате ответной реакции камбия на удаление периферических слоев коры, поэтому ее локализация может служить анатомическим маркером начала экспериментального воздействия.

В 2007 г. во всех образцах, кроме эксперимента № 3 (введение сахарозы), в приросте ксилемы, сформировавшемся после начала эксперимента, мы наблюдали промежуточный слой уплощенных клеток, расположенный между барьерной зоной и слоем терминальной ксилемы текущего года (рис. 2, Б). В отличие от терминальной ксилемы ширина этого слоя была существенно больше, он имел достаточно размытые очертания, составляющие его клетки сохраняли относительно тонкие оболочки. В образцах 2006 г. промежуточный слой уплощенных клеток в приросте ксилемы отсутствовал (рис. 2, А).

Уменьшение радиального диаметра клеток свидетельствует о воздействии некоего стрессового фактора. Сравнительный анализ по-

годных условий в июле–августе 2006–2007 гг. (рис. 1) указывает на то, что формирование промежуточного слоя в 2007 г. не было связано с сильными перепадами температуры или длительной засухой. Кроме того, в период проведения исследований на деревьях березы не было вспышек развития энтомофауны, что могло бы повлиять на формирование ксилемы. Вместе с тем важным различием между экспериментами было то, что в 2006 г. введение растворов в камеры прекратили в связи с завершением камбиального роста, тогда как в 2007 г. на фоне благоприятных погодных условий деятельность камбия после прекращения введения растворов еще продолжалась. Удаление растворов из камер и демонтаж водонепроницаемого материала, очевидно, привели к резкому изменению влажности тканей ствола в зоне экспериментального воздействия, и это оказало влияние на растяжение клеток дифференцирующейся ксилемы. Таким образом, в эксперименте 2007 г. промежуточный слой уплотненных клеток в ксилеме можно рассматривать как маркер окончания эксперимента.

В связи с вышесказанным, в 2006 г. измеренный прирост включал ксилему, сформировавшуюся от начала эксперимента до окончания камбиального роста (от барьерной зоны до внешней границы годичного кольца текущего года – $ПР_2$). В 2007 г. прирост ксилемы в экспериментах № 2 и № 4 измеряли отдельно в частях, формирование которых проходило (1) в период введения растворов (от барьерной зоны до промежуточного слоя уплотненных клеток – $ПР_1$) и (2) после окончания эксперимента (от слоя уплотненных клеток до внешней границы прироста текущего года – $ПР_2$). В эксперименте № 3 измеренный прирост ксилемы включал зону от начала эксперимента до окончания камбиального роста (от барьерной зоны до внешней границы годичного кольца текущего года – $ПР_2$).

Введение растворов гиббереллина различной концентрации

В 2006 г. прирост ксилемы, сформировавшейся после начала эксперимента, был значительно выше в вариантах с введением растворов гиббереллина по сравнению с контролем (дистиллированная вода) ($p < 0,001$). В то же время различия между приростами при разных концентрациях гиббереллина отсутствовали ($p = 0,419$) (рис. 3, А).

В 2007 г. из трех деревьев, участвовавших в эксперименте, одно дерево было исключено из анализа в связи с тем, что в ходе исследова-

ния микропрепаратов у него было диагностировано повреждение камбия на стадии изготовления камер. У двух оставшихся деревьев различия между контролем и опытом, как и в предыдущий год, были очень большими ($p = 0,004$) (рис. 3, Б). В разных вариантах опыта прироста ксилемы, сформировавшейся в период введения растворов ($ПР_1$), практически не различались ($p = 0,283$), что также совпадает с результатами 2006 г. Обращает на себя внимание, что величина приростов, сформировавшихся в течение 5 недель эксперимента в 2006 и 2007 гг., имеет близкие значения и колеблется в пределах 1480–2190 и 1330–1780 мкм соответственно. После окончания эксперимента наблюдалась явно выраженная тенденция увеличения прироста ($ПР_2$) по мере роста концентрации гиббереллина в растворе (деревья 4 и 5). К сожалению, подтвердить достоверность наблюдаемых различий не представляется возможным из-за малого объема выборки.

Таким образом, в наших опытах введение гиббереллина GA_3 в ткани ствола взрослых растений березы повислой, произрастающих в естественных условиях, привело к значительному увеличению прироста ксилемы по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым повышение уровня биоактивного гиббереллина в тканях приводит к усилению камбиальной активности и продукции ксилемы у листовых древесных растений [Bradley, Crane, 1957; Wareing, 1958; Digby, Wareing, 1966; Zakrzewski, 1983; Eriksson et al., 2000; Guo et al., 2015; Jeon et al., 2016]. Отсутствие различий между вариантами опыта с разной концентрацией гиббереллина (0,005 % – 0,02 %, 0,05 % – 0,2 %) позволяет предположить, что использованные концентрации вызвали максимально возможный отклик камбиальной зоны в условиях данного метаболического статуса клеток и тканей. В пользу этого свидетельствует «остаточный» эффект более высоких концентраций гиббереллина, который мы наблюдали после окончания эксперимента в виде увеличения прироста ксилемы ($ПР_2$) по мере роста концентрации ранее вводимого раствора (рис. 3, Б).

Введение растворов сахарозы и смеси гиббереллина с сахарозой

В эксперименте с введением растворов сахарозы у всех деревьев мы наблюдали ярко выраженное уменьшение ширины прироста, сформировавшегося во время эксперимента, с увеличением концентрации сахарозы в растворе ($p < 0,001$) (рис. 3, В). При этом величина

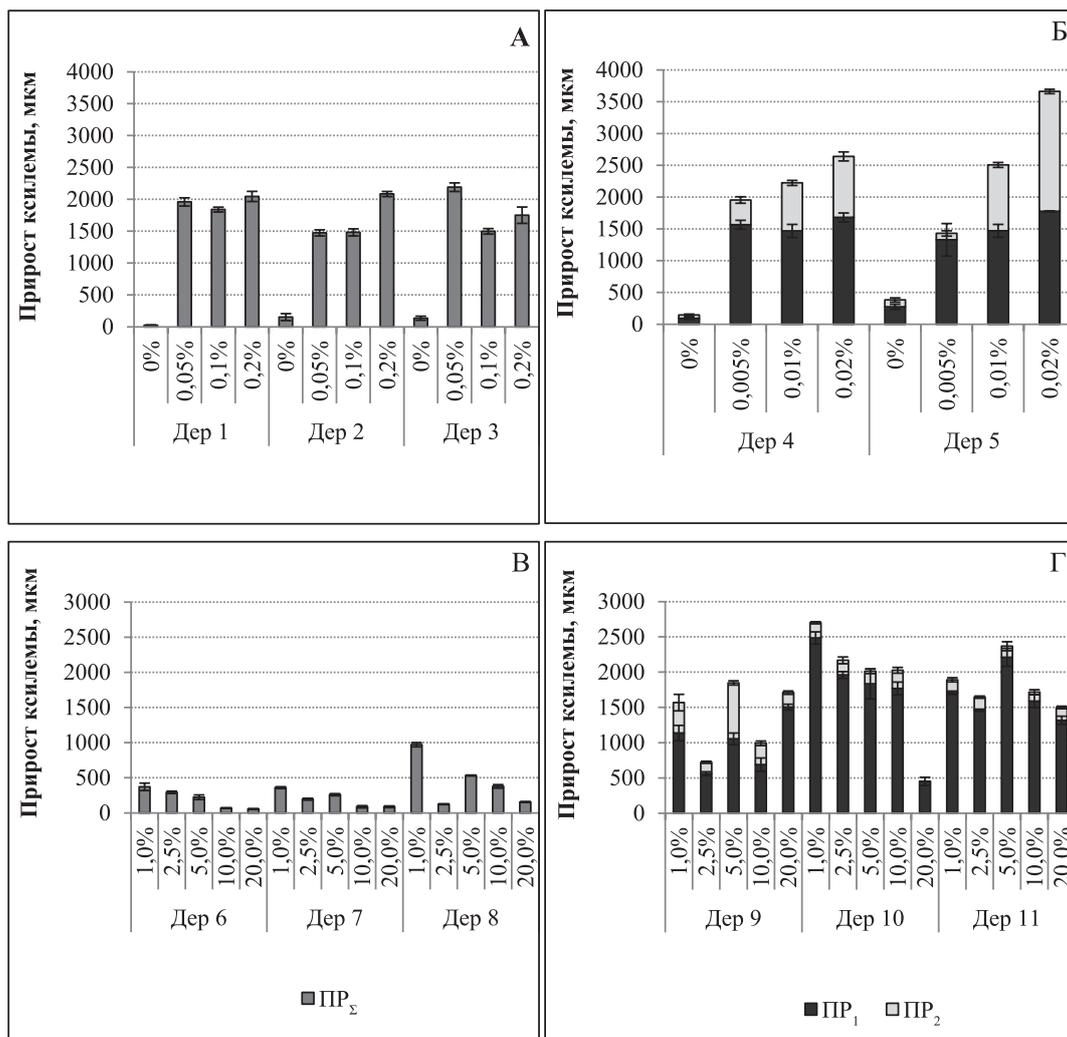


Рис. 3. Приросты ксилемы. А – эксперимент № 1, Б – эксперимент № 2, В – эксперимент № 3, Г – эксперимент № 4. $ПР_{\Sigma}$, $ПР_1$ – прирост за период введения растворов, $ПР_2$ – прирост после введения растворов

Fig. 3. Xylem increments. А – Experiment No. 1, Б – Experiment No. 2, В – Experiment No. 3, Г – Experiment No. 4. $ПР_{\Sigma}$, $ПР_1$ – the increment over the period of solution injection, $ПР_2$ – the increment after solution injection

прироста была небольшой: за исключением одного варианта опыта (дерево 8, сахараза 1 %) она колебалась в пределах 60–530 мкм.

Сопоставление результатов экспериментов с введением чистой сахаразы (рис. 3, В) и смеси сахаразы с гиббереллином (рис. 3, Г) показывает значительное увеличение приростов ксилемы при добавлении гормона. Это еще раз свидетельствует о стимулирующем действии гиббереллина на формирование ксилемы.

В опыте с введением смеси «гиббереллин + сахараза» статистический анализ не выявил достоверных различий между вариантами с разной концентрацией сахаразы по величине прироста ксилемы, сформировавшегося как во время эксперимента ($ПР_1$) ($p = 0,54$), так и после его окончания ($ПР_2$) ($p = 0,406$). Тем не ме-

нее в 80 % случаев абсолютные значения приростов были ниже, чем при введении 0,01% гиббереллина без сахаразы (рис. 3, Б, Г). Что касается высоких концентраций сахаразы (10 и 20 %), то отмеченный подавляющий эффект дисахарида наблюдался в 100 % случаев.

Установлено, что конъюгированные гиббереллины содержат гликозильный остаток, который получают от УДФ-глюкозы (УДФГ) [Sembdner et al., 1991]. Была предложена модель, согласно которой экзогенная сахараза может действовать через повышение количества УДФГ, что приводит к увеличению уровня конъюгированных и понижению уровня свободных гиббереллинов [Šimko, 1994]. Синтез УДФГ в растениях происходит при расщеплении сахаразы с участием сахаразосинтазы (сахараза + УДФ ↔

УДФГ + фруктоза) или УДФГ-пирофосфорилазы (глюкозо-1-фосфат + УТФ ↔ УДФГ + ФФн). Ранее мы показали, что (1) введение экзогенной сахарозы в ткани ствола березы приводит к росту активности апопластной инвертазы [Тарелкина и др., 2015], (2) гексозы, образующиеся в инвертазной реакции, могут использоваться на образование глюкозо-1-фосфата (Гл-1-Ф) [Novitskaya et al., 2019]. Исследования на мутантах арабидопсиса продемонстрировали способность инвертазы обеспечивать количество УДФГ, необходимое для нормального роста и развития растения [Barratt et al., 2009]. Это свидетельствует о том, что гексозы, образующиеся в инвертазной реакции, превращаются в Гл-1-Ф, который взаимодействует с пирофосфорилазами клетки, результатом чего становится синтез УДФГ. Таким образом, подавляющий эффект высоких концентраций сахарозы в опыте с введением смеси «гиббереллин + сахароза» может быть следствием конъюгации гиббереллина на фоне повышения уровня УДФГ. С другой стороны, необходимо учитывать, что стимулирующий эффект гиббереллина на ксилогенез проявляется только в присутствии ауксина [Wareing, 1958; Digby, Wareing, 1966; Doley, Leyton, 1968; Zakrzewski, 1983]. Показано, что ауксин вызывает изменение экспрессии 83 % гиббереллин-зависимых генов, что указывает на общность двух путей гормональной регуляции [Björklund et al., 2007]. В связи с этим нельзя исключить, что в нашем эксперименте уменьшение стимулирующего действия гиббереллина в присутствии сахарозы могло быть связано с инактивацией свободного (физиологически активного) ауксина вследствие образования конъюгата ИУК-глюкоза. Тем более что синтез ИУК-глюкозы, как и в случае конъюгации гиббереллина, идет при взаимодействии ауксина с УДФГ [Michalczuk, Bandurski, 1982].

Заключение

Впервые исследовано влияние гиббереллина на формирование ксилемы у взрослых представителей рода *Betula*. В качестве методического приема использован разработанный нами способ введения экзогенных растворов в ткани ствола древесных растений. Опробовано действие растворов гиббереллина GA₃ в широком диапазоне концентраций; полученные данные будут использованы при выборе условий для максимально эффективной стимуляции камбиального роста в ходе дальнейших исследований.

Введение растворов гиббереллина в ткани ствола деревьев березы повислой вызвало сильное увеличение приростов ксилемы

по сравнению с контролем. Отсутствие различий по величине прироста при разных концентрациях опытного раствора может быть связано с тем, что диапазон использованных концентраций находился выше максимально возможного отклика камбиальной зоны на стимулирующее действие гормона. На это указывает увеличение приростов в вариантах с большей концентрацией гиббереллина, которое наблюдалось после прекращения введения растворов, т. е. в условиях, когда концентрация гормона в тканях резко снизилась.

Впервые показано действие гиббереллина на интенсивность камбиального роста на фоне разных концентраций сахарозы. Поступление в ткани смеси гиббереллина с сахарозой способствовало активизации деятельности камбия в сторону ксилемы, однако абсолютная величина приростов была ниже, чем при введении только гиббереллина. В данном случае подавляющее рост действие сахарозы может быть следствием образования на ее основе большого количества УДФ-глюкозы, взаимодействие которой с гиббереллином приводит к его конъюгации. Кроме того, возможно, что действие сахарозы на гиббереллин имело опосредованный характер, поскольку УДФ-глюкоза участвует также в инактивации ауксина, а присутствие его свободной формы необходимо для стимулирующего эффекта гиббереллина.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН).

Литература

- Колесниченко В. М. Динамика содержания и превращения ассимилятов у древесных растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 1985. 22 с.
- Новицкая Л. Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.
- Тарелкина Т. В., Новицкая Л. Л. Влияние экзогенной сахарозы на формирование флоэмы березы повислой, ольхи серой и осины // Труды КарНЦ РАН. 2019. № 12. С. 43–54. doi: 10.17076/eb1103
- Тарелкина Т. В., Новицкая Л. Л., Галибина Н. А. Содержание растворимых сахаров в тканях ствола березы, ольхи и осины в эксперименте с введением экзогенной сахарозы // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 12. С. 135–142. doi: 10.17076/eb215
- Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М.: Мир, 1975. 324 с.
- Яценко-Хмелевский А. А. Основы и методы аналитического исследования древесины. М.: АН СССР, 1954. 337 с.

- Aloni R. Ecophysiological implications of vascular differentiation and plant evolution // *Trees*. 2015. Vol. 29. P. 1–16. doi: 10.1007/s00468-014-1070-6
- Barratt D. H. P., Derbyshire P., Findlay K., Pike M., Wellner N., Lunn J., Feil R., Simpson C., Maule A. J., Smith A. M. Normal growth of *Arabidopsis* requires cytosolic invertase but not sucrose synthase // *PNAS*. 2009. Vol. 106. P. 13124–13129. doi: 10.1073/pnas.0900689106
- Björklund S., Antti H., Uddestrand I., Moritz T., Sundberg B. Cross-talk between gibberellin and auxin in development of *Populus* wood: gibberellin stimulates polar auxin transport and has a common transcriptome with auxin // *TPJ*. 2007. Vol. 52. P. 499–511. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03250.x
- Bradley M. V., Crane J. C. Gibberellin-stimulated cambial activity in stems of apricot spur shoots // *Science*. 1957. Vol. 126. P. 972–973. doi: 10.1126/science.126.3280.972
- Digby J., Wareing P. F. The effect of applied growth hormones on cambial division and the differentiation of the cambial derivatives // *Ann. Bot.* 1966. Vol. 30. P. 539–550. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a084095
- Doley D., Leyton L. Effects of growth regulating substances and water potential on the development of secondary xylem in *Fraxinus* // *New Phytol.* 1968. Vol. 67. P. 579–594. doi: 10.1111/j.1469-8137.1968.tb05485.x
- Eriksson M. E., Israelsson M., Olsson O., Moritz T. Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length // *Nat. Biotechnol.* 2000. Vol. 18. P. 784–788. doi: 10.1038/77355
- Funada R., Miura T., Shimizu Y., Kinase T., Nakaba S., Kubo T., Sano Y. Gibberellin-induced formation of tension wood in angiosperm trees // *Planta*. 2008. Vol. 227. P. 1409–1414. doi: 10.1007/s00425-008-0712-6
- Guo H., Wang Y., Liu H., Hu P., Jia Y., Zhang C., Wang Y., Gu S., Yang C., Wang C. Exogenous GA3 application enhances xylem development and induces the expression of secondary wall biosynthesis related genes in *Betula platyphylla* // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16. P. 22960–22975. doi: 10.3390/ijms160922960
- Hedden P., Thomas S. G. Gibberellin biosynthesis and its regulation // *Biochem. J.* 2012. Vol. 444. P. 11–25. doi: 10.1042/BJ20120245
- IAWA list of microscopic features for hardwood identification // *IAWA Bull.* 1989. Vol. 10. P. 219–332.
- Israelsson M., Sundberg B., Moritz T. Tissue-specific localization of gibberellins and expression of gibberellin-biosynthetic and signaling genes in wood-forming tissues in aspen // *TPJ*. 2005. Vol. 44. P. 494–504. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02547.x
- Jeon H.-W., Cho J.-S., Park E.-J., Han K.-H., Choi Y.-I., Ko J.-H. Developing xylem-preferential expression of *PdGA20ox1*, a gibberellin 20-oxidase 1 from *Pinus densiflora*, improves woody biomass production in a hybrid poplar // *Plant Biotechnol. J.* 2016. Vol. 14. P. 1161–1170. doi: 10.1111/pbi.12484
- Kijidani Y., Koga S., Sakagami H., Matsunaga H. Effects of application of trans-zeatin on tracheid differentiation in mature sugi (*Cryptomeria japonica*) trees // *J. Wood Sci.* 2016. Vol. 62. P. 370–376. doi: 10.1007/s10086-016-1559-2
- Kijidani Y., Nagai T., Suwashita T., Tsuyama T. Seasonal variations of tracheid formation and amount of auxin (IAA) and gibberellin A4 (GA4) in cambial-region tissues of mature sugi (*Cryptomeria japonica*) cultivar grown in a Nelder plot with different tree densities // *J. Wood Sci.* 2017. Vol. 63. P. 315–321. doi: 10.1007/s10086-017-1626-3
- Michalczyk L., Bandurski R. S. Enzymic synthesis of 1-O-indol-3-ylacetyl- β -D-glucose and indol-3-ylacetyl-myoinositol // *Biochem J.* 1982. Vol. 207. P. 273–281. doi: 10.1042/bj2070273
- Novitskaya L. L., Tarelkina T. V., Galibina N. A., Moshchenskaya Y. L., Nikolaeva N. N., Nikerova K. M., Podgornaya M. N., Sofronova I. N., Semenova L. I. The formation of structural abnormalities in Karelian birch wood is associated with auxin inactivation and disrupted basipetal auxin transport // *J. Plant Growth Regul.* 2019 (в печати). doi: 10.1007/s00344-019-09989-8
- 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. P. 18–29. doi: 10.1007/s00344-004-0419-2
- Philipson J. J., Coutts M. P. Effects of growth hormone application on the secondary growth of roots and stems in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr // *Ann. Bot.* 1980. Vol. 46. P. 747–755. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085972
- Ridoutt B. G., Pharis R. P., Sands R. Fibre length and gibberellins A1 and A20 are decreased in *Eucalyptus globules* by acylcyclohexanedione injected into the stem // *Physiol. Plant.* 1996. Vol. 96. P. 559–566. doi: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb00227.x
- Schneider G., Schliemann W. Gibberellin conjugates: an overview // *Plant Growth Regul.* 1994. Vol. 15. P. 247–260. doi: 10.1007/BF00029898
- Sembdner G., Schliemann W., Schneider G. Biochemical and physiological aspects of gibberellin conjugation // *Gibberellins* / Eds. N. Takahashi, B. O. Phinney, J. MacMillan. Springer-Verlag, New York, 1991. P. 249–263. doi: 10.1007/978-1-4612-3002-1_24
- Shigo A. L., Dudzik K. R. Response of uninjured cambium to xylem injury // *Wood Sci. Technol.* 1985. Vol. 19. P. 195–200. doi: 10.1007/BF00392048
- Šimko I. Sucrose application causes hormonal changes associated with potato tuber induction // *J. Plant Growth Regul.* 1994. Vol. 13. P. 73–77. doi: 10.1007/BF00210950
- Sorce C., Giovannelli A., Sebastiani L., Anfodillo T. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees // *Plant Cell Reports.* 2013. Vol. 32. P. 885–898. doi: 10.1007/s00299-013-1431-4
- Turgeon R., Wolf S. Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2009. Vol. 60. P. 207–221. doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.092045
- Wareing P. F. Interaction between indole-acetic acid and gibberellic acid in cambial activity // *Nature*. 1958. Vol. 181. P. 1744–1745. doi: 10.1038/1811744a0
- Zakrzewski J. Hormonal control of cambial activity and vessel differentiation in *Quercus robur*

// *Physiol. Plant.* 1983. Vol. 57. P. 537–542. doi: 10.1111/j.1399-3054.1983.tb02782.x

Zimmermann M. H., Ziegler H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates // *Transport in plants Encyclopedia of plant physiology* / Eds.

M. H. Zimmermann, J. A. Milburn. New York: Springer-Verlag, 1975. P. 482–503.

Поступила в редакцию 16.08.2019

References

Kolesnichenko V. M. Dinamika sodержaniya i prevrashcheniya assimil'yatov u drevesnykh rastenii [Dynamics of the content and conversion of assimilates in woody plants]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Voronezh, 1985. 22 p.

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

Tarelkina T. V., Novitskaya L. L., Galibina N. A. Soderzhanie rastvorimykh sakharov v tkanyakh stvola berezy, ol'khi i osiny v eksperimente s vvedeniem ekzogennoi sakharozy [The content of soluble sugars in the tissues of the trunk of birch, alder and aspen in the experiment with the introduction of exogenous sucrose]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 12. P. 135–142. doi: 10.17076/eb215

Tarelkina T. V., Novitskaya L. L. Vliyanie ekzogennoi sakharozy na formirovanie floemy berezy povislui, ol'khi seroi i osiny [Exogenous sucrose effect on phloem formation in silver birch, grey alder and aspen]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2019. No. 12. P. 43–54. doi: 10.17076/eb1103

Weakley B. Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh [A beginner's handbook in biological electron microscopy]. Moscow: World, 1975. 324 p.

Yatsenko-Khmelevskii A. A. Osnovy i metody anatomicheskogo issledovaniya drevesiny [Fundamentals and methods of anatomical studies of wood]. Moscow: AN SSSR, 1954. 337 p.

Aloni R. Ecophysiological implications of vascular differentiation and plant evolution. *Trees*. 2015. Vol. 29. P. 1–16. doi: 10.1007/s00468-014-1070-6

Barratt D. H. P., Derbyshire P., Findlay K., Pike M., Wellner N., Lunn J., Feil R., Simpson C., Maule A. J., Smith A. M. Normal growth of Arabidopsis requires cytosolic invertase but not sucrose synthase. *PNAS*. 2009. Vol. 106. P. 13124–13129. doi: 10.1073/pnas.0900689106

Björklund S., Antti H., Uddestrand I., Moritz T., Sundberg B. Cross-talk between gibberellin and auxin in development of *Populus* wood: gibberellin stimulates polar auxin transport and has a common transcriptome with auxin. *TPJ*. 2007. Vol. 52. P. 499–511. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03250.x

Bradley M. V., Crane J. C. Gibberellin-stimulated cambial activity in stems of apricot spur shoots. *Science*. 1957. Vol. 126. P. 972–973. doi: 10.1126/science.126.3280.972

Digby J., Wareing P. F. The effect of applied growth hormones on cambial division and the differentiation of the cambial derivatives. *Ann. Bot.* 1966. Vol. 30. P. 539–550. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a084095

Doley D., Leyton L. Effects of growth regulating substances and water potential on the development of secondary xylem in *Fraxinus*. *New Phytol.* 1968. Vol. 67. P. 579–594. doi: 10.1111/j.1469-8137.1968.tb05485.x

Eriksson M. E., Israelsson M., Olsson O., Moritz T. Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length. *Nat. Biotechnol.* 2000. Vol. 18. P. 784–788. doi: 10.1038/77355

Funada R., Miura T., Shimizu Y., Kinase T., Nakaba S., Kubo T., Sano Y. Gibberellin-induced formation of tension wood in angiosperm trees. *Planta*. 2008. Vol. 227. P. 1409–1414. doi: 10.1007/s00425-008-0712-6

Guo H., Wang Y., Liu H., Hu P., Jia Y., Zhang C., Wang Y., Gu S., Yang C., Wang C. Exogenous GA3 application enhances xylem development and induces the expression of secondary wall biosynthesis related genes in *Betula platyphylla*. *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16. P. 22960–22975. doi: 10.3390/ijms160922960

Hedden P., Thomas S. G. Gibberellin biosynthesis and its regulation. *Biochem. J.* 2012. Vol. 444. P. 11–25. doi: 10.1042/BJ20120245

IAWA list of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bull.* 1989. Vol. 10. P. 219–332.

Israelsson M., Sundberg B., Moritz T. Tissue-specific localization of gibberellins and expression of gibberellin-biosynthetic and signaling genes in wood-forming tissues in aspen. *TPJ*. 2005. Vol. 44. P. 494–504. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02547.x

Jeon H.-W., Cho J.-S., Park E.-J., Han K.-H., Choi Y.-I., Ko J.-H. Developing xylem-preferential expression of *PdGA20ox1*, a gibberellin 20-oxidase 1 from *Pinus densiflora*, improves woody biomass production in a hybrid poplar. *Plant Biotechnol. J.* 2016. Vol. 14. P. 1161–1170. doi: 10.1111/pbi.12484

Kijidani Y., Koga S., Sakagami H., Matsunaga H. Effects of application of trans-zeatin on tracheid differentiation in mature sugi (*Cryptomeria japonica*) trees. *J. Wood Sci.* 2016. Vol. 62. P. 370–376. doi: 10.1007/s10086-016-1559-2

Kijidani Y., Nagai T., Suwashita T., Tsuyama T. Seasonal variations of tracheid formation and amount of auxin (IAA) and gibberellin A4 (GA4) in cambial-region tissues of mature sugi (*Cryptomeria japonica*) cultivar grown in a Nelder plot with different tree densities. *J. Wood Sci.* 2017. Vol. 63. P. 315–321. doi: 10.1007/s10086-017-1626-3

Michalczyk L., Bandurski R. S. Enzymic synthesis of 1-O-indol-3-ylacetyl- β -D-glucose and indol-3-ylacetyl-myoinositol. *Biochem. J.* 1982. Vol. 207. P. 273–281. doi: 10.1042/bj2070273

Novitskaya L. L., Tarelkina T. V., Galibina N. A., Moshchenskaya Y. L., Nikolaeva N. N., Nikerova K. M., Podgornaya M. N., Sofronova I. N., Semenova L. I. The formation of structural abnormalities in Karelian birch wood is associated with auxin inactivation and disrupted basipetal auxin transport. *J. Plant Growth Regul.* 2019. (In press). doi: 10.1007/s00344-019-09989-8

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. P. 18–29. doi: 10.1007/s00344-004-0419-2

Philipson J. J., Coutts M. P. Effects of growth hormone application on the secondary growth of roots and stems in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. *Ann. Bot.* 1980. Vol. 46. P. 747–755. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085972

Ridoutt B. G., Pharis R. P., Sands R. Fibre length and gibberellins A1 and A20 are decreased in *Eucalyptus globules* by acylcyclohexanedione injected into the stem. *Physiol. Plant.* 1996. Vol. 96. P. 559–566. doi: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb00227.x

Schneider G., Schliemann W. Gibberellin conjugates: an overview. *Plant Growth Regul.* 1994. Vol. 15. P. 247–260. doi: 10.1007/BF00029898

Sembdner G., Schliemann W., Schneider G. Biochemical and physiological aspects of gibberellin conjugation. *Gibberellins*. Eds. N. Takahashi, B. O. Phinney, J. MacMillan. New York: Springer-Verlag, 1991. P. 249–263. doi: 10.1007/978-1-4612-3002-1_24

Shigo A. L., Dudzik K. R. Response of uninjured cambium to xylem injury. *Wood Sci. Technol.* 1985. Vol. 19. P. 195–200. doi: 10.1007/BF00392048

Šimko I. Sucrose application causes hormonal changes associated with potato tuber induction. *J. Plant*

Growth Regul. 1994. Vol. 13. P. 73–77. doi: 10.1007/BF00210950

Sorce C., Giovannelli A., Sebastiani L., Anfodillo T. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. *Plant Cell Reports.* 2013. Vol. 32. P. 885–898. doi: 10.1007/s00299-013-1431-4

Turgeon R., Wolf S. Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2009. Vol. 60. P. 207–221. doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.092045

Wareing P. F. Interaction between indole-acetic acid and gibberellic acid in cambial activity. *Nature.* 1958. Vol. 181. P. 1744–1745. doi: 10.1038/1811744a0

Zakrzewski J. Hormonal control of cambial activity and vessel differentiation in *Quercus robur*. *Physiol. Plant.* 1983. Vol. 57. P. 537–542. doi: 10.1111/j.1399-3054.1983.tb02782.x

Zimmermann M. H., Ziegler H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. *Transport in plants Encyclopedia of plant physiology*. Eds. M. H. Zimmermann, J. A. Milburn. New York: Springer-Verlag, 1975. P. 482–503.

Received August 16, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Новицкая Людмила Людвиговна

главный научный сотрудник 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

Тарелкина Татьяна Владимировна

научный сотрудник 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: karelina.t.v@gmail.com
тел.: (8142) 568216

Николаева Надежда Николаевна

старший 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: nnnikol@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 568216

CONTRIBUTORS:

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

Tarelkina, Tatiana

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: karelina.t.v@gmail.com
tel.: (8142) 568216

Nikolaeva, Nadezhda

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nnnikol@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 568216

Иванова Диана Сергеевна

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
тел.: (8142) 568216

Семенова Людмила Игоревна

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
тел.: (8142) 568216

Ivanova, Diana

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
tel.: (8142) 568216

Semenova, Ludmila

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
tel.: (8142) 568216

УДК 581.824.2: 581.143.32

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ САХАРОЗЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ ФЛОЭМЫ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ, ОЛЬХИ СЕРОЙ И ОСИНЫ

Т. В. Тарелкина, Л. Л. Новицкая

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

Представлены результаты экспериментов, направленных на выявление роли сахарозы в аномальном морфогенезе проводящих тканей лиственных древесных растений. Ранее мы показали, что высокие концентрации экзогенной сахарозы вызывают у березы и ольхи формирование ксилемы, имеющей большое сходство с узорчатыми древесинами этих видов, тогда как ксилема осины сохраняет типичное для вида строение. В настоящей работе продемонстрировано влияние растворов сахарозы различной концентрации на формирование флоэмы. У ольхи и осины введение высоких концентраций сахарозы (10 и 20 %) не оказало влияния на структуру поздней флоэмы; реакция этих видов проявилась через изменение функционального состояния паренхимных клеток (появление крупной центральной вакуоли, накопление крахмала). У березы увеличение концентрации сахарозы в растворе привело к усилению паренхиматизации поздней флоэмы. В проводящей флоэме всех исследованных видов при введении растворов с концентрацией сахарозы 1–5 % закладывались элементы склеренхимы, что является структурной аномалией для березы, но типично для ольхи и осины. Сделан вывод, что при увеличении концентрации сахаров в камбиальной зоне березы выше некоего порогового значения их утилизации в рамках прежней структуры тканей оказывается недостаточно, и происходит образование новых запасающих клеток и склереид. У ольхи и осины, очевидно, имеются механизмы, обеспечивающие поддержание уровня сахарозы в пределах, необходимых для сохранения характерной для вида модели флоэмогенеза, одним из которых может быть образование толстостенных элементов склеренхимы. Разница в запасных метаболитах в условиях эксперимента дает основание полагать, что в тканях ствола ольхи и осины отсутствует большой избыток сахаров.

Ключевые слова: сахароза; флоэмогенез; запасающая паренхима; склереиды; волокна; крахмал.

T. V. Tarelkina, L. L. Novitskaya. EXOGENOUS SUCROSE EFFECT ON PHLOEM FORMATION IN SILVER BIRCH, GREY ALDER AND ASPEN

This study is a continuation of a series of experiments to identify the role of sucrose in the anomalous morphogenesis of conducting tissues in deciduous woody plants. Previously, it was found that the exposure of trunk tissue to solutions with a high concentration of sucrose causes birch and alder to form xylem similar to the figured grain of these species, while aspen xylem does not differ in structure from typical wood. In this paper, the effect of sucrose solutions of various concentrations on phloem formation is analyzed. In alder and aspen, high concentrations of sucrose (10 and 20 %) were found to have no effect on the structure of the late phloem; the reaction of these species was manifested through a change in the functional state of parenchyma cells (formation of a large central

vacuole, accumulation of starch). At the same time, birch demonstrated a tendency for increased parenchymatization of the late phloem with increasing sucrose concentration in the solution, but the observed differences were not significant. In the treatments with a sucrose concentration 1–5 %, sclerenchyma elements in all the studied species differentiated in the conductive phloem. This is a structural anomaly for birch, but typical for alder and aspen. It was concluded that as the concentration of sugars in the cambial zone of birch rises above a certain threshold value, their utilization within the framework of the former structure of tissues become insufficient, and so there form new storage cells and sclereids. Supposedly, alder and aspen have mechanisms to keep the level of sucrose within the limits necessary for normal phloemogenesis, and one of them, apparently, is the formation of thick-walled sclerenchyma elements. The difference in the metabolites stored by parenchyma cells under the experimental conditions is a reason to believe that trunk tissues of grey alder and aspen normally do not contain much of excessive sugars.

Key words: sucrose; phloemogenesis; storage parenchyma; sclereids; fibers; starch.

Введение

Узорчатая древесина одной из форм березы повислой – карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica*) высоко ценится по всему миру за свои декоративные качества и является одной из наиболее ценных древесин Северной Европы [Hagqvist, Mikkola, 2008]. Высокая эстетическая и хозяйственная ценность узорчатой древесины обуславливает неизменный интерес к изучению механизмов, лежащих в основе ее формирования.

Большинство авторов связывают образование узорчатой древесины карельской березы с нарушением деятельности камбия и дифференциации камбиальных производных [Барильская, 1978; Ahokas, 1985; Коровин, Зуихина, 1985; Коровин, 1987; Velling et al., 2000; Коровин и др., 2003; Naujoks et al., 2017]. Камбий – гетеротрофная ткань, его активность находится в прямой зависимости от притока фотоассимилятов [Kandiah, 1979; Oribe et al., 2003; Simard et al., 2013]. Основной транспортной формой ассимилятов у древесных растений умеренного климата является сахароза [Zimmermann, Ziegler, 1975; Turgeon, Wolf, 2009]. В период активного камбиального роста это практически единственный сахар, который обнаруживается во флоэмном экссудате березы повислой (*Betula pendula* Roth) [Колесниченко, 1985]. Установлено, что формирование узорчатой древесины карельской березы происходит на фоне высокой концентрации сахарозы в камбиальной зоне [Novitskaya, Kushnir, 2006; Novitskaya et al., 2016], что сопровождается изменением активности расщепляющих сахарозу ферментов [Галибина и др., 2015а, б] и экспрессии кодирующих их генов [Мощенская и др., 2017, Галибина и др., 2019]. Выдвинута гипотеза, согласно которой формирование аномальной древесины у карельской березы индуцируется

появлением избытка транспортной сахарозы в проводящей флоэме и камбиальной зоне [Новицкая, 1997, 2008; Novitskaya, Kushnir, 2006]. Проверка гипотезы осуществлялась с использованием методического приема, позволяющего изучить влияние сахарозы на деятельность интактного камбия [Novitskaya, Kushnir, 2006; Новицкая, 2008]. В ткани ствола обычной березы повислой с типичной для вида прямо-слоистой древесиной (*B. pendula* var. *pendula*) вводили растворы сахарозы различной концентрации. Было установлено, что рост концентрации сахарозы в растворе сопровождался изменением камбиальной активности [Тарелкина, Новицкая, 2018] и формированием проводящих тканей, имеющих общие черты с проводящими тканями карельской березы [Novitskaya, Kushnir, 2006; Novitskaya, 2009; Tarelkina et al., 2018]. В дальнейшем были поставлены эксперименты с введением растворов сахарозы в ткань ствола двух других древесных видов – ольхи серой (*Alnus incana* (L.) Moench) и осины (*Populus tremula* L.). У осины ксилема, сформировавшаяся во время эксперимента, имела типичное для вида строение, тогда как у ольхи при введении высоких концентраций сахарозы (10 и 20 %) ксилема приобретала некоторые черты строения, характерные для узорчатой древесины этого вида [Tarelkina et al., 2018].

В наших предыдущих публикациях основное внимание уделено влиянию избытка сахарозы на формирование ксилемы. В настоящей работе на примере тех же видов исследована взаимосвязь между повышением уровня сахарозы и развитием структурных аномалий проводящей флоэмы.

Материалы и методы

Объектами исследования были береза повислая (*Betula pendula* Roth), ольха серая (*Alnus*

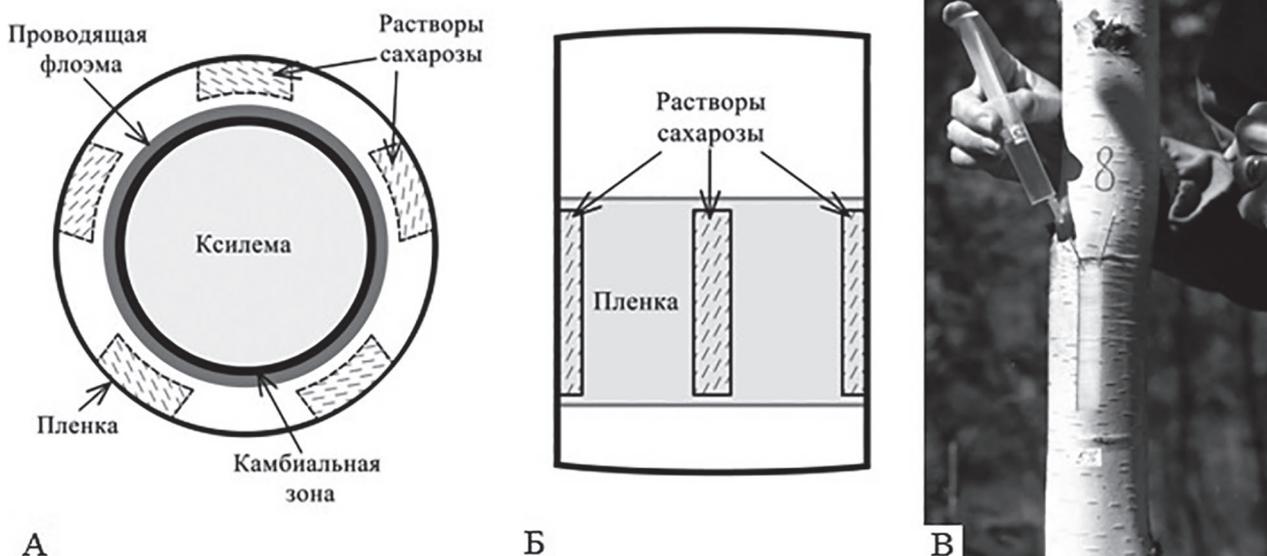


Рис. 1. Эксперимент с введением растворов сахарозы в ткани ствола древесных растений. Радиальная (А) и фронтальная (Б) проекции схемы расположения камер с растворами. В – внешний вид камеры во время введения раствора

Fig. 1. An experiment with the introduction of sucrose solutions in to the trunk tissues of woody plants. A, B – schematic representation of chambers with solutions, radial (A) and frontal (B) projections. В – appearance of the chamber during the introduction of the solution

incana (L.) Moench) и осина (тополь дрожащий, *Populus tremula* L.). Подбирали деревья в возрасте 15–20 лет без видимых внешних повреждений. Все они произрастали в одинаковых почвенно-климатических условиях на Агробиологической станции КарНЦ РАН (2 км к югу от г. Петрозаводска, 61°45' с. ш., 34°20' в. д.).

Введение растворов сахарозы в ткани ствола проводили в соответствии с опубликованной методикой [Novitskaya, Kushnir, 2006; Новицкая, 2008]. На высоте 130 см от земли на стволе намечали 5 вертикально расположенных прямоугольников (10 × 2 см) на одинаковом расстоянии друг от друга (рис. 1). В прямоугольниках при помощи прививочного ножа аккуратно удаляли наружные слои коры до нижней части непроводящей флоэмы. Проводящая флоэма и камбий оставались неповрежденными. После этого зону поранения изолировали водонепроницаемым материалом (прозрачный скотч), в результате чего на стволе получали 5 одинаковых камер. В камеры с помощью шприца вводили растворы сахарозы возрастающей концентрации: 1%; 2,5%; 5%; 10%; 20%. Каждый раствор вводили в одну из камер.

Введение растворов проводили в период активного камбиального роста и продолжали до завершения деятельности камбия. Интенсивная транспирация листьев способствовала всасыванию растворов внутрь ствола. Использование

прозрачного скотча в качестве водонепроницаемого материала позволяло следить за уровнем раствора в камерах. Растворы ежедневно добавляли, чтобы камеры были заполнены целиком. Продолжительность эксперимента составляла 5 недель. Биологическая повторяемость для каждого вида – 3 дерева.

Посторонние воздействия в эксперименте были сведены к минимуму за счет соблюдения следующих условий: 1) для эксперимента подбирались деревья примерно одного возраста, высоты и диаметра, с ровными стволами без видимых повреждений, близко произраставшие друг к другу в одинаковых почвенно-климатических условиях; 2) камеры были сделаны на одной высоте и равномерно расположены по окружности ствола на равном расстоянии друг от друга, имели одинаковые линейные размеры и объем; 3) различия по времени между заполнением отдельных камер были минимальными.

Отбор образцов проводили в конце вегетационного периода (октябрь), поскольку к этому моменту все клетки завершили свое формирование. Для микроскопических исследований из средней части каждой камеры вырезали блок объемом 5 × 5 × 3 мм (длина × ширина × высота), который включал слои тканей от зоны контакта опытного раствора с раневой поверхностью коры до начала годичного кольца кси-

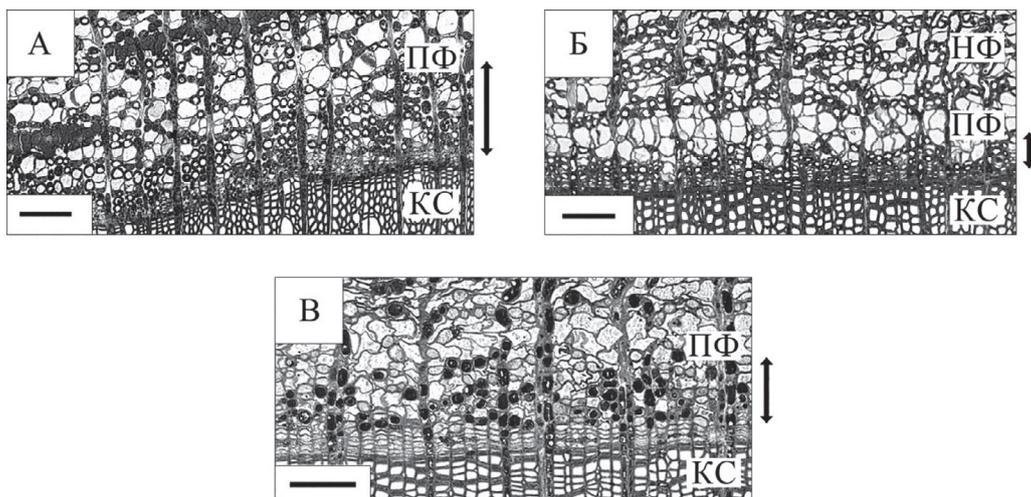


Рис. 2. Внутренние слои коры осины (А), ольхи (Б) и березы (В). Вариант с введением 10% раствора сахарозы. НФ – непроводящая флоэма, ПФ – проводящая флоэма, КС – ксилема. Двойной стрелкой обозначена нижняя зона коры. Отрезок = 100 мкм

Fig. 2. Inner layers of the bark of aspen (A), alder (Б) and birch (В). Variant with 10% sucrose solution. НФ – non-conductive phloem, ПФ – conductive phloem, КС – xylem. The double arrow indicates the lower zone of the bark. Scale bar = 100 μm

лемы предыдущего года. Образцы фиксировали глутаральдегидом с последующей постфиксацией осмием и заключали в эпон [Уикли, 1975]. На ультратоме LKB Ultratome IV (Швеция) изготавливали срезы толщиной 2 мкм, которые окрашивали 1% водным раствором сафранина. Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе Axiolmager A1 (Karl Zeiss, Германия), обработку изображений осуществляли при помощи программы ВидеоТест-Морфология 5.0 (ВидеоТест, Россия).

При проведении измерений руководствовались рекомендациями [Яценко-Хмелевский, 1954; IAWA..., 1989; Scholz et al., 2013]. На микрофотографиях срезов методами имидж-анализа проводили измерения следующих параметров:

- 1) ширина приростов флоэмы (на поперечных срезах в 3-кратной повторности для каждого варианта и каждого дерева);
- 2) относительная площадь, занятая клетками аксиальной паренхимы, и их количество (в 3–5 участках поздней флоэмы, суммарная площадь которых составляла не менее 0,5 мм²; полученные данные суммировали для каждого дерева и каждого варианта и пересчитывали в шт./мм²);
- 3) доля клеток с крупной центральной вакуолью в общем числе паренхимных клеток;
- 4) относительная площадь крахмальных зерен в клетках лучевой паренхимы поздней флоэмы (увеличение x1000 с использованием иммерсионного масла; в каждом образце подсчитывали относительную пло-

щадь, занимаемую крахмальными зёрнами в клетках лучевой паренхимы, не имеющих крупной центральной вакуоли; подсчет вели в 20-кратной повторности с каждого образца).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы Statistica, версия 10 (StatSoft, Россия). Оценку достоверности различий между вариантами для таких параметров, как прирост поздней флоэмы и относительная площадь крахмальных зерен в клетке, проводили с применением процедуры общих линейных моделей (GLM). Оценку достоверности различий между вариантами для остальных параметров проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты и обсуждение

Микроскопический анализ показал, что в области экспериментального воздействия через 2 месяца после окончания введения растворов (октябрь; ростовые процессы в дереве завершены, ткани ствола полностью сформированы) в коре исследованных видов, как и в древесине [Tarelkina et al., 2018], можно выделить три зоны, различающиеся по анатомическому строению:

- 1) периферическую зону, состоящую из ранней перидермы (феллема + феллоген + феллодерма) и каллусной паренхимы;
- 2) среднюю зону, включающую непроводящую флоэму и слой ранней проводящей флоэмы;

Параметры поздней флоэмы, сформировавшейся у исследованных видов в эксперименте с введением в ткань ствола растворов сахарозы

Parameters of the late phloem, formed in the studied species in the experiment with the introduction of sucrose solutions into the trunk tissues

Вид Species	Параметр Parameter	Концентрация сахарозы в растворе Concentration of sucrose in the solution					p-value
		1,0 %	2,5 %	5,0 %	10,0 %	20,0 %	
<i>Betula pendula</i>	W_{phl} , мкм W_{phl} , μm	111,06 ± 45,27	110,26 ± 28,24	125,61 ± 11,32	116,74 ± 13,98	121,45 ± 10,71	0,188
	S_p , %	73,25 ± 12,03	66,44 ± 2,74	78,87 ± 7,86	80,85 ± 10,72	76,12 ± 11,23	0,571
	N_p , шт./мм ² N_p , n/mm ²	1742 ± 224	2081 ± 434	2035 ± 84	2271 ± 416	2545 ± 226	0,122
<i>Alnus incana</i>	W_{phl} , мкм W_{phl} , μm	84,23 ± 20,81	84,03 ± 18,34	77,77 ± 21,36	85,43 ± 20,54	82,36 ± 15,82	0,588
	S_p , %	66,80 ± 14,93	50,27 ± 0,88	67,21 ± 19,25	61,73 ± 10,01	72,67 ± 1,23	0,377
	N_p , шт./мм ² N_p , n/mm ²	1920 ± 195	1437 ± 334	2074 ± 779	1733 ± 141	2069 ± 411	0,492
	R_v , %	68,08 ± 13,45	72,87 ± 2,49	58,73 ± 1,98	58,32 ± 3,61	60,79 ± 3,18	0,288
	S_{st} , %	21,55 ± 7,60	24,44 ± 6,43	24,47 ± 7,05	22,95 ± 6,05	26,55 ± 7,07	0,273
<i>Populus tremula</i>	W_{phl} , мкм W_{phl} , μm	124,03 ± 37,58	116,37 ± 25,58	119,75 ± 35,02	116,20 ± 38,49	124,30 ± 35,67	0,078
	S_p , %	62,21 ± 6,42	58,54 ± 9,36	57,84 ± 9,09	63,73 ± 7,49	62,98 ± 11,15	0,258
	N_p , шт./мм ² N_p , n/mm ²	2419 ± 397	1955 ± 296	2061 ± 403	2773 ± 261	1987 ± 337	0,087
	R_v , %	37,46 ± 5,42	38,73 ± 1,93	38,54 ± 10,47	22,12 ± 13,01	53,27 ± 4,45	0,022
	S_{st} , %	20,36 ± 4,88	30,21 ± 7,07	37,52 ± 7,20	36,28 ± 6,57	40,89 ± 6,82	0,0001

Примечание. Все данные представлены как $M \pm SD$, где M – средняя величина, SD – стандартное отклонение. W_{phl} – прирост поздней флоэмы, S_p – относительная площадь паренхимы в поздней флоэме, N_p – число паренхимных клеток на единицу площади поздней флоэмы, R_v – доля клеток с крупной центральной вакуолью в общем числе паренхимных клеток, S_{st} – относительная площадь клетки луча поздней флоэмы, занятая крахмалом. Различия между вариантами эксперимента достоверны при $p\text{-value} \leq 0,05$.

Note. All data are presented as $M \pm SD$, where M is the average value, SD is the standard deviation. W_{phl} – width of the late phloem increment, S_p – relative area of parenchyma in the late phloem, N_p – number of parenchyma cells per unit area of the late phloem, R_v – proportion of cells with a large central vacuole in the total number of parenchyma cells, S_{st} – relative area of the late phloem ray cell occupied by starch. The differences are significant at $p\text{-value} \leq 0,05$.

3) нижнюю зону, представленную слоем поздней проводящей флоэмы (рис. 2).

Наибольший интерес представляет нижняя зона, т. к. ее формирование по времени совпало с проведением эксперимента [Косиченко, 1969; Kramer, Kozłowski, 1979; Еремин, Нитченко, 1996]. В связи с этим влияние сахарозы на морфогенез проводящей флоэмы оценивали на основании исследования поздней флоэмы.

Прирост поздней флоэмы. У трех исследованных видов отсутствовали достоверные различия между вариантами эксперимента по величине полностью сформированного прироста поздней флоэмы (табл.). У ольхи приросты не превышали 100 мкм, у осины у одного дерева данный показатель был больше 150 мкм, у березы он в основном колебался в пределах 100–150 мкм. Обращает на себя внимание, что у ольхи и осины приросты поздней флоэмы в вариантах с разными концентрациями сахарозы практически не изменялись, тогда как у двух деревьев березы имела место

тенденция к увеличению приростов с ростом концентрации раствора от 1 до 5 %, после чего они оставались на достигнутом уровне.

Ранее в аналогичном эксперименте было показано, что у березы при повышении концентрации сахарозы в растворе происходило уменьшение приростов ксилемы [Novitskaya, Kushnir, 2006]. Различия между приростами дают основание говорить о разной реакции материнских клеток двух проводящих тканей на повышение концентрации сахарозы, что находит подтверждение в морфогенетическом эффекте градиента сахарозы в камбиальной зоне [Krabel, 2000; Sundberg et al., 2000].

Паренхима в составе поздней флоэмы. У березы наблюдалась тенденция к увеличению как площади, занятой паренхимой в поздней флоэме, так и числа паренхимных клеток на 1 мм² поперечного среза с ростом концентрации раствора (табл.). У ольхи и осины различий по данным показателям мы не выявили. В то же время реакция паренхимных клеток

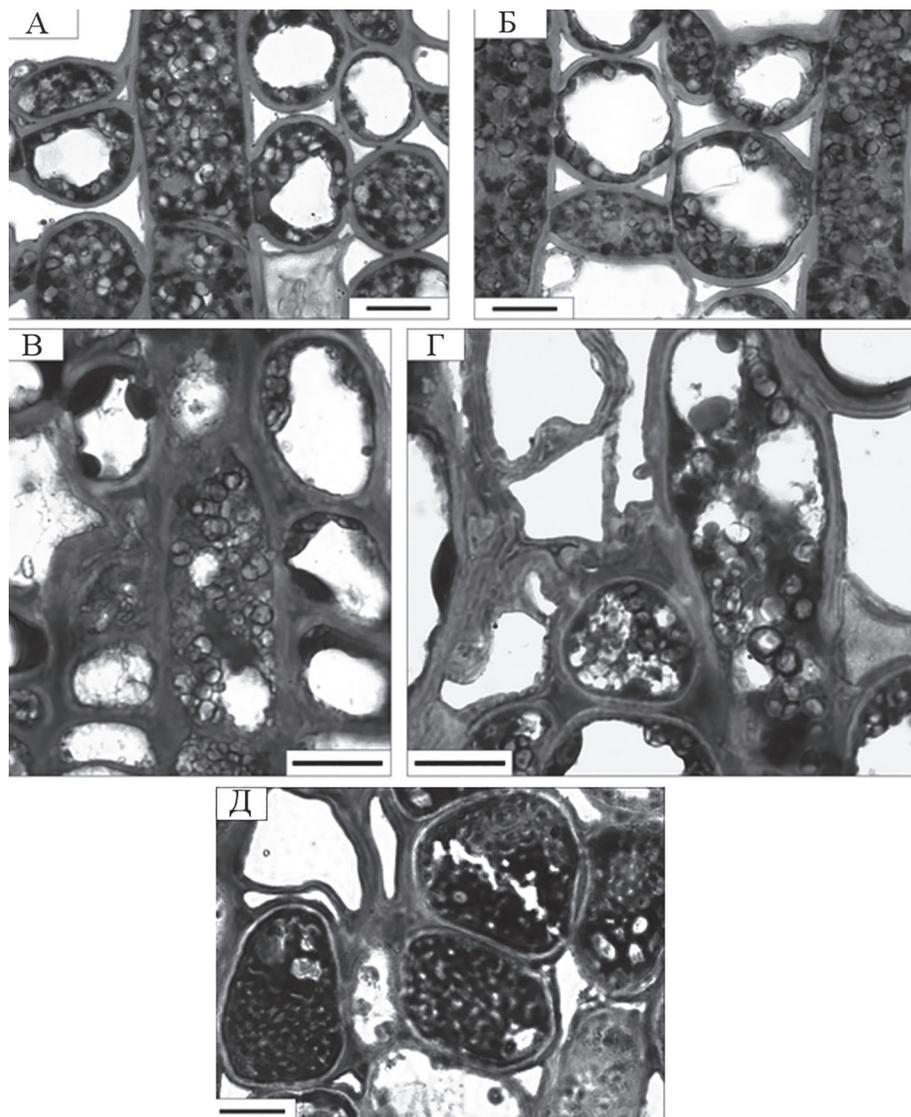


Рис. 3. Крахмальные зерна в клетках поздней флоэмы. А и Б – осина, варианты с введением 2,5% и 20% растворов сахарозы соответственно, В и Г – ольха, варианты с 1% и 20% раствором сахарозы соответственно, Д – береза, вариант с введением 10% раствора сахарозы. Длина отрезка = 10 мкм

Fig. 3. Starch grains in cells of the late phloem. А and Б – aspen, the variants with 2.5% and 20% sucrose solutions, respectively, В and Г – alder, the variants with 1% and 20% sucrose solution, respectively, Д – birch, the variant with 10% sucrose solution. Scale bar = 10 μm

на введение растворов сахарозы у трех исследованных видов была различной.

В проводящей флоэме осины при высокой концентрации сахарозы (20 %) отмечен сдвиг соотношения между клетками без вакуоли и клетками с крупной центральной вакуолью в сторону увеличения доли последних (табл.) ($p < 0,05$). Вакуоли имели бесцветное прозрачное содержимое. У ольхи во всех вариантах эксперимента 60 и более процентов паренхимных клеток имели крупную центральную вакуоль, содержимое вакуолей также было бесцветным и прозрачным.

Увеличение концентрации сахарозы в растворе стимулировало накопление крахмала в паренхимных клетках коры осины (табл.; рис. 3, А, Б). Так, в варианте с введением 1% раствора сахарозы площадь крахмальных зерен в клетках лучевой паренхимы поздней флоэмы составляла около 20 %, тогда как в варианте с введением 20% сахарозы крахмальные зерна занимали до 40 % площади клетки ($p < 0,001$). У ольхи мы не наблюдали значительного увеличения содержания крахмала в клетках лучевой паренхимы поздней флоэмы

с увеличением концентрации сахарозы (табл.; рис. 3, В, Г). Во всех вариантах эксперимента крахмальные зерна занимали около 20–25 % площади поперечного сечения клетки.

У березы оценить степень вакуолизации паренхимных клеток флоэмы, а также площадь, занятую крахмальными зернами в клетках лучевой паренхимы, не представлялось возможным из-за большого количества присутствовавших в клетках танинов, которые при фиксации четырехокисью осмия окрашивались в черный цвет. Тем не менее в отдельных клетках аксиальной паренхимы мы все же наблюдали накопление крахмала (рис. 3, Д).

Паренхимные клетки в составе проводящих тканей выполняют много функций, важнейшими из которых являются накопление запасных соединений и участие в поддержании концентрационных градиентов в русле дальнего транспорта метаболитов [Sauter, 1988; De Schepper et al., 2013; Spicer, 2014; Morris, 2016]. Тенденция к увеличению числа паренхимных клеток в проводящей флоэме березы при высоких концентрациях экзогенного раствора указывает на усиление в ткани функции запасаения.

Роль запасных резервуаров отводится вакуолям и пластидам паренхимных клеток. Обращает на себя внимание разница в запасаемых метаболитах у исследованных видов. Накопление сахаров в вакуоли является одной из первых реакций клетки на появление избытка сахарозы [Курсанов, 1976; Гамалей, 2004]. Биохимический анализ свидетельствует о том, что в крупных прозрачных вакуолях паренхимных клеток ольхи и осины присутствовал продукт расщепления сахарозы – фруктоза [Тарелкина и др., 2015]. У ольхи и особенно у осины в паренхимных клетках поздней флоэмы мы наблюдали крахмальные зерна. Синтез крахмала считается одним из наиболее мобильных путей выведения сахаров из обмена веществ через их отложение в «неглубокий» запас. Известно, что при высоком уровне сахаров образование крахмала сменяется более субстрато- и энергозатратным синтезом соединений липидной природы [Курсанов, 1976]. Факт, что при введении высоких концентраций сахарозы в паренхиме коры ольхи и осины накапливались растворимые сахара и крахмал, указывает на то, что уровень сахаров в клетках был относительно небольшим. В свою очередь в клетках березы в тех же вариантах эксперимента имел место активный синтез нейтральных (запасных) липидов [Шуляковская и др., 2014] и танинов [Novitskaya, Kushnir, 2006], и это свидетельствует о значительном повышении здесь содержания сахарозы.

Результаты нашего эксперимента позволяют предположить, что у ольхи и осины имеются механизмы, способствующие быстрому освобождению проводящей флоэмы от избытка сахарозы. Что касается березы, то у нее, очевидно, концентрация сахарозы поднимается выше некоторого порогового значения, биохимические механизмы регуляции их уровня (синтез запасных соединений) в рамках существующих клеток паренхимы оказываются недостаточно эффективными, и происходит образование новых запасующих клеток.

Склеренхима в составе поздней флоэмы. У березы введение сахарозы в концентрациях 1, 2,5 и 5 % вызвало склерификацию элементов флоэмы в непосредственной близости от камбия (рис. 4, А). Склерейды имели более крупные размеры, чем окружающие их паренхимные клетки, и были собраны в группы из 5–15 клеток. Судя по размещению групп склерейд между радиальными лучами, склерификация затронула производные камбия, которые в норме должны были дифференцироваться в ситовидные трубки и клетки аксиальной паренхимы. В образцах тканей ольхи, взятых из зоны экспериментального воздействия, в варианте с введением сахарозы в концентрации 2,5 % вблизи камбия были отмечены небольшие группы склерейд, которые, как и у березы, располагались между радиальными лучами (рис. 4, Б). У отдельных деревьев осины при введении сахарозы в концентрациях 1 и 2,5 % мы наблюдали заложение дополнительных небольших групп флоэмных волокон в непосредственной близости от камбия (рис. 4, В). При введении более высоких концентраций сахарозы дополнительные волокна не закладывались.

Таким образом, в эксперименте с введением экзогенной сахарозы у всех исследованных видов в поздней флоэме закладывались элементы склеренхимы с очень толстыми лигнифицированными целлюлозными оболочками – волокна у осины и склерейды у ольхи и березы. Причем в наибольшей степени процесс склерификации был выражен у березы, что совпадает с ранее полученными результатами [Novitskaya, 2009]. Приведенный факт представляет особый интерес в связи с тем, что если у осины и ольхи наличие склеренхимы в проводящей флоэме является типичной для данных видов структурной особенностью этой ткани [Косиченко, 1969; Косиченко, Лисичка, 1978; Trockenbrodt, 1991], то у березы в норме склерейды здесь не образуются [Trockenbrodt, 1991; Еремин, Нитченко, 1996].

Склерейдам коры древесных растений раньше часто приписывали механическую функцию

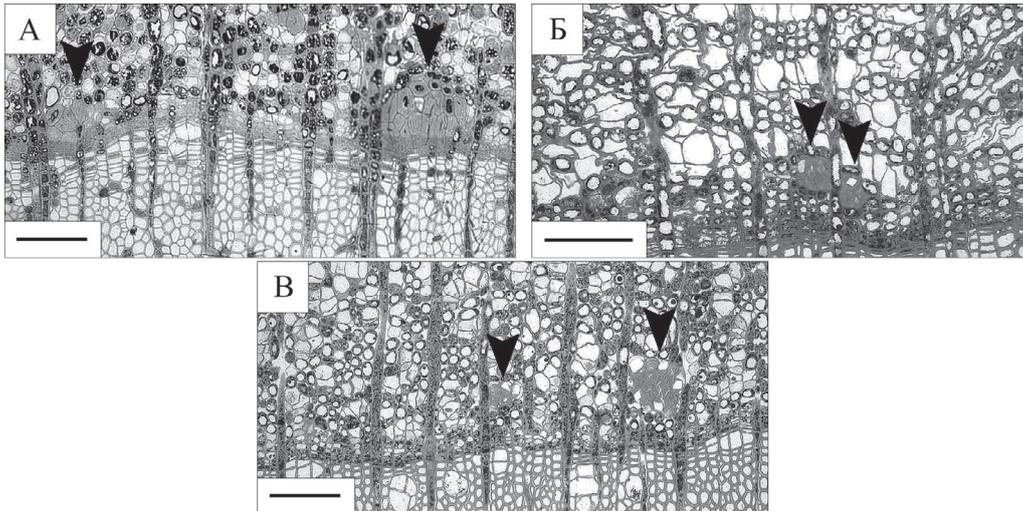


Рис. 4. Элементы склеренхимы в поздней флоэме. А – береза, вариант с введением 5% сахарозы, Б – ольха, вариант с введением 2,5% сахарозы, В – осина, вариант с введением 1% раствора сахарозы. Стрелками указаны группы склереид (А, Б) и группы волокон (В). Отрезок = 100 мкм

Fig. 4. Elements of sclerenchyma in the late phloem. А – birch, the variant with 5% sucrose solution, Б – alder, the variant with 2.5% sucrose solution, В – aspen, the variant with 1% sucrose solution. Arrows indicate sclereid groups (А, Б) and fiber groups (В). Scale bar = 100 μm

[Fahn, 1974; Эзау, 1980]. В то же время высказывалось мнение, что склереиды, располагающиеся, как правило, группами среди окружающих их мягких тканей коры, едва ли могут играть значительную роль в обеспечении механической прочности ствола [Бородин, 1938; Александров, 1966]. Недавно выполненное исследование механических свойств тканей коры плодоножек яблони показало, что склереиды не вносят значительного вклада в прочность плодоножки; эту функцию выполняют флоэмные волокна [Horbens et al., 2014]. Е. Страсбургер [Strasburger, 1891] впервые предположил, что метаболические процессы, имеющие место в запасующих тканях, приводят к выработке излишнего количества целлюлозы, которая затем откладывается в виде толстых слоев во вторичной оболочке склереид. Мы считаем, что склерификация клеток, заключающаяся в отложении толстых целлюлозных лигнифицированных оболочек, представляет собой способ выведения из обмена излишка сахаров [Новицкая, 2008; Novitskaya, 2009].

Примечательно, что заложение дополнительных склеренхимных элементов у ольхи и осины происходило в диапазоне концентраций 1–2,5 %, при введении более высоких концентраций (5–20 %) структура тканей практически не изменялась. У березы «аномальные» склереиды появлялись при концентрациях 1–5 %, в вариантах с 10% и 20% сахарозой они отсутствовали, но при этом сильно повыша-

лась степень паренхиматизации ткани. Исходя из вышесказанного можно допустить, что склерификация клеток проводящих тканей ствола древесных растений является механизмом, обеспечивающим выведение из обмена излишков сахарозы, но в определенных пределах ее концентрации. В этом случае сохранение структуры ткани у ольхи и осины в вариантах с концентрацией сахарозы 10 и 20 % свидетельствует о том, что у них количество сахарозы в проводящей флоэме не поднимается выше уровня, допускающего образование склеренхимы.

Что касается березы, то особенности реакции ее тканей на введение экзогенной сахарозы могут быть связаны с более высокой фотосинтетической продуктивностью единицы площади листа у этого древесного растения по сравнению с другими видами [Цельникер, Малкина, 1986]. Отсюда следует, что в период камбиального роста проводящая флоэма березы, очевидно, функционирует в условиях повышенной загруженности сахарами. Поэтому появление во флоэме дополнительной сахарозы может индуцировать развитие структурных аномалий, призванных утилизировать большие излишки дисахарида.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение сахарозы в ткани ствола березы, ольхи и осины оказало влияние

на формирование флоэмы, но характер и степень проявления этого влияния у разных видов были различными. У березы при высоких концентрациях экзогенной сахарозы проводящая флоэма приобретала сходство с аналогичной тканью карельской березы. В частности, отмечены увеличение объема паренхимы и склерификация клеток вблизи камбиальной зоны. В отличие от березы введение экзогенной сахарозы у ольхи и осины не вызвало заметных изменений в строении проводящей ткани коры, даже на фоне высоких концентраций раствора она сохранила типичное для видов строение. Крупная центральная вакуоль и накопление крахмала в паренхимных клетках флоэмы свидетельствуют об отсутствии здесь большого избытка сахаров. В целом это дает основание считать, что у ольхи и осины имеются механизмы, препятствующие сильному повышению концентрации сахарозы во флоэме. Сохранение гомеостаза в данном случае может осуществляться за счет характерных для этих видов моделей флоэмогенеза, включающих образование структур с очень толстыми лигнифицированными целлюлозными оболочками (склереиды у ольхи и флоэмные волокна у осины), а также в результате интенсивного оттока сахаров в другие ткани и органы.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН).

Авторы выражают благодарность Д. С. Ивановой за помощь в подготовке срезов для микроскопического анализа образцов.

Литература

- Александров В. Г. *Анатомия растений*. М.: Высшая школа, 1966. 431 с.
- Барильская Л. А. Структурный анализ узорчатой древесины карельской березы // *Ботанический журнал*. 1978. Т. 63, № 6. С. 805–811.
- Бородин И. П. *Курс анатомии растений*. М.; Л.: Сельхозгиз, 1938. 312 с.
- Галибина Н. А., Новицкая Л. Л., Красавина М. С., Мощенская Ю. Л. Активность сахарозсинтазы в тканях ствола карельской березы в период камбиального роста // *Физиология растений*. 2015а. Т. 62, № 3. С. 410–419. 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., Новицкая Л. Л., Никерова К. М., Мощенская Ю. Л., Бородина М. Н., Софронова И. Н. Регуляция активности апопластной инвертазы в камбиальной зоне карельской березы // *Онтогенез*. 2019. Т. 50, № 1. С. 53–64. doi: 10.1134/S0475145019010026
- Гамалей Ю. В. *Транспортная система сосудистых растений*. СПб.: СПбГУ, 2004. 424 с.
- Еремин В. М., Нитченко Н. Д. *Анатомия коры представителей сем. Березовых*. Брест: БрГУ, 1996. 100 с.
- Колесниченко В. М. *Динамика содержания и превращения ассимилятов у древесных растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук*. Воронеж, 1985. 22 с.
- Коровин В. В. Общее в строении аномальных древесин // *Ботанический журнал*. 1987. Т. 72, № 4. С. 472–476.
- Коровин В. В., Зуихина С. П. Некоторые закономерности строения аномальной древесины клена, березы и ольхи // *Биологические науки*. 1985. № 8. С. 68–73.
- Коровин В. В., Новицкая Л. Л., Курносков Г. А. *Структурные аномалии стебля древесных растений*. М.: МГУЛ, 2003. 280 с.
- Косиченко Н. Е. К вопросу о годичной слоистости луба древесных пород // *Лесной журнал*. 1969. № 1. С. 33–37.
- Косиченко Н. Е., Лисичка Т. Г. Гистологический состав коры ствола и ветвей *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. и содержание в ней дубильных веществ // *Растиельные ресурсы*. 1978. Т. 14, № 2. С. 268–273.
- Курсанов А. Л. *Транспорт ассимилятов в растении*. М.: Наука, 1976. 647 с.
- Мощенская Ю. Л., Галибина Н. А., Топчиева Л. А., Новицкая Л. Л. Экспрессия генов, кодирующих изоформы сахарозсинтазы, в ходе аномального ксилогенеза карельской березы // *Физиология растений*. 2017. Т. 64, № 4. С. 301–310. doi: 10.7868/S0015330317030101
- Новицкая Л. Л. О возможной причине формирования структурных аномалий ствола карельской березы // *Ботанический журнал*. 1997. Т. 82, № 9. С. 61–66.
- Новицкая Л. Л. *Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий*. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.
- Тарелкина Т. В., Новицкая Л. Л. Изменение частоты и локализации антиклинальных делений в камбиальной зоне березы повислой под влиянием сахарозы // *Онтогенез*. 2018. Т. 49, № 4. С. 1–9. doi: 10.1134/S0475145018010044
- Тарелкина Т. В., Новицкая Л. Л., Галибина Н. А. Содержание растворимых сахаров в тканях ствола березы, ольхи и осины в эксперименте с введением экзогенной сахарозы // *Труды КарНЦ РАН*. 2015. № 12. С. 135–142. doi: 10.17076/eb215
- Уикли Б. *Электронная микроскопия для начинающих*. М.: Мир, 1975. 324 с.
- Цельникер Ю. Л., Малкина И. С. Баланс органического вещества в онтогенезе листа у лиственных деревьев // *Физиология растений*. 1986. Т. 33, № 5. С. 935–943.
- Шуляковская Т. А., Ильинова М. К., Карелина Т. В. Липидный состав тканей ствола *Betula pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Betulaceae) // *Растиельные ресурсы*. 2014. Т. 50, № 1. С. 94–104.
- Эзау К. *Анатомия семенных растений*. М.: Мир, 1980. 560 с.

Яценко-Хмелевский А. А. Основы и методы анатомического исследования древесины. М.: АН СССР, 1954. 337 с.

Ahokas H. Cytokinins in the spring sap of curly birch (*Betula pendula* f. *carelica*) and the non-curling form // *J. Plant Physiol.* 1985. Vol. 118. P. 33–39. doi: 10.1016/S0176-1617(85)80162-0

De Schepper V., De Swaef T., Bauweraerts I., Stepe K. Phloem transport: a review of mechanisms and controls // *J. Exp. Bot.* 2013. Vol. 64. P. 4839–4850. doi: 10.1093/jxb/ert302

Fahn A. Plant anatomy. Oxford, New York: Pergamon Press, 1974. 611 p.

Hagqvist R., Mikkola A. Visakoivun kasvatus ja käyttö. Hämeenlinna: Metsäkustannus & Visaseurary, 2008. 168 p.

Horbens M., Feldner A., Höfer M., Neinhuis C. Ontogenetic tissue modification in *Malus* fruit peduncles: the role of sclereids // *Ann. Bot.* 2014. Vol. 113. P. 105–118. doi: 10.1093/aob/mct262

IAWA list of microscopic features for hardwood identification // *IAWA Bulletin.* 1989. Vol. 10. P. 219–332.

Kandiah S. Turnover of carbohydrates in relation to growth in apple trees. II. Distribution of ¹⁴C assimilates labelled in autumn, spring and summer // *Ann. Bot.* 1979. Vol. 44. P. 185–195. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085718

Krabel D. Influence of sucrose on cambial activity // *Cell and Molecular Biology of Wood Formation* / Eds. R. A. Savidge, J. R. Barnett, R. Napier. Oxford: BIOS Sci. Publ. Ltd, 2000. P. 113–125.

Kramer P. J., Kozlowski T. T. Physiology of woody plants. New York, San Francisco London: Academic Press, 1979. 811 p.

Morris H. R. The structure and function of ray and axial parenchyma in woody seed plants: PhD thesis. Ulm, 2016. 171 p.

Naujoks G., Schneck V., Ewald D. 30 Jahre In-vitro-Vermehrung der Braunmaser-Birke // *AFZ-DerWald.* 2017. No. 5. P. 32–35.

Novitskaya L. L. Effect of sucrose on sclerification of bark cells in *Betula pendula* Roth // *Acta Horticulturae.* 2009. No. 835. P. 117–128. doi: 10.17660/ActaHortic.2009.835.10

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. P. 18–29. doi: 10.1007/s00344-004-0419-2

Novitskaya L., Nikolaeva N., Galibina N., Tarelkina T., Semenova L. The greatest density of parenchyma inclusions in Karelian birch wood occurs at confluences of phloem flows // *Silva Fenn.* 2016. Vol. 50. P. 1461–1478. doi: 10.14214/sf.1461

Oribe Y., Funada R., Kubo T. Relationships between cambial activity, cell differentiation and the localization

of starch in storage tissues around the cambium in locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters // *Trees.* 2003. Vol. 17. P. 185–192. doi: 10.1007/s00468-002-0231-1

Sauter J. J. Seasonal changes in the efflux of sugars from parenchyma cells into the apoplast in poplar stems (*Populus x canadensis* “robusta”) // *Trees.* 1988. Vol. 2. P. 242–249. doi: 10.1007/BF00202379

Scholz A., Klepsch M., Karimi Z., Jansen S. How to quantify conduits in wood? // *Front. Plant Sci.* 2013. Vol. 4. doi: 10.3389/fpls.2013.00056

Simard S., Giovannelli A., Treydte K., Traversi M. L., King G. M., Frank D., Fonti P. Intra-annual dynamics of non-structural carbohydrates in the cambium of mature conifer trees reflects radial growth demands // *Tree Physiol.* 2013. Vol. 33. P. 913–923. doi: 10.1093/treephys/tpt075

Spicer R. Symplasmic networks in secondary vascular tissues: parenchyma distribution and activity supporting long-distance transport // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1829–1848. doi: 10.1093/jxb/ert459

Strasburger E. Ueber den bau und die verrichtungen der leitungsbahnen in den pflanzen. Jena: G. Fischer, 1891. 1000 c.

Sundberg B., Ugglä C., Tuominen H. Cambial growth and auxin gradients // *Cell and Molecular Biology of Wood Formation* / Eds. R. A. Savidge, J. R. Barnett, R. Napier. Oxford: BIOS Sci. Publ. Ltd, 2000. P. 169–188.

Tarelkina T. V., Novitskaya L. L., Nikolaeva N. N. Effect of sucrose exposure on the xylem anatomy of three temperate species // *IAWA J.* 2018. Vol. 39. P. 156–176. doi: 10.1163/22941932-20170198

Trockenbrodt M. Qualitative structural changes during bark development in *Quercus robur*, *Ulmus glabra*, *Populus tremula* and *Betula pendula* // *IAWA Bull.* 1991. Vol. 12. P. 5–22. doi: 10.1163/22941932-90001373

Turgeon R., Wolf S. Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2009. Vol. 60. P. 207–221. doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.092045

Velling P., Vihera-Aarnio A., Hagqvist R., Lehto J. Valuable wood as a result of abnormal cambial activity – the case of *Betula pendula* var. *carelica* // *Cell and Molecular Biology of Wood Formation* / Eds. R. A. Savidge, J. R. Barnett, R. Napier. Oxford: BIOS Sci. Publ. Ltd, 2000. C. 377–386.

Zimmermann M. H., Ziegler H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates // *Transport in plants Encyclopedia of plant physiology* / Eds. M. H. Zimmermann, J. A. Milburn. New York: Springer-Verlag, 1975. C. 482–503.

Поступила в редакцию 04.07.2019

References

Aleksandrov V. G. Anatomiya rastenii [Plant anatomy]. Moscow: Vysshaya shkola, 1966. 431 p.

Bariľ'skaya L. A. Strukturnyi analiz uzorchatoi drevesiny karel'skoi berezy [Structural analysis of figured wood of Karelian birch]. *Botanicheskii zhurn.* [Bot. J.]. 1978. Vol. 63, no. 6. P. 805–811.

Borodin I. P. Kurs anatomii rastenii [Plant anatomy course]. Moscow, Leningrad: Sel'khozgiz, 1938. 312 p.

Eremin V. M., Nitchenko N. D. Anatomiya kory predstavitelei sem. Berezovykh [Bark anatomy of representatives of the Betulaceae family]. Brest: Brestskii State University, 1996. 100 p.

Ezau K. Anatomiya semennykh rastenii [Seed plant anatomy]. Moscow: World, 1980. 560 p.

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. *Rus. J. Plant Physiol.* 2015a. Vol. 62, no. 3. P. 381–389. doi: 10.1134/S102144371503005X

Galibina N. A., Novitskaya L. L., Moshchenskaya Yu. L., Krasavina M. S. Invertase activity in trunk tissues of Karelian birch. *Rus. J. Plant Physiol.* 2015b. Vol. 62, no. 6. P. 753–760. doi: 10.1134/S1021443715060060

Galibina N. A., Novitskaya L. L., Nikerova K. M., Moshchenskaya Yu. L., Borodina M. N., Sofronova I. N. Apoplastic invertase activity regulation in the cambial zone of Karelian birch. *Rus. J. Dev. Biol.* 2019a. Vol. 50, no. 1. P. 53–64. doi: 10.1134/S0475145019010026

Gamalei Yu. V. Transportnaya sistema sosudistyykh rastenii [Transport system of vascular plants]. St. Petersburg: SPbGU, 2004. 424 p.

Kolesnichenko V. M. Dinamika soderzhaniya i prevrashcheniya assimil'nykh u drevesnykh rastenii [Dynamics of the content and conversion of assimilates in woody plants]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Voronezh, 1985. 22 p.

Korovin V. V. Obshchee v stroenii anomal'nykh drevesin [The common in the structure of abnormal woods]. *Botanicheskii zhurn.* [Bot. J.]. 1987. Vol. 72, no. 4. P. 472–476.

Korovin V. V., Zuikhina S. P. Nekotorye zakonomernosti stroeniya anomal'noi drevesiny klena, berezy i ol'khi [Some patterns of the structure of anomalous wood of maple, birch and alder]. *Biol. nauki* [Biol. Sci.]. 1985. No. 8. P. 68–73.

Korovin V. V., Novitskaya L. L., Kurnosov G. A. Strukturnye anomalii steblya drevesnykh rastenii [Structural anomalies of the stem of woody plants]. Moscow: MGUL, 2003. 280 p.

Kosichenko N. E. K voprosu o godichnoi sloistosti luba drevesnykh porod [To the question of the annual layering of phloem of tree species]. *Lesnoi zhurnal* [Forest J.]. 1969. No. 1. P. 33–37.

Kosichenko N. E., Lisichka T. G. Gistologicheskii sostav kory stvola i vetvei *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. i soderzhanie v nei dubil'nykh veshchestv [The histological composition of the bark of the trunk and branches of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. and the content of tannins in it]. *Rastitel'nye resursy* [Plant Resources]. 1978. Vol. 14, no. 2. P. 268–273.

Kursanov A. L. Transport assimil'nykh v rastenii [Transport of assimilates in a plant]. Moscow: Science, 1976. 647 p.

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. *Rus. J. Plant Physiol.* 2017. Vol. 64, no. 4. P. 301–310. doi: 10.1134/S1021443717030104

Novitskaya L. L. O vozmozhnoi prichine formirovaniya strukturnykh anomalii stvola karel'skoi berezy [On the possible reason for the formation of structural anomalies of the trunk of Karelian birch]. *Botanicheskii zhurn.* [Bot. J.]. 1997. Vol. 82, no. 9. P. 61–66.

Novitskaya L. L. Karel'skaya bereza: mekhanizmy rosta i razvitiya strukturnykh anomalii [Kareli-

an birch: mechanisms of growth and development of structural anomalies]. Petrozavodsk: Verso, 2008. 144 p.

Shulyakovskaya T. A., Il'ina M. K., Karelina T. V. Lipidnyi sostav tkanei stvola *Betula pendula* i *B. pendula* var. *carelica* (Betulaceae) [Lipid composition of trunk tissues *Betula pendula* and *B. pendula* var. *carelica* (Betulaceae)]. *Rastitel'nye resursy* [Plant Resources]. 2014. Vol. 50, no. 1. P. 94–104.

Tarelkina T. V., Novitskaya L. L. Sucrose-caused changes in the frequency and localization of anticlinal divisions in the cambial zone of silver birch. *Rus. J. Dev. Biol.* 2018. Vol. 49, no. 4. P. 214–221. doi: 10.1134/S1062360418040045

Tarelkina T. V., Novitskaya L. L., Galibina N. A. Soderzhanie rastvorimykh sakharov v tkanyakh stvola berezy, ol'khi i osiny v eksperimente s vvedeniem ekzogennoi sakharozy [The content of soluble sugars in the tissues of the trunk of birch, alder and aspen in the experiment with the introduction of exogenous sucrose]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 12. P. 135–142. doi: 10.17076/eb215

Tsel'niker Yu. L., Malkina I. S. Balans organicheskogo veshchestva v ontogeneze lista u listvennykh derev'ev [The balance of organic matter in leaf ontogeny in deciduous trees]. *Fiziologiya rastenii* [Rus. J. Plant Physiol.]. 1986. Vol. 33, no. 5. P. 935–943.

Uikli B. Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh [Electron microscopy for beginners]. Moscow: World, 1975. 324 p.

Yatsenko-Khmelevskii A. A. Osnovy i metody anatomicheskogo issledovaniya drevesiny [Fundamentals and methods of anatomical studies of wood]. Moscow: AN SSSR, 1954. 337 p.

Ahokas H. Cytokinins in the spring sap of curly birch (*Betula pendula* f. *carelica*) and the non-curly form. *J. Plant Physiol.* 1985. Vol. 118. P. 33–39. doi: 10.1016/S0176-1617(85)80162-0

De Schepper V., De Swaef T., Bauweraerts I., Stepe K. Phloem transport: a review of mechanisms and controls. *J. Exp. Bot.* 2013. Vol. 64. P. 4839–4850. doi: 10.1093/jxb/ert302

Fahn A. Plant anatomy. Oxford, New York: Pergamon Press, 1974. 611 p.

Hagqvist R., Mikkola A. Visakoivun kasvatus ja käyttö. Hämeenlinna: Metsäkustannus and Visaseurary, 2008. 168 p.

Horbens M., Feldner A., Höfer M., Neinhuis C. Ontogenetic tissue modification in *Malus* fruit peduncles: the role of sclereids. *Ann. Bot.* 2014. Vol. 113. P. 105–118. doi: 10.1093/aob/mct262

IAWA list of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bulletin.* 1989. Vol. 10. P. 219–332.

Kandiah S. Turnover of carbohydrates in relation to growth in apple trees. II. Distribution of ¹⁴C assimilates labelled in autumn, spring and summer. *Ann. Botany.* 1979. Vol. 44. P. 185–195. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085718

Krabel D. Influence of sucrose on cambial activity. Eds. R. A. Savidge, J. R. Barnett, R. Napier. *Cell and Molecular Biology of Wood Formation* Oxford: BIOS Sci. Publ. Ltd, 2000. P. 113–125.

Kramer P. J., Kozlowski T. T. Physiology of woody plants. New York, San Francisco London: Academic Press, 1979. 811 p.

Morris H. R. The structure and function of ray and axial parenchyma in woody seed plants: PhD thesis. Ulm, 2016. 171 p.

Naujoks G., Schneck V., Ewald D. 30 Jahre In-vitro-Vermehrung der Braunmaser-Birke. *AFZ-DerWald*. 2017. No. 5. P. 32–35.

Novitskaya L. L. Effect of sucrose on sclerification of bark cells in *Betula pendula* Roth. *Acta Horticulturae*. 2009. No. 835. P. 117–128. doi: 10.17660/ActaHortic.2009.835.10

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. P. 18–29. doi: 10.1007/s00344-004-0419-2

Novitskaya L., Nikolaeva N., Galibina N., Tarelkina T., Semenova L. The greatest density of parenchyma inclusions in Karelian birch wood occurs at confluences of phloem flows. *Silva Fenn.* 2016. Vol. 50. P. 1461–1478. doi: 10.14214/sf.1461

Oribe Y., Funada R., Kubo T. Relationships between cambial activity, cell differentiation and the localization of starch in storage tissues around the cambium in locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Trees*. 2003. Vol. 17. P. 185–192. doi: 10.1007/s00468-002-0231-1

Sauter J. J. Seasonal changes in the efflux of sugars from parenchyma cells into the apoplast in poplar stems (*Populus x canadensis* «robusta»). *Trees*. 1988. Vol. 2. P. 242–249. doi: 10.1007/BF00202379

Scholz A., Klepsch M., Karimi Z., Jansen S. How to quantify conduits in wood? *Front. Plant Sci.* 2013. Vol. 4. doi: 10.3389/fpls.2013.00056

Simard S., Giovannelli A., Treydte K., Traversi M. L., King G. M., Frank D., Fonti P. Intra-annual dynamics of non-structural carbohydrates in the cambium of mature conifer trees reflects radial growth de-

mands. *Tree Physiol.* 2013. Vol. 33. P. 913–923. doi: 10.1093/treephys/tpt075

Spicer R. Symplasmic networks in secondary vascular tissues: parenchyma distribution and activity supporting long-distance transport. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1829–1848. doi: 10.1093/jxb/ert459

Strasburger E. Ueber den bau und die verrichtungen der leitungsbahnen in den pflanzen. Jena: G. Fischer, 1891. 1000 p.

Sundberg B., Ugglä C., Tuominen H. Cambial growth and auxin gradients // Cell and Molecular Biology of Wood Formation. Eds. R. A. Savidge, J. R. Barnett, R. Napier. Oxford: BIOS Sci. Publ. Ltd, 2000. P. 169–188.

Tarelkina T. V., Novitskaya L. L., Nikolaeva N. N. Effect of sucrose exposure on the xylem anatomy of three temperate species. *IAWA J.* 2018. Vol. 39. P. 156–176. doi: 10.1163/22941932–20170198

Trockenbrodt M. Qualitative structural changes during bark development in *Quercus robur*, *Ulmus glabra*, *Populus tremula* and *Betula pendula*. *IAWA Bull.* 1991. Vol. 12. P. 5–22. doi: 10.1163/22941932-90001373

Turgeon R., Wolf S. Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2009. Vol. 60. P. 207–221. doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.092045

Velling P., Vihera-Aarnio A., Hagqvist R., Lehto J. Valuable wood as a result of abnormal cambial activity – the case of *Betula pendula* var. *carelica*. Eds. R. A. Savidge, J. R. Barnett, R. Napier. *Cell and Molecular Biology of Wood Formation*. Oxford: BIOS Sci. Publ. Ltd, 2000. P. 377–386.

Zimmermann M. H., Ziegler H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. Eds. M. H. Zimmermann, J. A. Milburn. *Transport in plants Encyclopedia of plant physiology*. New York: Springer-Verlag, 1975. P. 482–503.

Received July 04, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Тарелкина Татьяна Владимировна

научный сотрудник 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: karelina.t.v@gmail.com
тел.: (8142) 568216

Новицкая Людмила Людвиговна

главный научный сотрудник 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

CONTRIBUTORS:

Tarelkina, Tatiana

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: karelina.t.v@gmail.com
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

УДК 574.52:574.38:577.127

ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В МУСКУЛАТУРЕ И ПЕЧЕНИ КОЛЮШКИ ТРЕХИГЛОЙ (*GASTEROSTEUS ACULEATUS*) БЕЛОГО МОРЯ В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД

Л. П. Смирнов¹, И. В. Суховская¹, Е. В. Борвинская¹, Д. Л. Лайус²

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

² Санкт-Петербургский государственный университет, Россия

Исследовали некоторые показатели системы антиоксидантной защиты (АОЗ) – уровень глутатиона (GSH), активность глутатион-S-трансферазы (GST), каталазы (CAT) у колюшки трехиглой *Gasterosteus aculeatus* из трех точек Белого моря (губа Сельдяная, лагуна Колюшковая и пролив Сухая Салма) в начале (май) и в конце (июль) нереста. В начале нерестового периода (май) содержание GSH в губе Сельдяная и лагуне Колюшковая как в мышцах, так и в печени было выше, чем в проливе Сухая Салма. В июле (окончание нереста и переход в нагульный период) в исследованных тканях уровень GSH был выше, чем в мае. Активность GST в мышцах колюшки была в среднем в 8 раз ниже, чем в печени, а каталазы – в 37 раз. В июле активность GST в мышцах рыб обоих полов из всех трех биотопов была выше, чем в мае, в 1,7–2,4 раза, в печени – в 1,6–3,3 раза. Активность CAT также возрастала от мая к июлю в мышцах в 1,5–2 раза, в печени – в 1,2–1,7 раза. Наиболее выраженные изменения показателей АОЗ происходили у особей из пролива Сухая Салма. Изменения показателей АОЗ коррелируют с фактором времени: май (начало нереста) – июль (завершение нереста). Активация компонентов АОЗ в организме колюшки на финальном этапе нереста направлена на компенсацию метаболических изменений, вызванных ростом уровня окислительного стресса, стимуляторами которого выступают повышение температуры окружающей среды и активное питание.

Ключевые слова: колюшка трехиглая *Gasterosteus aculeatus*; нерестовый период; глутатион; глутатион-S-трансфераза; каталаза.

L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya, E. V. Borvinskaya, D. K. Lajus. THE VARIABILITY OF SOME PARAMETERS OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE MUSCLES AND LIVER OF THE THREE-SPINED STICKLEBACK (*GASTEROSTEUS ACULEATUS*) IN THE WHITE SEA DURING THE SPAWNING PERIOD

Some indices of the antioxidant system (AOS) – level of glutathione (GSH), activity of glutathione-S-transferase (GST), catalase (CAT) in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, from three locations in the White Sea (Seldyanaya Bay, Kolyushkovaya Lagoon, and Sukhaya Salma Channel) were examined at the beginning (May) and in the end (July) of the spawning season. At the beginning of the spawning period (May), GSH content in both muscles and liver of fish from Seldyanaya Bay

and Kolyushkovaya Lagoon was higher than in the Sukhaya Salma Channel. In July (end of spawning and transition to the nursery period), GSH level in the studied tissues was higher than in May. GST activity in the muscles of the three-spined stickleback was on average 8 times lower than in the liver, and that of catalase was 37 times lower. In July, GST activity in the muscles of fish of both sexes from all the three habitats was 1.7–2.4-fold higher than in May, and the respective increase in the liver was 1.6–3.3-fold. CAT activity also increased from May to July 1.5–2-fold in muscles, and 1.2–1.7-fold in the liver. The most pronounced changes in AOS parameters happened in fish from the Sukhaya Salma Channel. Changes in AOS parameters correlate with the time factor: May (beginning of spawning) – July (end of spawning). The activation of AOS components in sticklebacks at the final stage of spawning is meant to compensate for the metabolic changes induced by an increase in the level of oxidative stress triggered by a rise in ambient temperature and intensive foraging.

Key words: three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*; spawning period; glutathione; glutathione-S-transferase; catalase.

Введение

Трехиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* – признанный модельный объект популяционной биологии рыб и смежных областей [Barber, 2013]. В настоящее время имеется немало сведений о биологии и экологии трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus* Linneus, 1758) из Белого моря [Лайус и др., 2013; Demchuk et al., 2015; Bakhvalova et al., 2016; Ivanova et al., 2016; Rybkina et al., 2016, 2017; Демчук и др. 2018; Доргам и др., 2018], тем не менее биохимические исследования этого вида практически не проводились, в то время как они могут дать информацию, позволяющую существенно дополнить знания о механизмах адаптивных изменений вида в различные периоды его жизненного цикла. Жизненный цикл *G. aculeatus* включает резкую смену условий обитания, например, в ходе нерестовых миграций из открытого моря в прибрежные и пресноводные биотопы со свойственным им специфическим комплексом абиотических (температура, соленость, состав грунта, скорость течений и др.) и биотических (кормовые объекты, хищники, паразиты) факторов. На изменение условий среды организм отвечает в первую очередь активацией биохимических систем антиоксидантной защиты (АОЗ). Процессы возникновения свободных радикалов, активных форм кислорода (АФК) и ответных реакций на них в нормальных физиологических условиях в организме сбалансированы. Если баланс между прооксидантами и антиоксидантными системами (при воздействии определенных факторов) сдвигается в сторону роста концентрации свободных радикалов и АФК, возникает окислительный стресс, для защиты от которого в ходе эволюции сформировалась сложная многоуровневая система, состоящая из низкомолеку-

лярных антиоксидантов и комплекса специфических ферментов [Смирнов, Суховская, 2014].

Среди низкомолекулярных антиоксидантов главным детоксикационным агентом в клетках является низкомолекулярный пептид глутатион (GSH) [Zhang, Forman, 2012]. GSH осуществляет несколько жизненно важных функций, в том числе поддержание на физиологическом уровне редокс-потенциала клетки, детоксикацию электрофильных соединений и сохранение эссенциального тиолового статуса белков через предотвращение окисления SH-групп или восстановление дисульфидных связей, нарушенных при окислительном стрессе [Meister, 1988]. Глутатион в качестве самостоятельной единицы клеточной защиты участвует в перехвате разнообразных активных радикалов, в том числе АФК. В состав ферментного комплекса антиоксидантной защиты входит такой GSH-зависимый фермент, как глутатион-S-трансфераза (GST) [Brigellius-Flohe, 1999]. Существенная роль в нейтрализации повреждающего действия перекиси водорода принадлежит также и каталазе (CAT).

Цель настоящей работы – определить состояние некоторых компонентов антиоксидантной защиты (уровень глутатиона, активность глутатион-S-трансферазы и каталазы) в мышцах и печени колюшки трехиглой в начале (май) и в конце (июль) нерестового периода, а также выявить факторы, влияющие на изменение показателей АОЗ.

Материалы и методы

Районы исследования. Для исследования были выбраны три достаточно типичных нерестилища на Белом море (губа Сельдяная, лагуна Колюшковая, пролив Сухая Салма), отличающиеся некоторыми условиями среды (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика мест взятия проб [по: Доргам и др., 2018]

Table 1. The description of fish catching places [after Dorgam et al., 2018]

Места вылова Fish catching places	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay	Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon	Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel
Географические координаты Geographical coordinates	66°33'80.66" N, 33°62'25.16" E	66°31'32.62" N, 33°64'59.53" E	66°31'16.96" N, 33°64'73.70" E
Общая характеристика General description	Треугольная губа с широким входом (глубина около 8 м) Triangular bay with a wide entrance (about 8 m deep)	Соединена с морем только в полную воду. Глубина до 4 м Connected with sea only at maximum amplitude. The depth is up to 4 m	Биотоп с довольно быстрым нарастанием глубины до 5 м Biotope with fast depth gain up to 5 m
Амплитуда прилива, м Tide amplitude, m	2,5	0,3	2,5
Водная растительность Water flora	Фукусы на литорали, очень густая зоостера на большей части акватории Fucus in littoral zone, very dense zostera on the greater part of the water area	Зоостера в районе, прилегающем к главному входу; в других частях лагуны ее мало. Фукусов практически нет Zostera around the main entrance to the lagoon. Fucus is absent	Фукусы на камнях, разреженная зоостера в более глубокой части Fucus on stones and rare zostera in the deeper part
Зоопланктон Zooplankton	Прибрежное сообщество с массовыми для Беломорья видами Coastal community of the mass White Sea species	Со второй половины июня абсолютное доминирование рачка <i>Acartia longiremis</i> . К концу августа он исчезает <i>Acartia longiremis</i> is the absolutely dominating species of the second part of June. It disappears at the end of August	Прибрежное сообщество с массовыми для Беломорья видами Coastal community of the mass White Sea species

Сбор и обработка проб. Половозрелые особи трехглазой колюшки отловлены в 2016 г. в начале (28–30 мая) и в конце (7–9 июля) нерестового периода закидным неводом. пойманных рыб разделяли по полу, замораживали в жидком азоте и хранили в нем до начала анализа. После кратковременной разморозки отбирали пробы скелетной мускулатуры, печени и сразу же проводили биохимический анализ.

Образцы массой 150–200 мг смешивали с 5-кратным объемом 0,05M Трис-НCl буферного раствора, pH 7,4–7,6, гомогенизировали в Disruptor Genie (Scientific Industries Ink, США) в течение 3 мин при 2500 об. Гомогенат центрифугировали при 60 000 g 60 мин на настольной рефрижераторной центрифуге Allegra 64R (Beckman, США). Полученный супернатант использовали для анализа.

Концентрацию восстановленного GSH определяли по [Hissin, Hilf, 1976]. Содержание глутатиона вычисляли с помощью калибровочного графика, построенного по результатам измерений растворов GSH (Sigma-Aldrich) с концентрацией от 0,5 до 20 мкг/мл (0,0016 до 0,065 $\mu\text{M}/\text{мл}$) в 0,4 M трис-НCl буферном растворе (pH 8,5), содержащем 5 mM EDTA.

Активность глутатион-S-трансферазы (GST) определяли по скорости связывания восста-

новленного глутатиона (GSH) с субстратом 1-хлор-2,4-динитробензолом (CDNB) [Habig et al., 1974]. Относительную активность фермента в тканях рыб представляли как количество μM продукта реакции, образовавшихся за минуту, в пересчете на мг растворимого белка в ткани ($\mu\text{M}/\text{mg protein} \cdot \text{min}$).

Активность каталазы (CAT) определяли по [Beers, Sizer, 1952]. Относительную активность выражали как $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mg protein} \cdot \text{min}$.

Концентрацию растворимого белка в супернатанте определяли спектрофотометрически по поглощению пептидной связи при длине волны 220 нм при 26 °C [Noble, Bailey, 2009; Суховская и др., 2010]. Для построения калибровочного графика в день анализа готовили растворы бычьего сывороточного альбумина с различной концентрацией (0,02–0,10 мг/мл) в буферном растворе 50 mM Трис-НCl, pH 7,5.

Математическую обработку результатов проводили общепринятыми методами [Ивантер, Коросов, 2014]. Достоверность различий определяли с помощью непараметрического теста Манна – Уитни (программа Past 3) с поправкой на множественные сравнения Бенъямини – Хохберга [Benjamini, Hochberg, 2000]. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Кроме этого, проводи-

ли дисперсионный многофакторный анализ (MANOVA).

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

Результаты и обсуждение

Содержание глутатиона

Уровень GSH в мышцах самцов колюшки, отловленных в мае из губы Сельдяная и лагуны Колюшковая, был в 1,5–1,7 раза выше, чем у самок, и в 1,2–2,8 раза выше, чем у рыб обоих полов из пролива Сухая Салма (табл. 2). Достоверность различий показана для самцов и самок из губы Сельдяная ($p < 0,01$). В мышцах рыб, отловленных в мае из пролива Сухая Салма, зарегистрирован самый низкий уровень глутатиона по сравнению с колюшками из двух других биотопов (губа Сельдяная и лагуна Колюшковая). В июле (конец нереста – нагул) в мышцах самцов из лагуны Колюшковая и губы Сельдяная содержание GSH по сравнению с маем почти не изменялось, а у самок – возросло в 1,5 и 2,2 раза соответственно. У колюшки из пролива Сухая Салма отмечен существенный рост концентрации GSH, как у самцов, так и у самок, в 2,6–3,3 раза. Различия были статистически значимыми ($p < 0,01$).

Содержание GSH в печени колюшки, выловленной в мае, на всех станциях у самок было выше, чем у самцов (табл. 3). У самцов из пролива Сухая Салма этот показатель был самый низкий, но достоверная разница ($p < 0,02$) выявлена только между рыбами обоих полов из пролива Сухая Салма. Самые высокие средние значения концентрации GSH отмечены для печени рыб, выловленных из лагуны Колюшковая. У самок колюшки из губы Сельдяная и лагуны Колюшковая показано снижение концентрации GSH в печени к концу нереста (июль). У колюшки, пойманной в проливе Сухая Салма, напротив, концентрация GSH в печени увеличилась, как и в мускулатуре, в среднем в 1,4 и 2,3 раза у самок и самцов соответственно.

В июле нерест в основном завершается и колюшка переходит к активному питанию, когда ей перед зимовкой необходимо восполнить потерю белка, нарастить мышечную массу, а самкам дополнительно получить энергию, достаточную для развития икры до 3–4 стадии. Обнаружено, что наиболее существенный рост уровня глутатиона в мышцах и печени от мая к июлю показан для рыб, отловленных в проливе Сухая Салма. Это может быть вызвано тем,

что в конце нереста сюда приходят уже отнерестившиеся, нагуливающиеся рыбы, в том числе и из лагуны Колюшковая, о чем свидетельствуют данные по их питанию и морфологической изменчивости [Демчук и др., 2018; Доргам и др., 2018]. Рост концентрации GSH отмечен в тканях фундулюса (*Fundulus heteroclitus*) при усилении пищевой активности [Legatt et al., 2007].

В лагуне Колюшковая нижняя граница температуры воды в мае изначально была выше, чем в других точках вылова. В этом месяце у самцов колюшки из лагуны Колюшковая зарегистрирован самый высокий уровень GSH в мускулатуре и печени по сравнению с другими точками вылова, который незначительно (статистически недостоверно) изменялся в течение периода наблюдений в мускулатуре рыб обоих полов. В проливе Сухая Салма разница между температурой воды в мае и июле составила примерно 8 °С. Прогрев воды в этом проливе происходит медленнее, чем на других станциях, из-за его глубины и апвеллинга более холодных вод во время прилива, но к июлю температура достигает значений, сходных с таковыми в других биотопах. Возможно, это стимулирует активацию ферментов цикла синтеза GSH в мускулатуре колюшки из пролива Сухая Салма, поэтому в июле его концентрация в мышцах исследуемых рыб из всех биотопов имела близкие значения, а небольшие различия статистически не были значимы. Показано, что при холодном стрессе концентрация GSH в бактериях *E. coli* снижается [Smirnova et al., 2001]. Ранее было обнаружено, что у жемчужницы *Margaritifera margaritifera*, собранной в сентябре при более высокой температуре окружающей среды, уровень GSH в жабрах был в 4,5 раза ниже, чем у особей в ноябре [Смирнов и др., 2017]. Также был показан рост концентрации GSH у мидий *Mytilus edulis* при термошоке [Суховская и др., 2014]. В мышцах и печени фундулюса (*F. heteroclitus*) отмечено увеличение содержания GSH при повышении температуры [Legatt et al., 2007]. Можно предположить, что температура окружающей среды, так же как и активное питание, оказывает влияние на интенсивность синтеза GSH, являющегося участником многих биохимических процессов, связанных с функционированием АОЗ.

Активность глутатион-S-трансферазы

В начале нереста (май) показатели активности GST в мускулатуре колюшки, собранной на всех трех нерестилищах, практически не различались (табл. 4). У рыб из лагуны Ко-

Таблица 2. Содержание глутатиона ($\mu\text{M}/\text{мл}$) в мускулатуре колюшки в начале (май) и конце (июль) нерестового периода

Table 2. The content of glutathione ($\mu\text{M}/\text{ml}$) in threespine stickleback muscles at the beginning (May) and at the end (July) of the spawning period

Показатели Indices	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay		Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon		Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel	
	Май May					
	Самцы Males n=8	Самки Females n=6	Самцы Males n=7	Самки Females n=6	Самцы Males n=7	Самки Females n=6
Среднее Mean	36,92	21,98	52,43	35,73	18,86	19,53
Ошибка среднего Error of mean	3,34	2,58	16,23	7,04	1,26	2,49
Минимум Minimum	24,51	14,44	17,35	19,84	14,93	11,80
Максимум Maximum	53,24	33,24	121,33	60,77	23,25	27,23
	Июль July					
	Самцы Males n=7	Самки Females n=8	Самцы Males n=5	Самки Females n=8	Самцы Males n=11	Самки Females n=7
Среднее Mean	35,72	49,65	55,53	54,24	48,14	64,86
Ошибка среднего Error of mean	2,52	6,89	9,54	9,99	5,67	9,45
Минимум Minimum	27,02	22,30	23,77	15,38	22,39	30,34
Максимум Maximum	48,67	78,73	78,29	93,67	83,78	110,49

Таблица 3. Содержание глутатиона ($\mu\text{M}/\text{мл}$) в печени колюшки в начале (май) и конце (июль) нерестового периода

Table 3. The content of glutathione ($\mu\text{M}/\text{ml}$) in threespine stickleback liver at the beginning (May) and at the end (July) of the spawning period

Показатели Indices	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay		Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon		Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel	
	Май May					
	Самцы Males n=8	Самки Females n=7	Самцы Males n=7	Самки Females n=7	Самцы Males n=7	Самки Females n=7
Среднее Mean	31,99	45,37	46,37	68,33	11,28	41,36
Ошибка среднего Error of mean	1,75	8,61	12,94	24,73	2,66	16,23
Минимум Minimum	25,11	24,76	7,04	8,21	5,99	12,6
Максимум Maximum	39,32	94,95	95,11	205,13	22,68	134,0
	Июль July					
	Самцы Males n=7	Самки Females n=8	Самцы Males n=6	Самки Females n=8	Самцы Males n=10	Самки Females n=6
Среднее Mean	29,0	32,94	45,88	31,93	25,81	55,88
Ошибка среднего Error of mean	4,62	8,61	5,12	6,86	3,83	15,74
Минимум Minimum	16,21	19,39	35,6	14,51	6,08	22,96
Максимум Maximum	49,61	55,75	67,9	77,51	50,92	127,35

Таблица 4. Активность глутатион-S-трансферазы (μM продукта реакции/ $\text{mg protein} \cdot \text{min}$) в мускулатуре колюшки в начале (май) и конце (июль) нерестового периода

Table 4. The activity of glutathione-S-transferase (μM of reaction product/ $\text{mg protein} \cdot \text{min}$) in threespine stickleback muscles at the beginning (May) and at the end (July) of the spawning period

Показатели Indices	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay		Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon		Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel	
	Май May					
	Самцы Males n=11	Самки Females n=8	Самцы Males n=7	Самки Females n=7	Самцы Males n=8	Самки Females n=12
Среднее Mean	0,97	0,81	1,30	1,47	1,13	1,17
Ошибка среднего Error of mean	0,12	0,08	0,15	0,44	0,08	0,13
Минимум Minimum	0,28	0,52	0,50	0,53	0,83	0,42
Максимум Maximum	1,59	1,21	1,76	3,87	1,38	2,09
	Июль July					
	Самцы Males n=7	Самки Females n=8	Самцы Males n=5	Самки Females n=8	Самцы Males n=11	Самки Females n=7
Среднее Mean	1,82	1,50	2,22	1,98	1,94	2,79
Ошибка среднего Error of mean	0,32	0,27	0,56	0,41	0,37	0,93
Минимум Minimum	1,02	0,67	1,27	0,69	0,92	0,27
Максимум Maximum	3,48	2,89	4,36	3,57	5,09	7,71

колюшковая активность фермента была несколько выше, но эти отличия являлись статистически недостоверными. По сравнению с маем в июле во всех исследованных выборках рыб активность GST в мышцах увеличивается статистически достоверно ($p < 0,03$) для колюшек обоих полов, выловленных во всех трех точках.

Активность GST в печени колюшки, отловленной как в мае, так и в июле, была в среднем в 8 раз выше, чем в мышцах (табл. 5), что согласуется с данными об активности GST в печени и мышцах колюшки из озера Кашвитна (Аляска) [Kammer et al., 2011]. Известно, что печень – это главный орган, отвечающий за процессы биотрансформации и антиоксидантной защиты в организме, а GST – один из ключевых ферментов этой системы. В мае в печени самцов из губы Сельдяная и лагуны Колюшковая активность GST была достоверно выше, чем у самок ($p < 0,03$), а у рыб из пролива Сухая Салма гендерных различий не выявлено. Ранее половые отличия в проявлении активности GST были показаны для европейского керчака *Muohocerphalus scorpius* [Ruus et al., 2002], млекопитающих, в том числе и человека [Rabahi et al., 1999].

В конце нереста и начале нагульного периода (июль) при более высокой степени прогрева акваторий по сравнению с маем активность GST в печени колюшки в среднем увеличилась в 1,6 раза по сравнению с таковой начального этапа нереста вне зависимости от места вылова (табл. 6). Обнаружено, что термический режим влиял на активность GST у средиземноморских мидий *Mytilus galoprovincialis* – в июне она была выше, чем в октябре [Romeo et al., 2003]. Помимо температуры окружающей среды вклад в стимуляцию активности GST в печени колюшки может внести и пищевой фактор, поскольку колюшка активно питается в нагульный период. Ранее связь изменений в активности фермента с питанием была показана для мидий *M. galoprovincialis* [Filho et al., 2001; Leinjo, Lehtonen, 2005].

Активность каталазы (CAT)

Активность каталазы в мышцах рыб, отловленных во всех трех исследованных акваториях в начале нереста (май), была практически одинакова (табл. 6). Самое низкое значение этого показателя было у самцов из пролива Сухая

Таблица 5. Активность глутатион-S-трансферазы (μM продукта реакции/mg protein*min) в печени колюшки в начале (май) и конце (июль) нерестового периода

Table 5. The activity of glutathione-S-transferase (μM of reaction product/mg protein*min) in threespine stickleback liver at the beginning (May) and at the end (July) of the spawning period

Показатели Indices	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay		Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon		Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel	
	Май May					
	Самцы Males n=11	Самки Females n=8	Самцы Males n=8	Самки Females n=10	Самцы Males n=10	Самки Females n=12
Среднее Mean	12,15	6,93	11,45	6,33	8,01	9,92
Ошибка среднего Error of mean	0,72	2,3	3,62	1,62	0,87	3,6
Минимум Minimum	8,77	2,37	3,57	1,08	3,91	1,60
Максимум Maximum	17,16	22,45	35,34	15,56	11,96	45,73
	Июль July					
	Самцы Males n=7	Самки Females n=8	Самцы Males n=6	Самки Females n=8	Самцы Males n=12	Самки Females n=7
Среднее Mean	11,67	11,71	37,41	10,12	14,41	15,00
Ошибка среднего Error of mean	1,55	3,82	15,1	3,19	2,19	2,22
Минимум Minimum	6,97	0,99	8,19	3,33	4,27	6,64
Максимум Maximum	18,39	27,12	100,80	29,88	26,76	22,86

Таблица 6. Активность каталазы ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mg protein*min}$) в мышцах колюшки в начале (май) и конце (июль) нерестового периода

Table 6. The activity of catalase ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mg protein*min}$) in threespine stickleback muscles at the beginning (May) and at the end (July) of the spawning period

Показатели Indices	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay		Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon		Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel	
	Май May					
	Самцы Males n=11	Самки Females n=8	Самцы Males n=9	Самки Females n=9	Самцы Males n=9	Самки Females n=12
Среднее Mean	0,38	0,30	0,46	0,48	0,24	0,38
Ошибка среднего Error of mean	0,06	0,07	0,04	0,08	0,05	0,04
Минимум Minimum	0,16	0,05	0,21	0,18	0,10	0,20
Максимум Maximum	0,84	0,63	0,67	1,00	0,53	0,77
	Июль July					
	Самцы Males n=7	Самки Females n=8	Самцы Males n=5	Самки Females n=8	Самцы Males n=11	Самки Females n=7
Среднее Mean	0,59	0,46	0,74	0,83	0,50	0,69
Ошибка среднего Error of mean	0,14	0,11	0,24	0,24	0,12	0,11
Минимум Minimum	0,16	0,17	0,25	0,25	0,13	0,23
Максимум Maximum	1,28	1,00	1,67	2,37	1,4	1,07

Таблица 7. Активность каталазы ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mg protein}\cdot\text{min}$) в печени колюшки в начале (май) и конце (июль) нерестового периода

Table 7. The activity of catalase ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mg protein}\cdot\text{min}$) in threespine stickleback liver at the beginning (May) and at the end (July) of the spawning period

Показатели	Губа Сельдяная Seldyanaya Bay		Лагуна Колюшковая Kolyushkovaya Lagoon		Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Channel	
	Май May					
	Самцы Males n=11	Самки Females n=7	Самцы Males n=8	Самки Females n=10	Самцы Males n=10	Самки Females n=12
Среднее Mean	12,87	11,86	12,01	11,83	6,16	9,82
Ошибка среднего Error of mean	1,83	2,54	2,67	2,82	1,15	1,59
Минимум Minimum	5,05	3,08	1,73	2,41	1,94	3,16
Максимум Maximum	25,55	21,83	24,86	28,28	12,74	20,06
	Июль July					
	Самцы Males n=7	Самки Females n=8	Самцы Males n=6	Самки Females n=8	Самцы Males n=12	Самки Females n=7
Среднее Mean	15,63	11,57	17,74	8,02	9,62	17,06
Ошибка среднего Error of mean	2,89	1,90	3,58	1,42	0,94	1,45
Минимум Minimum	9,33	2,89	8,92	3,21	5,23	11,25
Максимум Maximum	30,32	17,55	29,62	15,30	14,85	21,30

Салма, и оно достоверно ($p < 0,03$) отличалось от такового в мышцах самок и самцов из лагуны Колюшковая. К концу нереста (июль) активность CAT в мышцах рыб из губы Сельдяная и лагуны Колюшковая увеличилась в 1,5–1,7 раза, а в мышцах колюшек из Сухой Салмы – в 1,8–2,1 раза ($p < 0,01$). Более существенный рост активности в мышцах колюшки из пролива Сухая Салма можно объяснить тем, что в этой акватории разница в температуре между временем отбора проб была несколько выше, чем в других исследованных биотопах. Ранее, например, показано, что в мышцах молоди морского окуня *Dicentrarchus labrax* на 15-й день эксперимента при температуре воды 24 °C активность каталазы была в 2 раза выше, чем при 18 °C [Vinagre et al., 2012]. Зависимость активности каталазы от температуры окружающей среды продемонстрирована на мидиях *M. galloprovincialis* [Romeo et al., 2003].

Активность CAT в печени у рыб, отловленных из губы Сельдяная в начале нереста (май), была в среднем в 37 раз выше, чем в мышцах (табл. 7), а у особей из лагуны Колюшковая и пролива Сухая Салма – в 26 раз. В конце

нереста (июль) активность CAT в печени рыб из губы Сельдяная была в 25 раз выше, чем в мышцах, а у колюшек из других исследуемых биотопов – в 19 раз. Это отражает тот факт, что если в мышцах активность CAT от начала к концу нереста возрастала у рыб из всех станций, то в печени такая закономерность четко не прослеживалась. Значимые половые различия в активности каталазы в печени у колюшки в конце нереста показаны только для самцов и самок из пролива Сухая Салма ($p < 0,01$).

С помощью многофакторного дисперсионного анализа (MANOVA) обнаружено, что на вариабельность концентрации глутатиона и активности GST и CAT в мышцах и печени колюшки оказывали некоторое влияние ряд факторов (табл. 8). Так, на уровень GSH в мышцах достаточно сильно влиял такой фактор, как месяц вылова. Этот фактор, но с меньшей силой, влиял и на активность GST и CAT. Кроме того, на активность CAT оказывали совместное влияние такие факторы, как пол и место вылова. В печени фактор месяц вылова влиял только на активность GST, а совместное влияние пола рыб и места вылова показано как для GST, так

Таблица 8. Результаты MANOVA по влиянию факторов «месяц вылова», «пол» и «место вылова» на исследуемые показатели в тканях колюшки трехиглой

Table 8. MANOVA results on the influence of the factors 'month of catching', 'sex' and 'place of catching' on the studied parameters in threespine stickleback tissues

Ткань Tissue	Показатель Index	Фактор Factor	df	F	P	Сила влияния, η^2 Power of influence, η^2
Мышцы Muscles	Содержание глутатиона Content of glutathione	A	1	30,03	0,0000	23,22
	Активность глутатион-S-трансферазы Glutathione-S-transferase activity	A	1	12,56	0,0007	11,49
	Активность каталазы Catalase activity	A	1	10,53	0,0017	9,31
BC		1	3,35	0,0395	5,93	
Печень Liver	Содержание глутатиона Content of glutathione	B	1	8,69	0,0043	9,89
	Активность глутатион-S-трансферазы Glutathione-S-transferase activity	A	1	5,77	0,0184	4,68
		BC	1	4,14	0,0190	6,73
	Активность каталазы Catalase activity	BC	1	5,99	0,0036	10,41

Примечание. А – фактор «месяц вылова», В – фактор «пол» и С – фактор «место вылова», ВС – совместное влияние факторов «пол» и «место вылова».

Note. A is the factor 'month of catching', B – the factor 'sex', C – the factor 'place of catching', BC – combined influence of factors 'sex' and 'place of catching'.

и для САТ. На содержание GSH в печени достоверное влияние оказывал только пол рыб.

Заключение

Колюшка трехиглая (*G. aculeatus*), обитающая в Белом море, в период с мая по июль совершает сезонные миграции из мест зимовки в море в заливы и лагуны для нереста и развития молоди. Нерест рыб и сопутствующие ему энергетически затратные метаболические процессы являются достаточно сильным эндогенным стрессом, затрагивающим активацию компенсаторных (защитных) функций антиоксидантной системы.

Уровень глутатиона, активность глутатион-S-трансферазы и каталазы в мышцах и печени колюшки из всех исследуемых биотопов возрастали от начала к концу нереста, и наиболее выраженные отличия были характерны для рыб из пролива Сухая Салма.

Таким образом, результаты проведенного биохимического исследования свидетельствуют об активации компонентов АОЗ в организме колюшки на финальном этапе нереста, которые направлены на компенсацию метаболических изменений, вызванных ростом уровня окислительного стресса, стимуляторами которого выступают активное питание и рост температуры окружающей среды. Этот факт частично подтверждается MANOVA, продемонстрировавшим влияние месяца вылова на исследованные показатели в мышцах и печени колюшки трехиглой.

Исследование выполнено в рамках бюджетной темы № 0218-2019-0076, № г. р. АА-АА-А17-117031710039-3 «Биохимические механизмы, определяющие сходство и различия в развитии адаптаций у гидробионтов морских и пресноводных экосистем». Участие Д. Л. Лайуса поддержано грантом РФФИ 17-04-00027.

Авторы выражают благодарность Т. С. Ивановой, М. В. Иванову, Н. В. Поляковой, А. Е. Бахваловой и П. В. Головину за сбор проб, а также администрации УНБ СПбГУ «Беломорская» за обеспечение полевых работ.

Литература

Демчук А. С., Иванов М. В., Иванова Т. С., Полякова Н. В., Головин П. В., Лайус Д. Л. Питание беломорской трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) на нерестилищах // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 4. С. 42–58. doi: 10.17076/them818

Доргам А. С., Головин П. В., Иванова Т. С., Иванов М. В., Лайус Д. Л. Морфологическая изменчивость трехиглой колюшки Керетского архипелага в течение нерестового сезона // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 4. С. 59–73. doi: 10.17076/them819

Ивантер Э. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию: учебное пособие. 3-е изд., испр. и доп. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2014. 298 с.

Лайус Д. Л., Иванова Т. С., Шатских Е. В., Иванов М. В. «Волны жизни» беломорской колюшки. Природа. 2013. № 4. С. 43–52.

Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В., Кочнева А. А. Некоторые биохимические показатели биотрансформации ксенобиотиков в тканях жемчуж-

ницы европейской *Margaritifera margaritifera* // Изв. РАН. Сер. биол. 2017. № 1. С. 30–34.

Смирнов Л. П., Суховская И. В. Роль глутатиона в функционировании систем антиоксидантной защиты и биотрансформации // Ученые записки ПетрГУ. 2014. № 6(143). С. 34–40.

Суховская И. В., Борвинская Е. В., Смирнов Л. П., Немова Н. Н. Сравнительный анализ методов определения концентрации белка – спектрофотометрии в диапазоне 200–220 нм и по Бредфорд // Труды КарНЦ РАН. 2010. № 2. С. 68–71.

Суховская И. В., Борвинская Е. В., Бахмет И. Н., Немова Н. Н., Смирнов Л. П. Влияние термошока на уровень глутатиона и активность глутатион-S-трансферазы в тканях мидии *Mytilus edulis* L. // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 150–156.

Bakhvalova A. E., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Demchuk A. S., Movchan E. A., Lajus D. L. Long-term changes in the role of threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* in the White Sea: predatory fish consumption reflects fluctuating stickleback abundance during the last century // *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17. P. 317–334.

Barber I. Sticklebacks as model hosts in ecological and evolutionary parasitology // *Trends Parasitol.* 2013. Vol. 29(11). P. 556–566. doi: 10.1016/j.pt.2013.09.004

Beers R. F., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase // *J. Biol. Chem.* 1952. Vol. 195. P. 133–140.

Benjamini Y., Hochberg Y. On the adaptive control of the false discovery rate in multiple testing with independent statistics // *JEBBS.* 2000. Vol. 25. P. 60–83. doi: 10.3102/10769986025001060

Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. Vol. 27. P. 951–965.

Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polaykova N. V., Mas-Marti E., Lajus D. L. Feeding patterns in seagrass beds of three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 2015. Vol. 95. P. 1635–1643.

Filho D. W., Torres M. A., Tribess T. B., Pedrosa R. C., Soares C. H. Influence of season and pollution on the antioxidant defences of the cichlid fishacara (*Geophagus brasiliensis*) // *Bras. J. Med. Biol. Res.* 2001. Vol. 34. P. 719–726.

Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathiones-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249. P. 7130–7139.

Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74. P. 214–226.

Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polyakova N. V., Lajus D. L. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, abundance // *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17(3). P. 301–315.

Kammer A. R., Orczewska J. I., O'Brien K. M. Oxidative stress is transient and tissue specific during cold acclimation of threespine stickleback // *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1248–1256. doi: 10.1242/jeb.053207

Leinio S., Lehtonen K. K. Seasonable variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma baltica* from Northern Baltic Sea // *Comp. Biochem. Physiol., Part C, Comp. Pharmacol. Toxicol.* 2005. Vol. 140. P. 408–421. doi: 10.1016/j.cca.2005.04.005

Leggatt R. A., Brauner C. J., Schulte P. M., Iwama G. K. Effects of acclimation and incubation temperature on the glutathione antioxidant system in killifish and RTH-149 cells // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2007. Vol. 146. P. 317–326. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.10.033

Meister A. Glutathione // *Biology and Pathobiology. Second Edition* / Aria, I. M., Jakoby, W. B., Popper, H., Schachter, D., and Shafritz, D. A., eds. New York: Raven Press, 1988. P. 401–417.

Noble J. E., Bailey M. J. Quantitation of protein // *Methods in Enzymology.* 2009. Vol. 463. P. 73–95.

Rabahi F., Brûlé S., Sirois J., Beckers J. F., Silver-sides D. W., Lussier J. G. High expression of bovine alpha glutathione S-transferase (GSTA1, GSTA2) subunits is mainly associated with steroidogenically active cells and regulated by gonadotropins in bovine ovarian follicles // *Endocrinology.* 1999. Vol. 140. P. 3507–3517.

Ralat L. A., Manevich Y., Fisher A. B., Colman R. F. Direct evidence for the formation of a complex between 1-cysteine peroxidase and glutathione S-transferase pi with activity changes in both enzymes // *Biochemistry.* 2006. Vol. 45. P. 360–372.

Roméo M., Hoarau P., Garello G., Gnassia-Barelli M., Girard J. P. Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean // *Environ. Pollut.* 2003. Vol. 122. P. 369–378.

Ruus A., Sandvik M., Ugland K. I., Skaare J. U. Factors influencing activities of biotransformation enzymes, concentrations and compositional patterns of organochlorine contaminants in members of a marine food web // *Aquat. Toxicol.* 2002. Vol. 61. P. 73–87.

Rybkina E. V., Demchuk A. S., Lajus D. L., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Galaktionov K. V. Dynamics of parasite community during early ontogenesis of marine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* // *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17. P. 335–354.

Rybkina E. V., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Kucheryavyy A. V., Lajus D. L. Habitat preference of three-spined stickleback juveniles in experimental conditions and in the wild eelgrass // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 2017. Vol. 97. P. 1437–1445. doi: 10.1017/S0025315416000825

Smirnova G. V., Krasnykh T. A., Oktyabrsky O. N. Role of glutathione in the response of *Escherichia coli* to osmotic stress // *Biochemistry (Moscow).* 2001. Vol. 66. P. 973–978.

Vinagre C., Madeira D., Narciso L., Cabral H. N., Diniz M. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax* // *Ecol. Indic.* 2012. Vol. 23. P. 274–279. doi: 10.1016/j.ecolind.2012.04.009

Zhang H., Forman H. J. Glutathione synthesis and its role in redox signaling // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2012. Vol. 23. P. 722–728. doi: 10.1016/j.semdb.2012.03.017

Поступила в редакцию 15.04.2019

References

- Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polyakova N. V., Golovin P. V., Lajus D. L. Pitanie belomorskoj trekhigloi kolushki *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) na nerestilishchakh [Feeding of the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) in spawning grounds]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 4. P. 42–58. doi: 10.17076/them818
- Dorgam A. S., Golovin P. V., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Savel'ev P. D., Lajus D. L. Geterogenost' morfologicheskikh priznakov trekhigloi kolushki *Gasterosteus aculeatus* na raznykh etapakh neresta [Morphological variation of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) on different stages of spawning period]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 4. P. 59–73. doi: 10.17076/them819
- Ivanter E. V., Korosov A. V. Vvedenie v kolichestvennyuyu biologiyu: ucheb. posobie [Introduction in the quantitative biology: a study guide]. Petrozavodsk: PetrGU, 2014. 298 p.
- Lajus D. L., Ivanova T. S., Shatskikh E. V., Ivanov M. V. "Volny zhizni" belomorskoj kolyushki ["Waves of life" of the White Sea stickleback]. *Priroda* [Nature]. 2013. Vol. 4. P. 43–52.
- Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Kochneva A. A. Nekotorye biokhimicheskie pokazateli biotransformatsii ksenobiotikov v tkanyakh zhemchuzhnitsy evropejskoj *Margaritifera margaritifera* [Some biochemical parameters of xenobiotic biotransformation in the tissues of European *Margaritifera margaritifera*]. *Izv. RAN. Ser. biol.* [Proceed. RAS. Biol. series]. 2017. No. 1. P. 30–34.
- Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V. Rol' glutationa v funkcionirovanii sistem antioksidantnoi zashchity i biotransformatsii [Glutathione role in antioxidant protection and in functioning of biotransformation system]. *Uchenye zapiski PetrGU* [Proceed. PetrSU]. 2014. No. 6(143). P. 34–40.
- 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 i po Bredford [Comparative analysis of the methods for determination of protein concentration – spectrophotometry in the 200–220 nm and the Bradford protein assay]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2010. No. 2. P. 68–71.
- Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Bakhmet I. N., Nemova N. N., Smirnov L. P. Vliyanie termoshoka na uroven' glutationa i aktivnost' glutation-S-transferasi v tkanyakh midii *Mytilus edulis* L. [The level of glutathione and the activity of glutathione-S-transferase in mussels *Mytilus edulis* L. under temperature variations]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2014. No. 5. P. 150–156.
- Bakhvalova A. E., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Demchuk A. S., Movchan E. A., Lajus D. L. Long-term changes in the role of threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* in the White Sea: predatory fish consumption reflects fluctuating stickleback abundance during the last century. *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17. P. 317–334.
- Barber I. Sticklebacks as model hosts in ecological and evolutionary parasitology. *Trends Parasitol.* 2013. Vol. 29(11). P. 556–566. doi: 10.1016/j.pt.2013.09.004
- Beers R. F., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* 1952. Vol. 195. P. 133–140.
- Benjamini Y, Hochberg Y. On the adaptive control of the false discovery rate in multiple testing with independent statistics. *JEBS.* 2000. Vol. 25. P. 60–83. doi: 10.3102/10769986025001060
- Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic. Biol. Med.* 1999. Vol. 27. P. 951–965.
- Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polyakova N. V., Mas-Marti E., Lajus D. L. Feeding patterns in seagrass beds of three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 2015. Vol. 95. P. 1635–1643.
- Filho D. W., Torres M. A., Tribess T. B., Pedrosa R. C., Soares C. H. Influence of season and pollution on the antioxidant defences of the cichlid fish acara (*Geophagus brasiliensis*). *Bras. J. Med. Biol. Res.* 2001. Vol. 34. P. 719–726.
- 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. P. 7130–7139.
- Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74. P. 214–226.
- Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polyakova N. V., Lajus D. L. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, abundance. *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17(3). P. 301–315.
- Kammer A. R., Orczewska J. I., O'Brien K. M. Oxidative stress is transient and tissue specific during cold acclimation of threespine stickleback. *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1248–1256. doi: 10.1242/jeb.053207
- Leinio S., Lehtonen K. K. Seasonable variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma baltica* from northern Baltic Sea. *Comp. Biochem. Physiol., Part C, Comp. Pharmacol. Toxicol.* 2005. Vol. 140. P. 408–421. doi: 10.1016/j.cca.2005.04.005
- Leggatt R. A., Brauner C. J., Schulte P. M., Iwama G. K. Effects of acclimation and incubation temperature on the glutathione antioxidant system in killifish and RTH-149 cells. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2007. Vol. 146. P. 317–326. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.10.033
- Meister A. Glutathione. *Biology and Pathobiology*. Second Edition. Eds. I. M. Aria, W. B. Jakoby, H. Popper, D. Schachter, D. A. Shafritz. New York: Raven Press, 1988. P. 401–417.
- Noble J. E., Bailey M. J. Quantitation of protein. *Methods in Enzymology*. 2009. Vol. 463. P. 73–95.
- Rabahi F., Brûlé S., Sirois J., Beckers J. F., Silver-sides D. W., Lussier J. G. High expression of bovine alpha glutathione S-transferase (GSTA1, GSTA2) subunits is mainly associated with steroidogenically active cells and regulated by gonadotropins in bovine ovarian follicles. *Endocrinology*. 1999. Vol. 140. P. 3507–3517.
- Ralat L. A., Manevich Y., Fisher A. B., Colman R. F. Direct evidence for the formation of a complex between

1-cysteine peroxiredoxin and glutathione S-transferase pi with activity changes in both enzymes. *Biochemistry*. 2006. Vol. 45. P. 360–372.

Roméo M., Hoarau P., Garello G., Gnassia-Barel-li M., Girard J. P. Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. *Environ. Pollut.* 2003. Vol. 122. P. 369–378.

Ruus A., Sandvik M., Ugland K. I., Skaare J. U. Factors influencing activities of biotransformation enzymes, concentrations and compositional patterns of organochlorine contaminants in members of a marine food web. *Aquat. Toxicol.* 2002. Vol. 61. P. 73–87.

Rybkina E. V., Demchuk A. S., Lajus D. L., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Galaktionov K. V. Dynamics of parasite community during early ontogenesis of marine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17. P. 335–354.

Rybkina E. V., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Kucheryavyy A. V., Lajus D. L. Habitat preference

of three – spined stickleback juveniles in experimental conditions and in the wild eelgrass. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 2017. Vol. 97. P. 1437–1445. doi: 10.1017/S0025315416000825.

Smirnova G. V., Krasnykh T. A., Oktyabrsky O. N. Role of glutathione in the response of *Escherichia coli* to osmotic stress. *Biochemistry*. Moscow. 2001. Vol. 66. P. 973–978.

Vinagre C., Madeira D., Narciso L., Cabral H. N., Diniz M. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecol. Indic.* 2012. Vol. 23. P. 274–279. doi: 10.1016/j.ecolind.2012.04.009

Zhang H., Forman H. J. Glutathione synthesis and its role in redox signaling. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2012. Vol. 23. P. 722–728. doi: 10.1016/j.semcd.2012.03.017

Received April 15, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биохимии, д. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: levps@rambler.ru
тел.: +79212263211

Сухова́я Ирина Викторовна

старший научный сотрудник лаборатории экологической биохимии, 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

Борвинская Екатерина Витальевна

научный сотрудник лаборатории экологической биохимии, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: borvinska@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Лайус Дмитрий Львович

доцент, к. б. н.
Санкт-Петербургский государственный университет,
кафедра ихтиологии и гидробиологии
16-я линия В. О., 29, Санкт-Петербург, Россия, 199178
эл. почта: dlajus@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Smirnov, Lev

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

Sukhovskaya, Irina

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

Borvinskaya, Ekaterina

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

Lajus, Dmitry

Saint-Petersburg State University,
Department of Ichthyology and Hydrobiology
29 16th Line V. O., 199178 St. Petersburg, Russia
e-mail: dlajus@gmail.com

УДК 613.2 [574.121:612.017.4]

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИННО-АМИНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСА НА ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ГЕКСАХЛОРОЦИКЛОГЕКСАНОМ

Г. Г. Ладнова, А. Н. Соболев, М. Г. Курочицкая, В. В. Силютин,
Л. Н. Трофимец, Д. Ю. Гаврикова

Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Россия

Представлены данные по изучению роли пищевых веществ в защите организма от ксенобиотиков. Проведены экспериментальные исследования влияния витаминно-аминокислотного комплекса (аскорбиновая кислота (С), тиамин (В₁), рибофлавин (В₂), ниацин (РР), метионин) при интоксикации животных (крысы-самцы белые беспородные) гексахлорциклогексаном (ГХЦГ) по цитохимическим показателям ферментов нейтрофильных гранулоцитов: миелопероксидазы, кислой фосфатазы, неспецифической эстеразы. Установлено, что активность ферментов в группе животных, получавших за 20 минут до введения ГХЦГ витаминно-аминокислотный комплекс, была выше в 1,4–1,6 раза и число живых животных в этой группе было в 1,7 раза больше по сравнению с группой получавших только пестициды.

Ключевые слова: пищевой фактор; ксенобиотики; метаболизм; витаминно-аминокислотный комплекс; крысы; ферменты.

G. G. Ladnova, A. N. Sobolev, M. G. Kurochitskaya, V. V. Silyutina, L. N. Trofimets, D. Yu. Gavrikova. EFFECT OF THE VITAMIN AND AMINO ACID COMPLEX ON CYTOCHEMICAL INDICATORS IN THE BLOOD OF RATS INTOXICATED BY HEXACHLOROCYCLOHEXANE

The article presents data on the role of nutrients in the protection of the body against xenobiotics. The effect of the vitamin and amino acid complex (ascorbic acid (C), thiamine (B1), riboflavin (B2), niacin (PP), methionine) in relation to intoxication of animals (white outbred male rats) with hexachlorocyclohexane (HCH) was experimentally studied using cytochemical indicators of neutrophilic granulocytes' enzymes: myeloperoxidase, acid phosphatase, nonspecific esterase. It was established that the activity of the enzymes in the group of animals that received the vitamin and amino acid complex 20 minutes before receiving HCH was 1.4–1.6 times higher, and the number of survivor animals in this group was 1.7 times higher than in the group receiving only pesticides.

Key words: dietary factor; xenobiotics; metabolism; vitamin and amino acid complex; rats; enzymes.

Введение

В концепции социально-экономического развития страны одним из приоритетов госу-

дарственной политики и важнейшим фактором в обеспечении национальной безопасности является охрана здоровья населения. Стратегической целью осуществления необходимых

для этого действий является сохранение чистой среды, биологического разнообразия и природных ресурсов для удовлетворения потребностей нынешнего и будущего поколений. Однако как в утвержденных Президентом РФ (№-ПР-2573 от 01.11.2012) «Основах государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу», так и по данным многих авторов отмечается, что в настоящее время на территории РФ уровень защиты населения и окружающей среды не достигает состояния, при котором отсутствуют недопустимые риски причинения вреда от воздействия опасных химических и биологических факторов [Онищенко, 2013; Рахманин, Михайлова, 2014; Ильина и др., 2015; Клепиков и др., 2018]. Среди химических факторов особое значение имеют пестициды, которые представляют потенциальную угрозу как для окружающей среды, вызывая развитие экологического дисбаланса биоценозов, так и для организма человека и животных [Чибураев и др., 2003; Амирова, Сперанская, 2016]. Среди пестицидов особое место занимают хлорорганические соединения (ХОС), представителем которых является гексахлорциклогексан (ГХЦГ). ГХЦГ является стойким биоаккумулирующим препаратом и относится к ядам политропного действия, нарушающим функции печени, нервной, эндокринной, сердечно-сосудистой системы, почек, крови, а также ряда ферментативных систем. Кроме этого, установлено, что ряд ХОС, включая ГХЦГ, влияют на обменные процессы в организме, в том числе на обмен витаминов, обнаруживаются в материнском молоке и проявляются в пищевых цепях человека [Паньшина, 1984; Ревич и др., 2007]. В этой связи одним из главных направлений исследований является не только выявление факторов риска, но и изучение и разработка профилактических средств и механизмов, снижающих воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды на организм человека.

Цель исследования – изучение роли пищевых веществ в защите организма от ксенобиотиков.

Материалы и методы

Нами проведены экспериментальные исследования по изучению влияния витаминно-аминокислотного комплекса на цитохимические показатели клеток крови животных при пестицидной интоксикации.

Эксперименты проведены на 25 белых беспородных крысах-самцах весом 140–150 г, ко-

торые содержались в виварии в стандартных условиях кормления, освещения и проветривания. Животные были разделены на 4 группы: первую группу составили интактные животные, второй группе (положительный контроль) вводили комплекс витаминов (С, В₁, В₂, РР) и аминокислоту (метионин); третьей группе вводили хлорорганический пестицид 12% ГХЦГ в дозе 1/14 ЛД₅₀ (ЛД₅₀ для крыс 400 мг/кг); четвертой группе вводили ГХЦГ через 20 минут после введения витаминно-аминокислотного комплекса. Комплекс витаминов с метионином и пестицид вводили *per os* ежедневно в течение 14 дней. Забор крови производили 2 раза в день на 3, 6, 9, 12 и 14-й день эксперимента из хвостовой вены. Учитывая, что животные содержались на обычном виварном рационе и суммарное поступление витаминов с кормом, можно предположить, равнялось нормативным дозам, то расчет доз каждого компонента при дополнительном введении витаминно-аминокислотного комплекса был равен 1,5 нормативной дозы по отношению к витаминной смеси в полусинтетическом рационе для крыс.

Активность ферментов определяли наиболее апробированными цитохимическими методами [Козинец и др., 2002]: миелопероксидаза по Sato в модификации Quaglino, кислая фосфатаза методом азосочетания, неспецифическая эстераза по методу Moloney, и выражали в среднем цитохимическом коэффициенте (СЦК) по Астальди и Верга. СЦК вычисляли по формуле: $СЦК = (1a+2b+3v+4g)/100$, где цифры (1, 2, 3, 4) обозначают интенсивность окраски, а буквы – число подсчитанных клеток с определенной интенсивностью окраски (цитохимической реакции). Расчет проводили на 100 клеток. Всего изучено 250 проб крови животных.

Математическая обработка проведена методом вариационной статистики с расчетом среднего значения (M), ошибки средней (m) и определением достоверности различий по t-критерию Стьюдента. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$. Статистический анализ полученных результатов выполняли с использованием программы Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica версия 6.0.

При выполнении исследований соблюдались «Правила лабораторной практики в Российской Федерации (приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 26)».

Результаты и обсуждение

Основным направлением в борьбе за качество окружающей среды является совер-

шенствование технологических процессов, предотвращение попадания токсикантов в атмосферный воздух, почву, воду, соблюдение экологических, санитарно-гигиенических норм и правил и т. д. Однако в силу технических, технологических и других определенных причин не всегда представляется возможным обеспечить качество окружающей среды и ее безопасность. В этих случаях возрастает роль медико-биологических мероприятий по защите внутренней среды организма человека, среди которых важное место занимает фактор питания [Bahring, 2003; Спиричев, 2010; Петрова и др., 2016].

Поскольку в основе обменных процессов организма лежит превращение пищевых веществ, характер питания в существенной степени определяет тот метаболический фон, на котором действует чужеродное вещество. Питание определяет не только общий уровень функционирования гомеостатических систем, но и эффективность защиты адаптационных механизмов за счет оптимального поступления соответствующих нутриентов, обеспечивая алиментарную адаптацию. Таким образом, в условиях нагрузки чужеродными веществами несбалансированное, дефицитное питание будет являться не только фактором развития хорошо известных распространенных патологий, но и причиной снижения адаптационных возможностей организма [Бондарев, Мартинчик, 1984; Тутельян, 2012; Истомин и др., 2015; Мартинчик и др., 2017].

По данным ученых [Тутельян и др., 1987; Аверьянова, 2018], фактор питания может являться одним из существенных стрессовых факторов, так как от 70 до 100 % чужеродных химических веществ окружающей среды поступает в организм с пищей, и возникает возможность как положительного, так и отрицательного воздействия питания на конечный эффект ксенобиотиков, приводя к усилению, торможению или нейтрализации их действия. Попадая в организм человека, ксенобиотики представляют для него непосредственную опасность, так как при метаболизме могут образовываться промежуточные продукты более токсичные, чем сами ксенобиотики. В процессе эволюции в живом организме выработались защитно-приспособительные реакции, подвергающие токсические вещества окислительно-восстановительным превращениям, гидролизу, синтетическим реакциям с образованием парных соединений, в результате чего возникают, как правило, менее токсичные полярные водорастворимые вещества, выделяемые из организма почками, кишечником и другими путями, т. е.

происходит их детоксикация [Бондарев, Мартинчик, 1984; Тутельян и др., 1987; Саприн, 1991].

Известно, что важную роль в реакциях микросомального метаболизма чужеродных химических веществ играют биологически активные препараты – витамины и аминокислоты. В работах ученых Института питания РАМН и других авторов определена коферментная функция витаминов в биосинтезе таких компонентов ферментативных систем, как гем и цитохром P-450, УДФ-глюкуроновая кислота, меркаптуровые кислоты. Это прежде всего витамин В₂ (рибофлавин), служащий в виде ФАД кофактором альдегидоксидаз и входящий в состав микросомальных флавопротеидов НАДН-цитохром-450-редуктазы, НАДН-цитохром-В₅-редуктазы и флаavin-зависимой монооксигеназы, не содержащей цитохрома P-450. Производные никотиновой кислоты НАДН и НАДФН служат кофактором широкого круга дегидрогеназ, а пантотеновая кислота (витамин В₅) входит в состав ферментов ацетилирования. В процессах биотрансформации витамин В₆ (пиридоксин) в форме пиридоксальфосфата входит в качестве кофактора в синтетазу алинолевулиновой кислоты и принимает участие в биосинтезе предшественников гема порфиринов.

Другая сторона взаимодействия витаминов и ксенобиотиков заключается в том, что ксенобиотики могут нарушать утилизацию витаминов и превращать их в метаболически активные формы или являться прямыми антагонистами витаминов. Помимо непосредственной биохимической роли в процессах биотрансформации ксенобиотиков многим витаминам принадлежит функция защиты антиоксидантной системы, имеющей решающее значение в предупреждении токсических последствий воздействия чужеродных веществ на организм [Тутельян и др., 1987; Сазонова и др., 2013].

Значение изучения биологически активных веществ в процессах биотрансформации чужеродных веществ и влияния ксенобиотиков на их обмен состоит еще и в том, что многими учеными установлено снижение обеспеченности витаминами и аминокислотами организма людей, и прежде всего это прослеживается на территории с большей антропогенной нагрузкой [Тутельян, 2012; Spirichev, 2013; Петрова и др., 2016; Коденцова и др., 2017].

В настоящее время имеются сведения о профилактических и лечебных свойствах аскорбиновой кислоты (в организме человека, в отличие от крыс, витамин С не синтезируется), α-токоферола, пиридоксина, тиамина, ри-

Показатели активности ферментов нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и выживаемости животных, получавших витаминно-аминокислотный комплекс за 20 минут до введения ГХЦГ, $M \pm m$

Indicators of activity of neutrophilic granulocytes enzymes in peripheral blood and survival of animals receiving vitamin-amino acid complex 20 minutes before administering hexachlorocyclohexane, $M \pm m$

Вводимые вещества The entered substances	Ферменты Enzymes			Число живых животных, % Number of living animals, %
	миелопероксидаза, СЦК myeloperoxidase, average cytochemical coefficient	кислая фосфатаза, СЦК acid phosphatase, average cytochemical coefficient	неспецифическая эстераза СЦК non-specific esterase, cytochemical coefficient	
Интактная (n=4) Intact (n=4)	2,19 ± 0,19**	2,22 ± 0,05**	2,31 ± 0,09**	100 %*
Витаминно-аминокислотный комплекс (n=5) Vitamin and amino acid complex (n=5)	2,16 ± 0,07*	2,26 ± 0,02*	2,28 ± 0,14*	100 %*
ГХЦГ (n=8) hexachlorocyclohexane (n=8)	1,18 ± 0,08	1,16 ± 0,07	1,32 ± 0,10	48,71 ± 4,21
Витаминно-аминокислотный комплекс + ГХЦГ (n=8) Vitamin and amino acid complex + hexachlorocyclohexane (n=8)	1,85 ± 0,06*	1,91 ± 0,14*	1,76 ± 0,04*	82,35 ± 5,65*

Примечание. *Различия в сравнении с животными, получавшими только ГХЦГ, достоверны при $p < 0,05$. **Различия в сравнении с животными, получавшими только ГХЦГ, достоверны при $p < 0,01$.

Note. *The differences in comparison with the animals receiving only hexachlorocyclohexane are significant at $p < 0.05$. **The differences in comparison with the animals receiving only hexachlorocyclohexane are significant at $p < 0.01$.

бофлавина, никотиновой кислоты при воздействии ксенобиотиков, в том числе пестицидов, на организм. При недостаточности магния, который необходим для реакций гидроксилирования, активность ферментов также снижается. Известно, что аскорбиновая кислота снижает токсическое действие многих ксенобиотиков (линдан, ДДТ, гексахлорофен, фенол и другие). Витамин Е, или α -токоферол, является наиболее сильным природным антиоксидантом, который нейтрализует свободнорадикальные продукты и тем самым защищает мембраны клеток от повреждающего действия продуктов перекисного окисления липидов [Бондарев, Мартинчик, 1984; Тутельян, 2012; Рахманин, Михайлова, 2014].

Защитное действие комплекса витаминов (С, В₁, В₂, РР) и аминокислоты метионина от токсического действия ГХЦГ показано результатами наших исследований. Проведенные эксперименты по изучению защитных свойств витаминно-аминокислотного комплекса при интоксикации хлорорганическим пестицидом показали снижение токсического действия ГХЦГ на организм животных, которое выразилось в увеличении числа выживших животных, в сохранении активности ферментов нейтрофильных гранулоцитов периферической крови: миелопероксидазы, кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы.

Так, активность по СЦК миелопероксидазы в нейтрофильных гранулоцитах повысилась в среднем в 1,5 раза по сравнению с группой животных, получавших ГХЦГ, активность кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы – в 1,4–1,6 раза. Число живых животных в группе, которая получала витаминно-аминокислотный комплекс и ГХЦГ, к концу эксперимента было в 1,7 раза больше по сравнению с группой, животные которой получали только пестицид. В группе положительного контроля активность ферментов была в 2 раза выше по сравнению с группой животных, получавших только ГХЦГ.

Различия в показателях активности изучаемых ферментов в интактной группе животных по сравнению с группой получавших только комплекс витаминов с метионином были незначительны или на одном уровне, тогда как с показателями группы получавших только пестицид различия были значительными и достоверными. Выживаемость животных в группе положительного контроля, как и в интактной, к концу эксперимента составила 100 % (табл.).

Заключение

Проведенные эксперименты, результаты которых согласуются с данными других авторов, показали, что комплекс биологически активных веществ, включающий витамины С, В₁, В₂, РР

и аминокислоту метионин, защищал организм животных при интоксикации хлорорганическим пестицидом гексахлорциклогексаном. Защитное действие этого комплекса выражалось в сохранении активности ферментов в нейтрофильных гранулоцитах: миелопероксидазы, кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы и в увеличении числа живых животных.

Полученные результаты исследований показывают, что одним из возможных и важных путей, направленных на защиту внутренней среды организма от ксенобиотиков, является поиск пищевых веществ, обладающих профилактическими свойствами. В основу такого поиска прежде всего должно быть положено не только изучение биотрансформации чужеродных веществ в организме, но и возможность их регулирования факторами питания. А это в определенной степени может способствовать снижению токсико-экологической нагрузки на здоровье населения, проживающего в условиях загрязненной окружающей среды.

Литература

- Аверьянова А. И.* Макронутриентный состав и энергетическая ценность рациона питания студентов Северо-Восточного государственного университета // Вестник Новосибирского педагогического университета. 2018. Т. 8, № 3. С. 198–210. doi: 10.15293/2226-3365.1803.14
- Амирова З. К., Сперанская О. А.* Новые стойкие органические супертоксиканты и их влияние на здоровье человека. М.: Эко-Согласие, 2016. С. 118–143.
- Бондарев Г. И., Мартинчик А. Н.* Роль питания в метаболизме чужеродных веществ // Профилактическая токсикология. М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1984. Т. 2, ч. 1. С. 91–109.
- Ильина И. С., Клепиков О. В., Болдырев В. Д.* Оценка взаимосвязи уровня загрязнения почвенного покрова и заболеваемости населения // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2015. Т. 14, № 1. С. 177–183.
- Истомин А. В., Сааркоппель Л. М., Яцына И. В.* Гигиенические проблемы коррекции фактора питания у работающих во вредных условиях / Под ред. В. Н. Ракитского. М.: Дашков и К, 2015. С. 148–185.
- Клепиков О. В., Самойлов А. С., Ушаков И. Б., Попов В. М., Куролап С. А.* Комплексная оценка состояния окружающей среды промышленного города // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97, № 8. С. 686–692. doi: 10.18821/0016-9900-2018-97-8-686-692
- Коденцова В. М., Вржесинская О. А., Рисник Д. В., Никитюк Д. Б., Тутельян В. А.* Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы // Вопросы питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 113–124.
- Козинец Г. И., Погорелов В. М., Шмаров Д. А., Сазонов В. В.* Клетки крови. Современные технологии их анализа. М.: Триада-фарм, 2002. 200 с.
- Мартинчик А. Н., Батулин А. К., Кешабянц Э. Э., Фатьянова Л. Н., Семенова Я. А., Базарова Л. Б., Устинова Ю. В.* Анализ фактического питания детей и подростков России в возрасте от 3 до 19 лет // Вопросы питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 50–60.
- Онищенко Г. Г.* О санитарно-эпидемиологическом состоянии окружающей среды // Гигиена и санитария. 2013. № 2. С. 4–10.
- Паньшина Т. Н.* Токсикология основных классов пестицидов // Профилактическая токсикология. М.: Центр междунар. проектов ГКНТ, 1984. Т. 2, ч. 1. С. 238–250.
- Петрова Т. Н., Зуйкова А. А., Красноуцкая О. Н.* Оценка фактического питания студентов медицинского вуза: проблемы и пути их решения // Санитарный врач. 2016. № 3. С. 48–55.
- Рахманин Ю. А., Михайлова Р. И.* Окружающая среда и здоровье: приоритеты профилактической медицины // Гигиена и санитария. 2014. № 5. С. 5–10.
- Ревич Б. А., Шелепчиков А. А., Бродский Е. С., Сергеев О. В., Михалюк Н. С.* Содержание полихлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов в куриных яйцах, полученных в различных регионах России // Вопросы питания. 2007. Т. 76, № 4. С. 58–64.
- Сазонова Т. Л., Косова Е. С., Трофимов В. А., Лопухова Е. Н.* Исследование свободнорадикальных модификаций биомолекул как механизм генотоксичности ксенобиотиков // Вестник Мордовского университета. 2013. № 3–4. С. 129–132.
- Саприн А. Н.* Ферменты метаболизма и детоксикации ксенобиотиков // Успехи биологической химии. 1991. Т. 32. С. 146–172.
- Спиричев В. Б.* Научное обоснование применения витаминов в профилактических и лечебных целях. Недостаток витаминов в рационе современного человека: причины, последствия и пути коррекции // Вопросы питания. 2010. Т. 79(5). С. 4–14.
- Тутельян В. А.* Химический состав и калорийность российских продуктов питания. Справочник. М.: ДеЛи плюс, 2012. 284 с.
- Тутельян В. А., Бондарев Г. И., Лешик Я. Д., Феокистова А. И.* Питание и процессы биотрансформации чужеродных веществ. М., 1987. 211 с.
- Чибураев В. И., Двоскин Я. Г., Брагина И. В., Иванов А. А., Гарбузова А. А.* Загрязнение пестицидами территории Российской Федерации как потенциальная опасность для здоровья населения // Гигиена и санитария. 2003. № 3. С. 68–72.
- Spirichev V. B.* To the substantiation of the joint use of vitamin D and the rest of the 12 vitamins necessary for the creation and realization of the vital functions of its hormone-active form (the vitamin D+12 vitamins approach) // J. Nutr. Therapeut. 2013. No. 3. P. 48–55. doi: 10.6000/1929-5634.2013.02.01.1
- Bahring S.* The study of gene polymorphism Hove complex is genetic disease // Meth. Mol. Med. 2003. Vol. 86. P. 221–235. doi: 10.1385/1-59259-392-5:221

Поступила в редакцию 26.04.2019

References

Aver'yanova A. I. Makronutrientnyi sostav i energeticheskaya tsennost' ratsiona pitaniya studentov Severo-Vostochnogo gosudarstvennogo universiteta [Macronutrient composition and dietary energy supply of students of Northeastern State University]. *Vestnik Novosibirskogo ped. univ.* [The Science for Education Today]. 2018. Vol. 8, no. 3. P. 198–210. doi: 10.15293/2226-3365.1803.14

Amirova Z. K., Speranskaya O. A. Novye stoikie organicheskie supertoksikanty i ikh vliyanie na zdorov'e cheloveka [New persistent organic supertoxicants and their effects on human health]. Moscow: Ekologiasie, 2016. P. 118–143.

Bondarev G. I., Martinchik A. N. Rol' pitaniya v metabolizme chuzherodnykh veshchestv [The role of nutrition in the metabolism of foreign substances]. *Profilakticheskaya toksikologiya* [Preventive toxicology]. Moscow: Tsentr mezhdunarod. proektov GKNT, 1984. Vol. 2, pt. 1. P. 91–109.

Chiburaev V. I., Dvoskin Ya. G., Bragina I. V., Ivanov A. A., Garbuzova A. A. Zagryaznenie pestitsidami territorii Rossiiskoi Federatsii kak potentsial'naya opasnost' dlya zdorov'ya naseleniya [Pesticide pollution of the territory of the Russian Federation as a potential hazard to public health]. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2003. No. 3. P. 68–72.

Il'ina I. S., Klepikov O. V., Boldyrev V. D. Otsenka vzaimosvyazi urovnya zagryazneniya pochvennogo pokrova i zaboлеваemosti naseleniya [Assessment of the relationship between the level of soil pollution and the sickness rate of the population]. *Sistemnyi analiz i upravlenie v biomed. sistemakh* [System analysis and management in biomedical systems]. 2015. Vol. 14, no. 1. P. 177–183.

Istomin A. V., Saarkoppel' L. M., Yatsyna I. V. Gigienicheskie problemy korrektsii faktora pitaniya u robotayushchikh vo vrednykh usloviyakh [Hygienic problems of nutrition factor correction of the staff exposed to harmful effects]. Ed. V. N. Rakitsky. Moscow: Dashkov i K, 2015. P. 148–185. doi: 10.18821/0016-9900-2018-97-8-686-692

Klepikov O. V., Samoilov A. S., Ushakov I. B., Popov V. M., Kurolop S. A. Kompleksnaya otsenka sostoyaniya okruzhayushchei sredy promyshlennogo goroda [Comprehensive environmental assessment of an industrial city]. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2018. Vol. 97, no. 8. P. 686–692.

Kodentsova V. M., Vrzhesinskaya O. A., Risnik D. V., Nikityuk D. B., Tutel'yan V. A. Obespechennost' naseleniya Rossii mikronutrientami i vozmozhnosti ee korrektsii. Sostoyanie problemy [Micronutrients supply for the population of Russia and ways of its correction: the state of the problem]. *Voprosy pitaniya* [Problems of Nutrition]. 2017. Vol. 86, no. 4. P. 113–124.

Kozinets G. I., Pogorelov V. M., Shmarov D. A., Sazonov V. V. Kletki krovi. Sovremennye tekhnologii ikh analiza [Blood cells. Modern technologies of their analysis]. Moscow: Triada-farm, 2002. 200 p.

Martinchik A. N., Baturin A. K., Keshabyants E. E., Fat'yanova L. N., Semenova Ya. A., Bazarova L. B.,

Ustinova Yu. V. Analiz fakticheskogo pitaniya detei i podrostkov Rossii v vozraste ot 3 do 19 let [The analysis of the actual nutrition of children and teenagers aged from 3 to 19 in Russia]. *Voprosy pitaniya* [Problems of Nutrition]. 2017. Vol. 86, no. 4. P. 50–60.

Onishchenko G. G. O sanitarno-epidemiologicheskoy sostoyanii okruzhayushchei sredy [On the sanitary and epidemiologic state of environment]. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2013. No. 2. P. 4–10.

Pan'shina T. N. Toksikologiya osnovnykh klassov pestitsidov. Profilakticheskaya toksikologiya [Toxicology of the main classes of pesticides. Preventive toxicology]. Moscow: Tsentr mezhdunarodnykh proektov GKNT, 1984. Vol. 2, pt. 1. P. 238–250.

Petrova T. N., Zuikova A. A., Krasnorutskaya O. N. Otsenka fakticheskogo pitaniya studentov meditsinskogo vuza: problemy i puti ikh resheniya [Assessment of the actual nutrition of students of a medical school: problems and ways of their solution]. *Sanitarnyi vrach* [Sanitary inspector]. 2016. No. 3. P. 48–55.

Rakhmanin Yu. A., Mikhailova R. I. Okruzhayushchaya sreda i zdorov'e: priority profylakticheskoy meditsiny [Environment and health: priorities of preventive medicine]. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2014. No. 5. P. 5–10.

Revich B. A., Shelepchikov A. A., Brodskii E. S., Sergeev O. V., Mikhalyuk N. S. Soderzhanie polikhlrorirovannykh bifenilov i khlororganicheskikh pestitsidov v kurinykh yaitsakh, poluchennykh v razlichnykh regionakh Rossii [The content of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in chicken eggs obtained in various regions of Russia]. *Voprosy pitaniya* [Problems of Nutrition]. 2007. Vol. 76, no. 4. P. 58–64.

Sazonova T. L., Kosova E. S., Trofimov V. A., Lopukhova E. N. Issledovanie svobodnoradikal'nykh modifikatsii biomolekul kak mekhanizm genotoksichnosti ksenobiotikov [Research of free radical modifications of biomolecules as a mechanism of genotoxicity of xenobiotics]. *Vestnik Mordovskogo univ.* [Mordovia Univ. Bull.]. 2013. No. 3–4. P. 129–132.

Saprin A. N. Fermenty metabolizma i detoksikatsii ksenobiotikov [Enzymes of metabolism and detoxication of xenobiotics]. *Uspekhi biol. khimii* [Biol. Chemistry Reviews]. 1991. Vol. 32. P. 146–172.

Spirichev V. B. Nauchnoe obosnovanie primeneniya vitaminov v profylakticheskikh i lechebnykh tselyakh. Soobshchenie 1. Nedostatok vitaminov v ratsione sovremennogo cheloveka: prichiny, posledstviya i puti korrektsii [Scientific justification of vitamins B use in preventive and medical purposes. Report 1. Lack of vitamins B in the diet of modern people: reasons, consequences, and ways of correction]. *Voprosy pitaniya* [Problems of Nutrition]. 2010. Vol. 79(5). P. 4–14

Tutel'yan V. A. Khimicheskii sostav i kaloriinost' Rossiiskikh produktov pitaniya. Spravochnik [Chemical composition and calorific content of the Russian food. A reference book]. Moscow: DeLi plyus, 2012. 284 p.

Tutel'yan V. A., Bondarev G. I., Leshik Ya. D., Feoktistova A. I. Pitanie i protsessy biotransformatsii chuzherodnykh veshchestv [Food and processes of biotransformation of foreign substances]. Moscow, 1987. 211 p.

Spirichev V. B. To the substantiation of the joint use of vitamin D and the rest of the 12 vitamins necessary for the creation and realization of the vital functions of its hormone-active form (the vitamin D+12 vitamins approach). *J. Nutr. Therapeut.* 2013. No. 3. P. 48–55. doi: 10.6000/1929-5634.2013.02.01.1

Bahring S. The study of gene polymorphism Hove complex is genetic disease. *Meth. Mol. Med.* 2003. Vol. 86. P. 221–235. doi: 10.1385/1-59259-392-5:221

Received April 26, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ладнова Галина Георгиевна

профессор кафедры географии, экологии и общей биологии, д. б. н.
Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орел, Россия, 302026
эл. почта: gladnova@yandex.ru

Соболев Александр Николаевич

доцент кафедры географии, экологии и общей биологии, к. б. н.
Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орел, Россия, 302026
эл. почта: alniksobolev@rambler.ru

Курочицкая Маргарита Георгиевна

доцент кафедры географии, экологии и общей биологии, к. б. н.
Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орел, Россия, 302026
эл. почта: m.kuro4@yandex.ru

Силютин Валентина Васильевна

учебный мастер кафедры географии, экологии и общей биологии
Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орел, Россия, 302026
эл. почта: vsilyutina@yandex.ru

Трофимец Любовь Никифоровна

доцент кафедры географии, экологии и общей биологии, к. г. н.
Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орел, Россия, 302026
эл. почта: trofimetc_l_n@mail.ru

Гаврикова Дарья Юрьевна

аспирант кафедры географии, экологии и общей биологии
Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орел, Россия, 302026
эл. почта: gavrikv-jurijj@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Ladnova, Galina

Orel State University named after I. S. Turgenev
95 Komsomolskaya St., 302026 Oryol, Russia
e-mail: gladnova@yandex.ru

Sobolev, Alexander

Orel State University named after I. S. Turgenev
95 Komsomolskaya St., 302026 Oryol, Russia
e-mail: alniksobolev@rambler.ru

Kurochitskaya, Margarita

Orel State University named after I. S. Turgenev
95 Komsomolskaya St., 302026 Oryol, Russia
e-mail: m.kuro4@yandex.ru

Silyutina, Valentina

Orel State University named after I. S. Turgenev
95 Komsomolskaya St., 302026 Oryol, Russia
e-mail: vsilyutina@yandex.ru

Trofimets, Lyubov'

Orel State University named after I. S. Turgenev
95 Komsomolskaya St., 302026 Oryol, Russia
e-mail: trofimetc_l_n@mail.ru

Gavrikova, Darya

Orel State University named after I. S. Turgenev
95 Komsomolskaya St., 302026 Oryol, Russia
e-mail: gavrikv-jurijj@yandex.ru

УДК 612.08

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

**М. А. Акименко, Т. С. Колмакова, О. С. Оксенюк, Ю. А. Калмыкова,
О. Б. Смирнова**

*Ростовский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия*

На экспериментальной модели изучалась динамика эндогенной интоксикации для прогноза течения обструктивной уропатии. Для достижения поставленной цели были сформированы одна контрольная и три опытных группы животных, у которых производился забор крови из краевой ушной вены на 3, 7, 14 и 21-е сутки эксперимента. В сыворотке крови определяли следующие показатели: мочевины, креатинин, общий белок, альбумин. Уровень эндогенной интоксикации оценивали по показателям молекул средней массы, циркулирующих иммунных комплексов и малонового диальдегида. Статистический анализ биохимических показателей крови и маркеров эндогенной интоксикации подтверждает возможность использования данных показателей как маркеров тяжести патологического процесса и морфофункциональных изменений в ткани обструктивного и компенсаторного органов. Полученные данные указывают на перенапряжение адаптационных механизмов, развитие окислительного стресса и демонстрируют высокий уровень эндогенной интоксикации, приводящей к структурно-метаболическим изменениям как в пораженной, так и в контрлатеральной почке.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация; эксперимент; обструкция мочевыводящих путей; молекулы средней массы; циркулирующие иммунные комплексы; малоновый диальдегид.

**M. A. Akimenko, T. S. Kolmakova, O. S. Oksenjuk, Yu. A. Kalmykova,
O. B. Smirnova. CHANGES IN INDICATORS OF ENDOGENOUS
INTOXICATION DUE TO EXPERIMENTAL URINARY TRACT OBSTRUCTION**

The development of endogenous intoxication was studied using an experimental model to predict the course of obstructive uropathy. To this end, one control and three experimental groups of animals were formed, in which blood was drawn from the marginal ear vein on the 3rd, 7th, 14th and 21st days of the experiment. The following parameters were determined in blood serum: urea, creatinine, total protein, and albumin. The level of endogenous intoxication was assessed by the indicators of medium-mass molecules, circulating immune complexes, and malondialdehyde. Statistical analysis of blood biochemical parameters and markers of endogenous intoxication confirms that these indicators are suitable as markers of the severity of the pathological process and morphofunctional changes in the tissue of the obstructed and compensatory organs. Our findings point to overstress of adaptation mechanisms, the development of oxidative stress, and reveal

a high level of endogenous intoxication, resulting in structural and metabolic changes both in the affected and in the contralateral kidney.

Key words: endogenous intoxication; experiment; urinary tract obstruction; medium-mass molecules; circulating immune complexes; malondialdehyde.

Введение

Одним из важнейших вопросов медицинской науки и клинической практики является ранняя диагностика патологии почек как определяющий фактор в выборе алгоритма лечения. К наиболее опасным относят заболевания мочевыводящей системы, вызванные обструкцией из-за длительного бессимптомного периода, приводящего к хронизации воспалительного процесса в почках, а также трудно прогнозируемого летального исхода заболевания. Современный алгоритм диагностики предусматривает использование клинико-лабораторных методов по показателям крови, мочи и УЗИ. Общеклинический анализ крови позволяет выявить наличие воспалительного процесса в организме по содержанию лейкоцитов, скорости оседания эритроцитов (СОЭ), белкам острой фазы и др. Биохимическое исследование дает возможность определить нарушение функций почек по сдвигу границ нормы мочевины, креатинина (маркер нарушения экскреторной функции почек), общего белка, альбумина [Сигитова, 2008; Урология..., 2009; Алексеев и др., 2014; Pianta et al., 2017]. УЗИ занимает первое место среди диагностических процедур, применяемых для выявления патологии почек, так как позволяет оценить размеры почек, чашечно-лоханочного аппарата и состояние паренхимы. Однако данная методика не дает информацию о накопительно-выделительной функции почек. Таким образом, стандартное клинико-лабораторное обследование не позволяет в полной мере оценить степень повреждения почек, сделать прогноз осложнений, назначить патогенетически обоснованное лечение. Вопрос поиска дополнительных маркеров, позволяющих оценить не только нарушение функций почек, но и возможности организма в целом адаптироваться к обструктивному процессу, является актуальным на протяжении многих лет [Chmielewski et al., 2014; Юрьева и др., 2015]. Современные высокотехнологичные методики дают возможность определять в крови пациентов с патологией почек биохимические маркеры поражения паренхимы, такие как эндотелин-1 (ET-1), трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), эпидермальный фактор роста (EGF), канальце-

вые ферменты [Alberti, 2012]. Однако данный алгоритм обследования не является общедоступным из-за высокой стоимости исследований и требует соответствующего высокотехнологичного приборного оснащения. В связи с этим использование в клинической практике известных доступных методов и показателей дополнительного исследования пациентов для дифференциальной диагностики не только не теряет своей актуальности, но и является необходимым условием прогноза течения социально значимых заболеваний [Kondratyuk et al., 2019]. Анализ тематической литературы [Икромов и др., 2014; Антонов, Годин, 2017] позволяет прийти к выводу, что показатели эндогенной интоксикации (ЭИ) могут использоваться для оценки как уровня повреждения органа, так и состояния организма в целом. Для характеристики почечной недостаточности широко используются показатели метаболических нарушений: содержания в крови молекул средней массы [Габриэлян и др., 1981; Габриэлян, Липатова, 1984; Карякина, Белова, 2004; Оксенюк и др., 2016; Nlandu et al., 2019] и продуктов липоокисления [Топчий и др., 2012]. В литературе широкое распространение получила концепция синдрома ЭИ как процесса в рамках системного (генерализованного) воспалительного ответа, вызванного накоплением биологически активных соединений, которые в нормальных условиях будут выделяться и/или метаболизироваться почками [Bone, 1995; Карякина, Белова, 2001]. Однако динамика этих изменений при длительной обструкции почки в настоящее время изучена недостаточно, что не дает возможности правильно оценить степень поражения органа и прогнозировать течение заболевания. Известно, что перенапряжение адаптационных механизмов, срыв компенсации, несбалансированность реакций на биомолекулярном уровне ведут к структурно-метаболическим изменениям, служащим причиной развития нарушений гомеостаза в организме [Шмойлов и др., 2012]. На основании изложенного выше актуальным является экспериментальное изучение динамики поражения почки и ответа организма в целом на это повреждение по показателям ЭИ.

Цель настоящего исследования – изучение динамики показателей ЭИ при эксперимен-

тальной обструкции мочевыводящих путей для дальнейшего прогноза течения обструктивной уропатии.

Материалы и методы

Работа выполнялась на кафедре медицинской биологии и генетики Ростовского государственного медицинского университета (РостГМУ) с использованием материально-технической базы отдела биохимии, молекулярной биологии и клеточных технологий и отдела фундаментальной и клинической морфологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РостГМУ. Содержание, питание, уход за животными и выведение из эксперимента осуществлялись в соответствии с Правилами для проведения работ с использованием экспериментальных животных (Россия, 2010), Международными рекомендациями (этическим кодексом) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (CIOMS и ICLAS, 2012), требованиями Хельсинкской декларации (2000) и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях (2010). Исследования разрешены локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России (протокол № 21/15 от 10.12.2015).

Экспериментальная модель обструктивной уропатии (ОУ) на кроликах-самцах была выполнена по методике E. Giamarellors-Bourbalis с соавторами [2004]. Оперативная часть эксперимента состояла из нескольких этапов. Первый этап: животных подвергали седации раствором золетила внутримышечно (15 мг/кг), далее в краевую вену уха внутривенно вводили 1% водную эмульсию пропофола (дипривана) (5,0–7,5 мг/кг). Следующий этап: через верхнесрединный абдоминальный разрез длиной 4,0 см вскрывали брюшную полость. Кишечник перемещали вправо. Левый мочеточник после визуализации на 2,5 см дистальнее лоханки окружали нитью 3/0 и подтягивали к передней брюшной стенке. Заключительный этап: оба конца нити проводили через переднюю брюшную стенку наружу и завязывали на коже (рис. 1).

Для достижения поставленной цели были сформированы одна контрольная и три опытных группы животных. Все группы состояли из кроликов-самцов в возрасте 3,5 месяца и весом 2,40–2,75 кг. Животных всех групп содержали при одинаковых условиях температуры (20–23 °С), влажности, освещения, рациона питания, с недельной адаптацией до начала эксперимента. Полная обструкция левого мо-

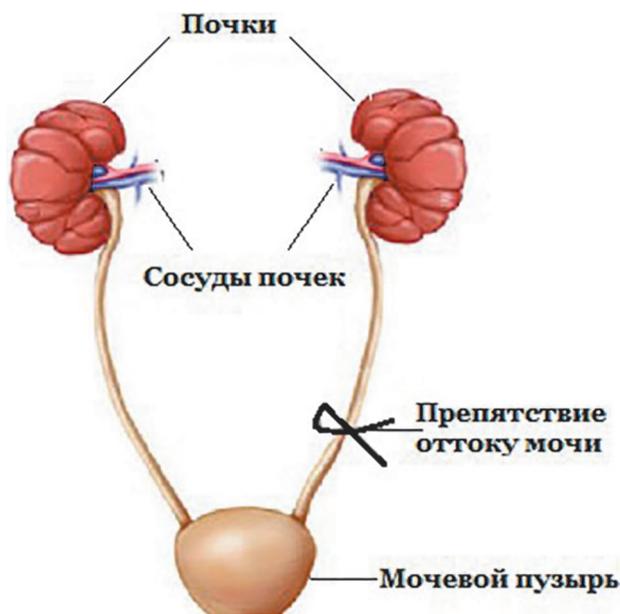


Рис. 1. Механическая обструкция левого мочеточника (схема эксперимента)

Fig. 1. Mechanical obstruction of the left ureter (experimental setup)

четочника сохранялась в течение всего эксперимента.

Для проведения биохимических исследований у животных производился забор крови из краевой ушной вены на 3, 7, 14 и 21-е сутки эксперимента. Биохимические исследования периферической крови проводили на анализаторе CHEM 7 (Erba, Чехия). В сыворотке крови определяли следующие показатели: мочевины, креатинин, общий белок, альбумин. Уровень ЭИ оценивали по показателям молекул средней массы, циркулирующих иммунных комплексов и малонового диальдегида. Измерение показателей ЭИ проводили на спектрофотометре U-2900 (Hitachi, Япония), используя методику с модификациями для детекции молекул средней массы (МСМ) при трех длинах волн: 254, 260 и 280 нм, а также определяли большие и малые циркулирующие иммунные комплексы (БИК и МИК), малоновый диальдегид (МДА) по соответствующим методикам [Стальная, Гаришвили, 1977; Николайчик и др., 1991; Обухова и др., 2007].

Сравнение медиан количественных показателей в экспериментальных группах проводилось с помощью теста Фридмана с поправкой на множественные сравнения по Холму (парные апостериорные сравнения производились с помощью метода Немени). Сравнение медиан количественных показателей экспериментальных групп с контрольной проводилось с помощью теста Краскела – Уоллиса (попар-

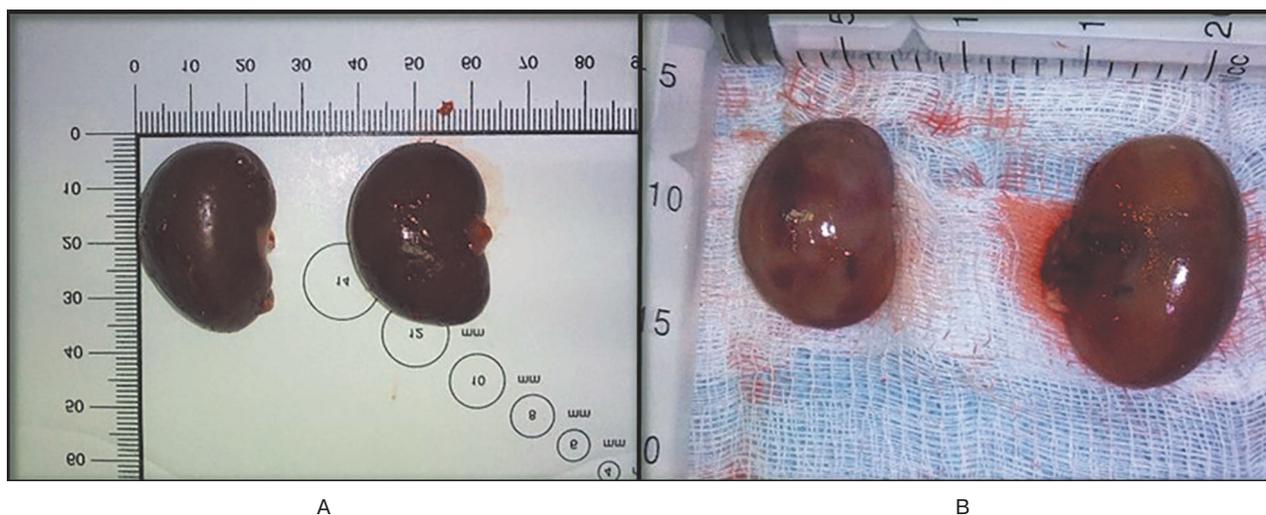


Рис. 2. Макроскопические размеры почек кроликов:

А – здоровые почки; В – 7-е сутки обструкции: слева – контрлатеральная почка, справа – обструктивная почка

Fig. 2. Macroscopic dimensions of rabbit kidneys:

А – healthy kidneys; В – on the 7th day of obstruction: on the left there is the contralateral kidney; on the right – the obstructive kidney

ные апостериорные сравнения производились с помощью метода Немењи). Различия признавались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$. Расчеты выполнялись в статистическом пакете R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Австрия).

Результаты и обсуждение

Развитие гидронефроза устанавливалось макроскопическими и морфологическими исследованиями обструктивной почки. Так, уже на 7-е сутки эксперимента внешние размеры обструктивной почки превышали размеры контрлатеральной почки без видимых нарушений паренхимы и структуры коркового и мозгового вещества (рис. 2).

По мере увеличения срока обструкции макроскопические и морфологические признаки гидронефроза усиливались. К 14-м суткам в обструктивной почке отмечалось видимое расширение полости лоханки и уменьшение толщины коркового отдела почки. На 21-е сутки эксперимента зарегистрированы изменения, соответствующие стадии терминального гидронефроза, при котором имели место значительное расширение чашечно-лоханочной системы, необратимые структурные изменения (фиброз, атрофия), приводящие к снижению почечной функции.

Результаты исследования позволили установить динамику изучаемых показателей при развитии гидронефроза, вызванного обструкцией почки. Сравнением медиан количествен-

ных показателей у экспериментальных групп с контрольной выявлены значимые различия ($p < 0,05$) по семи из них: БИК, МИК, МДА, МСМ, общий белок крови, альбумин и креатинин (табл. 1). Это позволило соотнести показатели ЭИ с морфологическими изменениями почек.

В ранний послеоперационный период (3-и сутки) наблюдались изменения, вызванные оперативным вмешательством и гиповолемией. Так, хирургическая травма привела к закономерному повышению содержания мочевины и креатинина, уровень этих веществ достиг верхней границы нормы на 3-и и 7-е сутки эксперимента (рис. 3, 4).

Мочевина является одним из конечных продуктов белкового обмена, и уровень ее содержания в крови – важный индикатор того, насколько продуктивно почки справляются со своей выделительной функцией. Полученные результаты позволяют говорить о том, что уровень данного показателя будет оставаться в норме до тех пор, пока с нагрузкой в полной мере справляется контрлатеральная почка.

Креатинин, как и мочевина, является продуктом белкового распада и из организма выводится почками, поэтому его количество в крови также является важным показателем деятельности почек. Полученные данные говорят об относительном повышении уровня креатинина (на 3–7-е сутки), связанном с уменьшением объема циркулирующей плазмы в результате ее кровопотери вследствие оперативного вмешательства (рис. 4).

Таблица 1. Сравнение медиан количественных показателей на 3, 7, 14 и 21-е сутки эксперимента с контрольной группой

Table 1. Comparing quantitative parameters medians on the 3rd, 7th, 14th and 21st day of the experiment with the control group

Показатель Index	Контрольная группа Control group N=7	3-и сутки 3 rd day N=12	7-е сутки 7 th day N=12	14-е сутки 14 th day N=9	21-е сутки 21 st day N=6
БИК, усл. ед. LIC, conventional unit	20 [19; 20]	6,5 [6; 7]	11 [10; 12]	12 [12; 13]	26,5 [26; 28]
МИК, усл. ед. SIC, conventional unit	32 [31; 34]	38 [36,5; 39]	43,5 [41; 45]	73 [71; 76]	87 [83; 87]
МДА, нмоль/мл MDA, nmol/ml	2,16 [2,12; 2,47]	15,4 [14,9; 16]	17,9 [16,9; 18,8]	12,9 [12,3; 13]	14,4 [13,9; 14,8]
О. белок, г/л Total protein, g/l	65 [61; 66]	49,5 [48,8; 50,6]	52 [51,1; 53,2]	56 [54,7; 56]	60,5 [59; 63]
Альбумин, г/л Albumen, g/l	35 [33; 38]	33 [29,6; 33,7]	28,8 [25,1; 30,9]	24 [22; 26]	28,5 [28; 29]
Креатинин, ммоль/л Creatinine, mmol/l	106 [98; 123]	144 [139; 146]	128 [125; 131]	106 [102; 113]	126 [120; 132]
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	7,55 [6,54; 8,3]	8,8 [8,15; 9,2]	8,75 [7,75; 9,4]	5,9 [5,7; 6,2]	5,95 [5,7; 6,1]

Примечание. Здесь и в табл. 2: средние значения представлены в виде медианы [нижний квартиль; верхний квартиль]; сравнение осуществлялось с помощью теста Краскела – Уоллиса.

Note. Here and in Tab. 2: The average values are presented as a median [lower quartile; upper quartile]; the comparison was carried out using the Kruskal-Wallis test.

Снижение содержания общего белка и альбумина до нижних границ нормы свидетельствует о вовлечении белкового резерва организма в процесс заживления раны. Вместе с тем содержание общего белка в крови животных постепенно увеличивалось – с 49,5 г/л

на 3-и сутки после операции до 60,5 г/л на 21-е сутки (рис. 5).

Изменения изучаемых показателей в последующие сроки эксперимента отражают ответ организма на обструкцию почки. Уровень мочевины снижался, достигая минимальных зна-

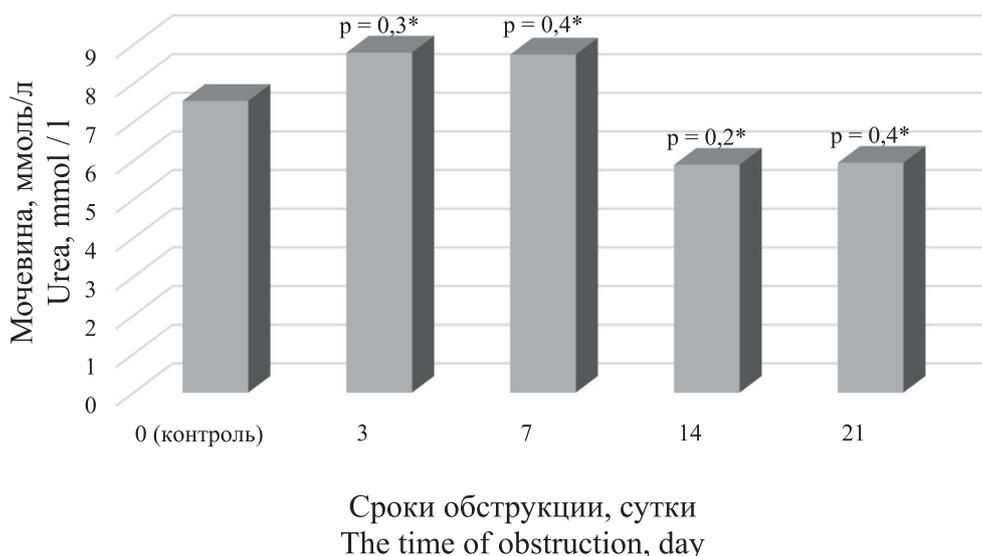


Рис. 3. Содержание мочевины в крови кроликов при обструкции мочеточника.

Здесь и далее: * – уровни статистической значимости для сравнения медиан количественных показателей экспериментальных групп с контрольной группой

Fig. 3. Urea content in the blood of the rabbits with ureteral obstruction.

Here in after: !* – evels of statistical significance for comparing medians of quantitative indices of the experimental groups with the control group

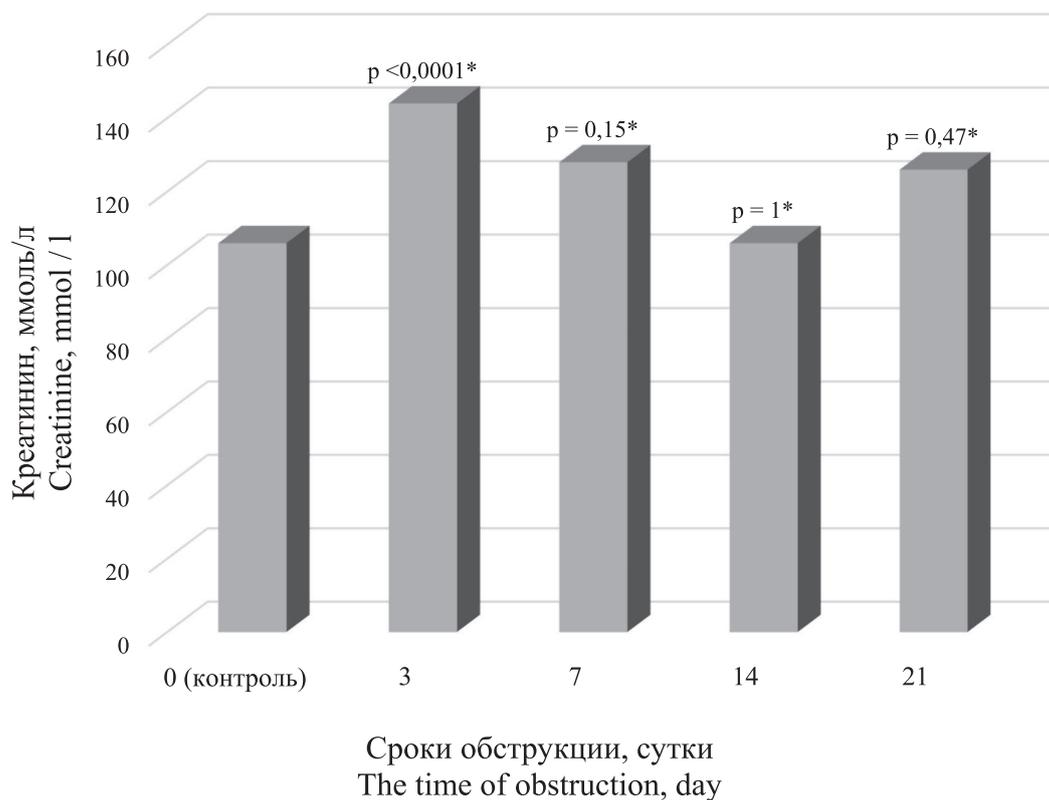


Рис. 4. Содержание креатинина в крови кроликов при обструкции мочеточника
 Fig. 4. The content of creatinine in the blood of the rabbits with ureteral obstruction

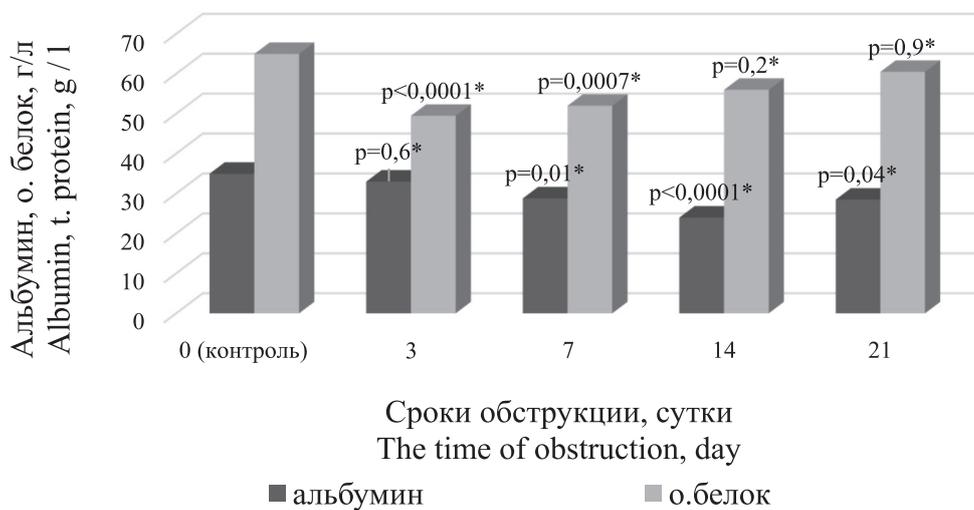


Рис. 5. Содержание альбумина и общего белка в крови кроликов при обструкции мочеточника
 Fig. 5. The content of albumin and total protein in the blood of the rabbits with ureteral obstruction

чений к концу эксперимента. Возможно, это обусловлено уменьшением субстрата, необходимого для синтеза мочевины, – с низким содержанием альбумина в крови кроликов в течение всего эксперимента (рис. 3).

Есть основания полагать, что эти изменения связаны с увеличением глобулиновой фракции,

на что косвенно указывает повышение содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), как больших (БИК), так и малых (МИК). Содержание фракции МИК в крови кроликов повысилось значительно – от 38 усл. ед. на 3-й день эксперимента до 87 усл. ед. к 21-му дню (рис. 6).

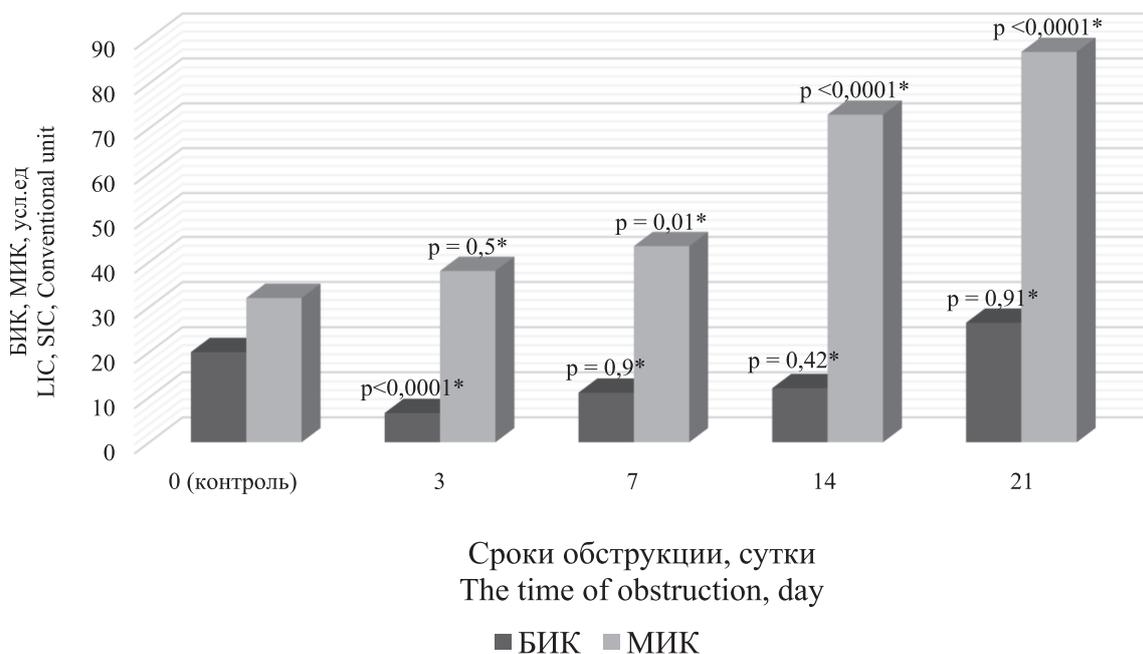


Рис. 6. Содержание БИК и МИК в крови кроликов при обструкции мочеточника
 Fig. 6. The content of the LIC and SIC in the blood of the rabbits with ureteral obstruction

Именно фракция МИК, ассоциированная с комплементом, может откладываться в периваскулярном пространстве и корковом слое почек, вызывая воспалительные процессы, и, следовательно, прогрессивное нарастание ее содержания в крови животных отражает нарушение фильтрационной функции почек. Ранее нами были описаны морфологические изменения в ткани почки, вызванные обструкцией [Акименко и др., 2017а, б]. Так, в обструктивной почке на 7-е сутки эксперимента появлялись первые адаптационные реакции без нарушения функций нефрона. Первые изменения появлялись со стороны канальцевого аппарата мозгового слоя почек в виде минимальных признаков развития межпочечного фиброза. На 14-е сутки в обструктивной почке наблюдалась кистозная трансформация клеток эпителия канальцев мозгового и коркового слоев, а также появление крупных зон межпочечного фиброза стромы. На 21-е сутки зарегистрированы необратимые повреждения паренхимы обструктивной почки в виде атрофии и межпочечного фиброза. В контрлатеральной почке в течение эксперимента отмечались изменения компенсаторного характера, связанные с повышением нагрузки на орган. Наиболее заметным морфологическим изменением контрлатеральной почки явилось возникновение в эти сроки сетчатого фиброза, локализующегося между отдельными канальцевыми структурами мозгового веще-

ства почки, с последующим развитием в нем неоангиогенеза.

Одним из показателей эндотоксемии является содержание МСМ в крови. Повышение содержания данных продуктов клеточного обмена считается закономерным при любом воспалительном процессе. Однако степень изменения их содержания может свидетельствовать о тяжести патологического процесса и возможности организма в целом формировать адаптационно-компенсаторные реакции. Существенная особенность МСМ заключается в их высокой биологической активности, они оказывают цитотоксическое и иммунодепрессивное действие (угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов). В ходе эксперимента наблюдалось повышение данного показателя, наиболее выраженное на 3-и сутки после оперативного вмешательства и на 21-е сутки эксперимента в терминальной фазе гидронефроза (более чем в два раза) (табл. 2).

МСМ₂₅₄ является наиболее токсической небелковой фракцией, состоящей из гидрофобных токсинов, обладающих высоким сродством к биологическим структурам; МСМ₂₆₀ содержит нуклеиновые кислоты; фракция МСМ₂₈₀ состоит из продуктов неполного распада белков и ароматических аминокислот. Обладая относительно небольшой молекулярной массой, в норме МСМ удаляются из организма почками путем клубочковой фильтрации, при нарушении этих процессов происходит накопление МСМ в ор-

Таблица 2. Содержание МСМ в крови кроликов в динамике обструкции мочеточника

Table 2. The content of the MWM in the rabbits blood in the dynamics of ureteral obstruction

Группы сравнения Comparison groups	Показатель Index					
	МСМ 254 нм, усл. ед. MWM 254 nanometer, conventional unit		МСМ 260 нм, усл. ед. MWM 260 nanometer, conventional unit		МСМ 280 нм, усл. ед. MWM 280 nanometer, conventional unit	
Контроль Control	15,6 [14,9; 16,6]		16,6 [15,6; 17,1]		14,5 [13,8; 15,5]	
Группа экспериментальная Experimental group						
3-и сутки 3 rd day	30,7 [29,0; 31,1]	p < 0,0001*	33,8 [32,4; 34,8]	p < 0,0001*	14,4 [13,8; 15,5]	p < 0,0001*
7-е сутки 7 th day	26,6 [25,8; 27,6]	p = 0,08*	28,6 [27,4; 29,7]	p = 0,09*	34,8 [34,2; 35,4]	p = 0,6*
14-е сутки 14 th day	25,3 [24,5; 26,4]	p = 0,43*	27,6 [26,4; 28,3]	p = 0,25*	26,1 [25,1; 27,1]	p = 0,01*
21-е сутки 21 st day	36,0 [34,7; 36,3]	p < 0,0001*	36,1 [35,8; 36,5]	p < 0,0001*	33,7 [32,9; 34,2]	p < 0,001*

анизме, что определяет многообразие клинических проявлений эндотоксикоза. Так, повышение МСМ у больных с острой почечной недостаточностью, несмотря на улучшение прочих показателей (креатинин, мочевины), является признаком неблагоприятного прогноза заболевания. Нами установлено выраженное повышение содержания МСМ трех фракций в равной степени, что указывает на повреждение цитоплазматических, мембранных и ядерных компонентов клетки. Накопление МСМ является не только маркером эндотоксикации, но и фактором, усугубляющим течение патологического процесса, – МСМ приобретают роль вторичных токсинов, которые вызывают нарушение гистогематического барьера, ингибируют мито-

хондриальные процессы окисления, нарушают транспорт веществ через мембрану.

К числу наиболее токсичных для клеточных компонентов относится малоновый диальдегид (МДА). Значительное увеличение МДА наблюдалось на 7-е сутки эксперимента – с 2,16 до 17,9 нмоль/мл (рис. 7), что говорит о высокой активности свободнорадикального окисления в тканях обструктивной почки. Через две недели эксперимента наблюдалось снижение содержания мочевины, МДА, креатинина и альбумина в крови по сравнению с острым послеоперационным периодом (3–7-е сутки), что совпадает с началом формирования компенсаторных механизмов в контрлатеральной почке и усилением ее функции, сопровождающееся

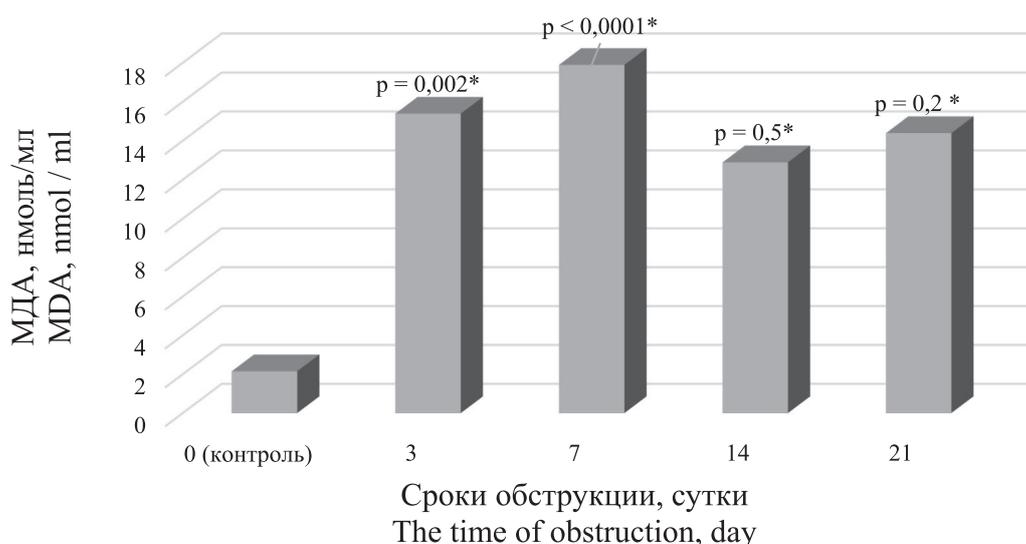


Рис. 7. Содержание МДА в крови кроликов при обструкции мочеточника

Fig. 7. MDA content in the blood of the rabbits with ureteral obstruction

дисбалансом окислительно-восстановительных процессов в ткани. Подтверждением этому служат установленные ранее морфологические изменения в контрлатеральной почке [Акименко и др., 2017б].

На 21-е сутки эксперимента регистрировались повышенные значения общего белка крови, МСМ, МИК и БИК по сравнению с остальными периодами (3, 7 и 14-е сутки). Циркулирующие иммунные комплексы состоят из специфических иммуноглобулинов, компонентов комплемента и антигена, большая часть выводится через печень и селезенку, остальные захватываются и перевариваются фагоцитами. Если фагоциты и органы выведения не справляются со своими функциями в полной мере, то происходит накопление ЦИК в тканях и органах, в частности в почечных клубочках, что приводит к повреждению ткани почки и развитию воспаления.

Заключение

Полученные нами данные указывают на перенапряжение адаптационных механизмов, развитие окислительного стресса и демонстрируют высокий уровень эндогенной интоксикации, приводящей к структурно-метаболическим изменениям как в пораженной, так и в контрлатеральной почке. Анализ биохимических показателей крови и маркеров ЭИ подтверждает возможность их использования для диагностики тяжести течения и прогноза исхода заболевания, так как адекватно отражает морфофункциональные изменения в ткани обструктивного и компенсаторного органов.

Изучение динамики показателей ЭИ позволило выделить ключевые этапы развития эндотоксемии при обструктивной уропатии. Так, в начальные сроки развития патологии регистрировались закономерные изменения, отражающие формирование адаптационных процессов в ответ на повреждение. К числу наиболее существенных изменений этого периода следует отнести накопление продуктов свободнорадикального окисления и повышение содержания креатинина и МСМ. По мере увеличения срока обструкции и усиления морфологических нарушений обструктивной почки в крови регистрируется резкое повышение содержания МИК, снижение содержания мочевины и альбумина. При появлении признаков необратимых морфологических изменений в структуре почки отмечалось резкое повышение содержания МСМ всех трех фракций, МИК и БИК на фоне низкого уровня альбумина и мочевины.

Работа осуществлялась при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Разработка способов морфологической и молекулярно-генетической оценки риска развития и прогрессии хронической болезни почек».

Литература

- Акименко М. А., Тодоров С. С., Колмакова Т. С. Динамика морфологических адаптационно-компенсаторных изменений в ткани почки при обструкции мочеточников в эксперименте // Нефрология. 2017а. Т. 21, № 5. С. 71–75. doi: 24884/1561-6274-2017-21-5-100-108
- Акименко М. А., Тодоров С. С., Колмакова Т. С. Динамика морфологических адаптационно-компенсаторных изменений в ткани контрлатеральной почки при обструкции мочеточников в эксперименте // Нефрология. 2017б. Т. 21, № 5. С. 80–84. doi: 10.24884/1561-6274-2017-21-5-119-124
- Алексеев А. В., Гильманов А. Ж., Гатиятуллина Р. С., Ракипов И. Г. Современные биомаркеры острого повреждения почек // Практическая медицина. 2014. № 3. С. 22–27.
- Антонов А. Г., Годин М. К. Возможности использования маркеров воспаления при мочекаменной болезни, осложненной пиелонефритом // Дальневосточный медицинский журнал. 2017. № 2. С. 93–98.
- Габриэлян Н. И., Дмитриев А. А., Кулаков Г. П., Мекирян А. М., Щербанева О. И. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефрологических заболеваниях // Клиническая медицина. 1981. № 9. С. 38–42.
- Габриэлян Н. И., Липатова В. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. 1984. № 3. С. 138–140.
- Икромов Т. Ш., Ибодов Х. И., Ибодов Н. С. Изучение эндогенной интоксикации и ее коррекция у детей с мочекаменной болезнью // Детская хирургия. 2014. № 6. С. 32–34.
- Карякина Е. В., Белова С. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2004. № 3. С. 3–8.
- Карякина Е. В., Белова С. В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом // Научно-практическая ревматология. 2001. № 1. С. 5–10.
- Николайчик В. В., Моин В. М., Кирковский В. В., Мазур Л. И., Лобачева Г. А. Способ определения «средних молекул» // Лабораторное дело. 1991. № 10. С. 13–18.
- Обухова Л. М., Ведунова М. В., Конторщикова К. Н., Добротина Н. А. Морфофизиологический анализ плазмы крови при эндогенной интоксикации // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2007. № 6. С. 104–107.

Оксенюк О. С., Калмыкова Ю. А., Смирнова О. Б., Пасечник Д. Г. Роль окислительного стресса в развитии хронической болезни почек и способы его оценки // Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2016. № 1. С. 15–24.

Сигитова О. Н. Хроническая болезнь почек и хроническая почечная недостаточность: современные подходы к терминологии, классификации и диагностике // Вестник современной клинической медицины. 2008. № 1. С. 83–87.

Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. 1977. С. 66–68.

Топчий К. И., Кириенко А. Н., Щенявская Е. Н., Лесовая А. В., Несен А. А., Гридасова Л. Н. Процессы перекисного окисления липидов у больных хронической болезнью почек в динамике лечения ингибиторами АПФ и блокаторами АРА // Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация. 2012. № 10. С. 24–28.

Урология. Национальное руководство / Под ред. Н. А. Лопаткина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 370.

Шмойлов Д. К., Каримов И. З., Одинец Т. Н. Патогенетическая роль эндогенной интоксикации // Лабораторная диагностика. 2012. № 2. С. 65–69.

Юрьева Э. А., Сухоруков В. С., Воздвиженская Е. С., Новикова Н. Н., Длин В. В. Эндогенная интоксикация в патогенезе нефропатий // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. № 60. С. 22–25.

Alberti C. Congenital ureteropelvic junction obstruction: physiopathology, decoupling of tout court pelvic dilatation-obstruction semantic connection, biomar-

kers to predict renal damage evolution // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2012. No. 16(2). P. 213–219.

Bone R. S. Sepsis, sepsis syndrome, and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) Gulliver in Laputa // JAMA. 1995. No. 73. P. 155–156. doi: 10.1001/jama.1995.03520260077036

Chmielewski M., Cohen G., Wiecek A., JesúsCar-rero J. The peptidic middle molecules: is molecular weight doing the trick? // SeminNephrol. 2014. No. 34. P. 118–34. doi: 10.1016/j.semnephrol.2014.02.005

Giamarellos-Bourboulis E. J., Adamis T., Laoutaris G., Sabracos L., Koussoulas V., Mouktaroudi M., Perrea D., Karayannacos P. E., Giamarelou H. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* // Antimicrob. Agents Chemother. 2004. No. 48. P. 93–99. doi: 10.1128/AAC.48.1.93-99.2004

Kondratyuk M. O., Sorokopud O. O., Stril'chuk L. M., Zhakun I. B., Slaba O. R., Besh O. M., Radchenko O. M., Leshchuk Y. L. Chronic heart failure course prognosis depending on body weight and endogenous intoxication syndrome // Wiad Lek. 2019. No. 72(4). P. 527–531.

Nlandu Y., Padden M., Seidowsky A., Hamaz S., Vilaine É., Cheddani L., Essig M., Massy Z. A. Middle-molecule uremic toxins: A renewed interest // Nephrol. Ther. 2019. No. 15(2). P. 82–90. doi: 10.1016/j.nephro.2018.09.003

Pianta T. J., Succar L., Davidson T., Buckley N. A., Endre Z. H. Monitoring treatment of acute kidney injury with damage biomarkers // Toxicol. Lett. 2017. No. 268. P. 63–70. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.01.001

Поступила в редакцию 16.07.2019

References

Akimenko M. A., Todorov S. S., Kolmakova T. S. Dinamika morfoloģicheskikh adaptatsionno-kompensatornykh izmenenii v tkani pochki pri obstruktsii mochetochnikov v eksperimente [Dynamics of morphological adaptation-compensatory changes in the tissues of the kidney during ureter obstruction in the experiment]. *Nefrologiya* [Nephrology]. 2017. No. 5. P. 71–75.

Akimenko M. A., Todorov S. S., Kolmakova T. S. Dinamika morfoloģicheskikh adaptatsionno-kompensatornykh izmenenii v tkani kontrilateral'noi pochki pri obstruktsii mochetochnikov v eksperimente [Dynamics of morphological adaptation-compensatory changes in the contralateral kidney tissue during ureteral obstruction in the experiment]. *Nefrologiya* [Nephrology]. 2017. No. 5. P. 80–84.

Alekseev A. V., Gilmanov A. J., Gatiyatullina R. S., Rakipov I. G. Sovremennye biomarkery ostrogo povrezhdeniya pochek [Modern biomarkers of acute kidney injury]. *Prakticheskaya meditsina* [Practical Medicine]. 2014. No. 3. P. 22–27.

Antonov A. G., Godin M. K. Vozmozhnosti ispol'zovaniya markerov vospaleniya pri mochekamennoi bolezni, oslozhnennoi pielonefritom [Renal tissue damage markers in urolithiasis complicated by pyelonephritis]. *Dal'nevostochnyi meditsinskii zhurn.* [Far East Medical J.]. 2017. No. 2. P. 93–98.

Gabrielyan N. I., Dmitriev A. A., Kulakov G. P., Mekikyan A. M., Shcherbaneva O. I. Diagnosticheskaya tsennost' opredeleniya srednikh molekul v plazme krovi pri nefrologicheskikh zabolevaniyakh [Diagnostic value of middle molecules determination in blood plasma in renal diseases]. *Klinicheskaya meditsina* [Clinical Medicine]. 1981. No. 9. P. 38–42.

Gabrielyan N. I., Lipatova V. I. Opyt ispol'zovaniya pokazatelya srednikh molekul v krovi dlya diagnostiki nefrologicheskikh zabolevanii u detei [Experience of using the index of middle molecules in the blood for the diagnosis of nephrological diseases in children]. *Lab. delo* [Lab. Science]. 1984. No. 3. P. 138–140.

Ikromov T. Sh., Ibodov Kh. I., Ibodov N. S. Izuchenie endogennoi intoksikatsii i ee korrektsiya u detei s mochekamennoi boleznyu [Study of endogenous intoxication and its correction in children with urolithiasis]. *Detskaya khirurgiya* [Pediatric Surgery]. 2014. No. 6. P. 32–34.

Karyakina E. V., Belova S. V. Molekuly srednei massy kak integral'nyi pokazatel' metabolicheskikh narushenii (obzor literatury) [Medium mass molecules as an integral indicator of metabolic disorders (a literature review)]. *Klinich. lab. diagnostika* [Clinical Lab. Diagnostics]. 2004. No. 3. P. 3–8.

Karyakina E. V., Belova S. V. Osobennosti patogene-ticheskikh mekhanizmov endogennoi intoksikatsii u

bol'nykh revmatoidnym artritom [Features of pathogenetic mechanisms of endogenous intoxication in patients with rheumatoid arthritis]. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya* [Scientific and Practical Rheumatology]. 2001. No. 1. P. 5–10.

Nikolaichik V. V., Moin V. M., Kirkovskii V. V., Mazur L. I., Lobacheva G. A. Sposob opredeleniya "srednikh molekul" [A method for determining the "middle molecules"]. *Lab. delo* [Lab. Science]. 1991. No. 10. P. 13–18.

Obukhova L. M., Vedunova M. V., Kontorshchikova K. N., Dobrotina N. A. Morfofiziologicheskii analiz plazmy krovi pri endogennoi intoksikatsii [Morphophysiological plasma analysis with endogenous intoxication]. *Vestnik Nizhegorodskogo univ. im. N. I. Lobachevskogo* [Bull. Lobachevsky State Univ. Nizhny Novgorod]. 2007. No. 6. P. 104–107.

Oksenyuk O. S., Kalmykova Y. A., Smirnova O. B., Pasechnik D. G. Rol' okislitel'nogo stressa v razviti khronicheskoi bolezni pochek i sposoby ego otsenki [The role of oxidative stress in the development of chronic kidney disease and methods of its evaluation]. *Zhurn. fund. meditsiny i biol.* [J. Fund. Medicine and Biol.]. 2016. No. 1. P. 15–24.

Shmoilov D. K., Karimov I. Z., Odinets T. N. Patogeneticheskaya rol' endogennoi intoksikatsii [Pathogenetic role of endogenous intoxication]. *Lab. diagnostika* [Lab. Diagnostics]. 2012. No. 2. P. 65–69.

Sigitova O. N. Khronicheskaya bolezni' pochek i khronicheskaya pochechnaya nedostatochnost': sovremennye podkhody k terminologii, klassifikatsii i diagnostike [Chronic kidney disease and chronic kidney failure: modern approaches to terminology, classification, and diagnosis]. *Vestnik sovr. klinich. meditsiny* [Bull. Modern Clinical Medicine]. 2008. No. 1. P. 83–87.

Stal'naya I. D., Garishvili T. G. Metod opredeleniya malonovogo dial'degida s pomoshch'yu tiobarbiturovoi kisloty [Method for determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid]. *Sovr. metody v biokhimi* [Modern Methods in Biochem.]. 1977. P. 66–68.

Topchii K. I., Kirienko A. N., Shchenyavskaya E. N., Lesovaya A. V., Nessen, A. A., Gridasova L. N. Protsessy perepishnogo okisleniya lipidov u bol'nykh khronicheskoi bolezni'yu pochek v dinamike lecheniya ingibitorami APF i blokatorami ARA [Processes of lipid peroxidation in patients with chronic kidney disease in the dynamics of treatment with ACE inhibitors and ARA blockers. Scientific reports]. *Nauchnye vedomosti. Ser. Meditsina.*

Farmatsiya [Scientific Bull. Medicine. Pharmacy]. 2012. No. 10. P. 24–28.

Urologiya. Natsional'noe rukovodstvo [Urology: State guidelines]. Ed. N. A. Lopatkin. Moscow, 2009. P. 370.

Yurieva E. A., Sukhorukov V. S., Vozdvizhenskaya E. S., Novikova N. N., Dlin V. V. Endogennaya intoksikatsiya v patogeneze nefropatii [Endogenous intoxication in the pathogenesis of nephropathy]. *Klinich. lab. diagnostika* [Clinical Lab. Diagnostics]. 2015. No. 60. P. 22–25.

Alberti C. Congenital ureteropelvic junction obstruction: physiopathology, decoupling of tout court pelvic dilatation-obstruction semantic connection, biomarkers to predict renal damage evolution. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2012. No. 16(2). P. 213–219.

Bone R. S. Sepsis, sepsis syndrome, and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) Gulliver in Laputa. *JAMA.* 1995. No. 73. P. 155–156. doi: 10.1001/jama.1995.03520260077036

Chmielewski M., Cohen G., Wiecek A., JesúsCarero J. The peptidic middle molecules: is molecular weight doing the trick? *Semin. Nephrol.* 2014. No. 34. P. 118–34. doi: 10.1016/j.semnephrol.2014.02.005

Giamarellos-Bourboulis E. J., Adamis T., Laoutaris G., Sabracos L., Koussoulas V., Mouktaroudi M., Perrea D., Karayannacos P. E., Giamarellou H. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. No. 48. P. 93–99. doi: 10.1128/AAC.48.1.93-99.2004

Kondratyuk M. O., Sorokopud O. O., Stril'chuk L. M., Zhakun I. B., Slaba O. R., Besh O. M., Radchenko O. M., Leshchuk Y. L. Chronic heart failure course prognosis depending on body weight and endogenous intoxication syndrome. *Wiad Lek.* 2019. No. 72(4). P. 527–531.

Nlandu Y., Padden M., Seidowsky A., Hamaz S., Vilaine É., Cheddani L., Essig M., Massy Z. A. Middle-molecule uremic toxins: A renewed interest. *Nephrol. Ther.* 2019. No. 15(2). P. 82–90. doi: 10.1016/j.nephro.2018.09.003

Pianta T. J., Succar L., Davidson T., Buckley N. A., Endre Z. H. Monitoring treatment of acute kidney injury with damage biomarkers. *Toxicol. Lett.* 2017. No. 268. P. 63–70. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.01.001

Received July 16, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Акименко Марина Анатольевна

аспирант, ассистент кафедры медицинской биологии и генетики
Ростовский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения РФ
Нахичеванский пер., 29, Ростов-на-Дону, Россия, 344022
эл. почта: akimenkoma@yandex.ru
тел.: (863) 2504200

CONTRIBUTORS:

Akimenko, Marina

Rostov State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation
29 Nakhichevansky Pereulok, 344022 Rostov-on-Don, Russia
e-mail: akimenkoma@yandex.ru
tel.: (863) 2504200

Колмакова Татьяна Сергеевна

заведующая каф. медицинской биологии и генетики,
д. б. н., доцент
Ростовский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения РФ
Нахичеванский пер., 29, Ростов-на-Дону, Россия, 344022
эл. почта: tat_kolmakova@mail.ru
тел.: (863) 2504200

Оксенюк Оксана Станиславовна

руководитель центральной научно-исследовательской
лаборатории, к. м. н.
Ростовский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения РФ
Нахичеванский пер., 29, Ростов-на-Дону, Россия, 344022
эл. почта: oksenuk_o@bk.ru
тел.: (863) 2504200

Калмыкова Юлия Александровна

старший научный сотрудник центральной научно-
исследовательской лаборатории, к. б. н.
Ростовский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения РФ
Нахичеванский пер., 29, Ростов-на-Дону, Россия, 344022
эл. почта: okt@rostgmu.ru
тел.: (863) 2504200

Смирнова Ольга Борисовна

старший научный сотрудник центральной научно-
исследовательской лаборатории, к. б. н.
Ростовский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения РФ
Нахичеванский пер., 29, Ростов-на-Дону, Россия, 344022
эл. почта: okt@rostgmu.ru
тел.: (863) 2504200

Kolmakova, Tatyana

Rostov State Medical University of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
29 Nakhichevansky Pereulok, 344022 Rostov-on-Don, Russia
e-mail: tat_kolmakova@mail.ru
tel.: (863) 2504200

Oksenuk, Oksana

Rostov State Medical University of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
29 Nakhichevansky Pereulok, 344022 Rostov-on-Don, Russia
e-mail: oksenuk_o@bk.ru
tel.: (863) 2504200

Kalmykova, Yulia

Rostov State Medical University of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
29 Nakhichevansky Pereulok, 344022 Rostov-on-Don, Russia
e-mail: okt@rostgmu.ru
tel.: (863) 2504200

Smirnova, Olga

Rostov State Medical University of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
29 Nakhichevansky Pereulok, 344022 Rostov-on-Don, Russia
e-mail: okt@rostgmu.ru
tel.: (863) 2504200

УДК 612.11

ДИНАМИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ХОЛОДОВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Л. Л. Шагров, Н. А. Шутский, С. Л. Кашутин, С. И. Малявская

Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

Любой патологический процесс может отразиться на количественных и качественных особенностях состава циркулирующей крови. Этим и определяется огромное значение необходимости изучения крови в условиях локальной холодовой травмы и выявления закономерностей изменений различных показателей. Кровь в первую очередь подвергается действию токсических веществ, возникших в очаге поражения. В статье представлены результаты экспериментального исследования, целью которого было изучение изменений клеточного состава крови крыс в зависимости от времени их экспозиции в условиях локального холодового воздействия. Исследование гематологических показателей периферической крови заключалось в определении содержания нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов, лимфоцитов. Полученные данные расширяют и углубляют представления о характере интоксикации организма в условиях стрессового воздействия различных факторов, а также свидетельствуют, что локальное холодовое воздействие влияет на активность клеток, обеспечивающих реакции неспецифического и специфического иммунного ответа, в частности, со стороны нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов.

Ключевые слова: гематологические показатели; холодовое повреждение; восстановление.

**L. L. Shagrov, N. A. Shutskiy, S. L. Kashutin, S. I. Malyavskaya.
CHANGES IN HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS AFTER LOCAL
COLD DAMAGE**

Any pathological process can affect the quantitative and qualitative composition of circulating blood. Hence the immense importance of studying blood under local cold injury and identifying the patterns of change of various indices. Blood is first and foremost affected by the toxic substances appearing in the lesion. This article presents the results of an experimental study designed to investigate changes in the cell composition of rat blood depending on the duration of exposure to local cold impact. The study of peripheral blood hematological parameters included the determination of the content of neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes, and lymphocytes. The data obtained expand and deepen our understanding of the nature of intoxication under various stresses, and also indicate that local cold exposure affects the activity of the cells engaged in non-specific and specific immune response, in particular neutrophils, monocytes, and lymphocytes.

Keywords: hematological parameters; cold damage; recovery.

Введение

Изучение механизмов адаптации организма человека к жизни в северных широтах, где он подвергается воздействию низких природных температур, диктуется необходимостью освоения Крайнего Севера [Саввинов, 2005; Николаев, 2007]. Известно, что в ответ на воздействие абсолютно дискомфортных факторов окружающей среды происходят изменения в функционировании основных жизнеобеспечивающих систем: иммунной, нервной, эндокринной [Казначеев, 1980; Петров, 1982; Хаитов, 1995; Агаджанян, 2005]. При длительном и/или чрезвычайно сильном воздействии неблагоприятных факторов происходят сдвиги в иммунной системе, проявляющиеся изменениями пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, а также аутосенсбилизации, что в конечном итоге приводит к истощению резервов и нарушению компенсаторных возможностей [Добродеева, 2004; Саввинов, 2005].

В связи с этим представляет интерес изучение реактивных сдвигов в гемограммах в условиях воздействия локального холодового повреждения. Ранее проведенные исследования касались в основном изучения содержания нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов без учета дифференцировки данных клеток на субпопуляции [Marks, 1969; Gadarowski, 1984; Konnov, 2016].

Изучение сегментограммы, моноцитограммы и лимфоцитограммы позволяет оценить уровень сегментации ядра нейтрофилов, активность пролиферации и дифференцировки моноцитов, а также лимфопролиферацию лимфоцитов. Естественно полагать, что количественный анализ форменных элементов крови с учетом их субпопуляций за более длительный период изучения после отморожения создаст целостную картину, позволяющую определить реализацию резервных и компенсаторных возможностей.

Материалы и методы

Эксперимент проводили в соответствии с Правилами лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также с учетом требований Международной Хельсинкской конвенции о гуманном отношении к животным (1972).

Холодовую травму воспроизводили на беспородных самцах и самках крыс 2-месячного возраста, массой 180–200 г, содержащихся в одинаковых условиях, на стандартном пище-

вом режиме. После наступления наркотического сна моделировали контактное отморожение с помощью металлической гирьки диаметром 2,5 см, которую предварительно охлаждали в жидком азоте, а потом прикладывали к депилированной коже спины крысы на 3 мин по методу, описанному в работе [Бойко, 2010]. В результате такого воздействия у экспериментальных животных развивалось локальное отморожение 3-й степени.

Вывод из эксперимента проводили путем передозировки средства для наркоза на 3, 7, 14 и 21-е сутки. Для получения статистически достоверных результатов группы формировали из 20 животных. В качестве контрольной группы использованы беспородные крысы той же массы тела, содержащиеся в тех же условиях, что и опытная группа. Крыс декапитировали с соблюдением требований гуманности согласно Приложению № 4 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления) животного» к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977). Пробы крови были получены во время декапитации животных.

Количество лейкоцитов определяли в камере Горяева по стандартному методу. На мазке крови, зафиксированном смесью Никифорова и окрашенном по Романовскому – Гимзе, определяли содержание нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов, лимфоцитов. Цитоскопическое исследование нейтрофильных лейкоцитов проводили путем подсчета среднего количества фрагментов ядра у 100 клеток [Тодоров, 1968]. При изучении моноцитограммы учитывали промоноциты, собственно моноциты и полиморфноядерные моноциты [Фрейдлин, Тотолян, 2001]. При изучении лимфоцитограммы дифференцировали лимфоциты по величине клетки с учетом размеров цитоплазмы: малые лимфоциты – до 8 мкм, средние – от 8 до 12 мкм, большие – больше 12 мкм [Шерстенникова и др., 2017].

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью SPSS 13.0 for Windows. Распределение параметров было ненормальным, в связи с чем описание выборок проводили с помощью подсчета медианы (Md) и межквартильного интервала Q25–Q75. Вероятность различий оценивали по непараметрическому критерию Колмогорова – Смирнова.

Результаты и обсуждение

В результате эксперимента установлено, что показатели клеточного состава крови

у контрольной группы животных, содержащихся при оптимальных температурных условиях, не сопровождались отклонениями от нормы, в то время как при оценке состояния экспериментальных групп крыс выявлены изменения показателей количества форменных элементов.

Результаты исследования свидетельствуют, что холодовое воздействие влияет на активность клеток, обеспечивающих реакции неспецифического и специфического иммунного ответа. Так, отмечено незначительное снижение общего количества лейкоцитов крови на 3-и сутки (1,12 %), а на 21-е сутки оно соответствует показателю у контрольной группы.

При этом количество лимфоцитов снижается на 6 % на 3–7-е сутки, максимально возрастая на 21-е сутки на 10,5 %. Изменения со стороны гранулоцитов (эозинофилов, нейтрофилов и базофилов) наблюдались только у нейтрофилов – на 3-и и 7-е сутки отмечено повышение на 16,5 %, на 21-е сутки их количество соответствует показателю у контрольной группы (рис.). При этом количество моноцитов на 3-и и 7-е сутки снижается (на 16 %), несмотря на то что на 14-е сутки отмечается незначительное повышение (на 2 %) и резкое снижение на 21-е сутки (на 8 %) по сравнению с контролем.

При изучении сегментограммы произошли следующие изменения (рис., Б). В группе контроля преобладали нейтрофилы, содержащие 5 и более сегментов в ядре, – 96,0 %. На 3-и сутки после локального холодового повреждения регистрировали статистически значимое снижение концентрации нейтрофилов с 5 сегментами в ядре на 48,5 % и увеличение 3- и 4-сегментных форм на 14,5 и 24 % соответственно. Статистически значимых различий между формами с 1, 2, 3 и 4 сегментами в ядре на 7–14-е сутки не выявлено, тогда как концентрация 5-сегментных форм увеличилась на 7-е сутки на 24,5 % и незначительно снизилась на 14-е сутки (4 %). Содержание нейтрофилов с 1 и 2 сегментами в ядре на 21-е сутки соответствовало значению у группы контроля, нейтрофилы с 3 и 4 сегментами в ядре сохраняли высокие концентрации 2 и 7,5 %, уровень нейтрофилов с 5 сегментами в ядре продолжал восстанавливаться до близкого к контролю значения.

При изучении структуры моноцитограммы наблюдали следующие изменения: на 3-и сутки незначительно снижается количество промоноцитов и собственно моноцитов на 2 %, при этом увеличивается содержание полиморфноядерных моноцитов на 3 %. С 7-х по 21-е сутки каких-либо существенных колебаний в структу-

ре моноцитограммы со стороны промоноцитов и полиморфноядерных моноцитов не зарегистрировано. Количество собственно моноцитов с 3-х по 21-е сутки статистически значимо увеличивается на 4 %.

Структура лимфоцитограммы показала отсутствие каких-либо изменений со стороны уровня среднеплазменных лимфоцитов после локального холодового повреждения. Изменения касались малых и больших лимфоцитов.

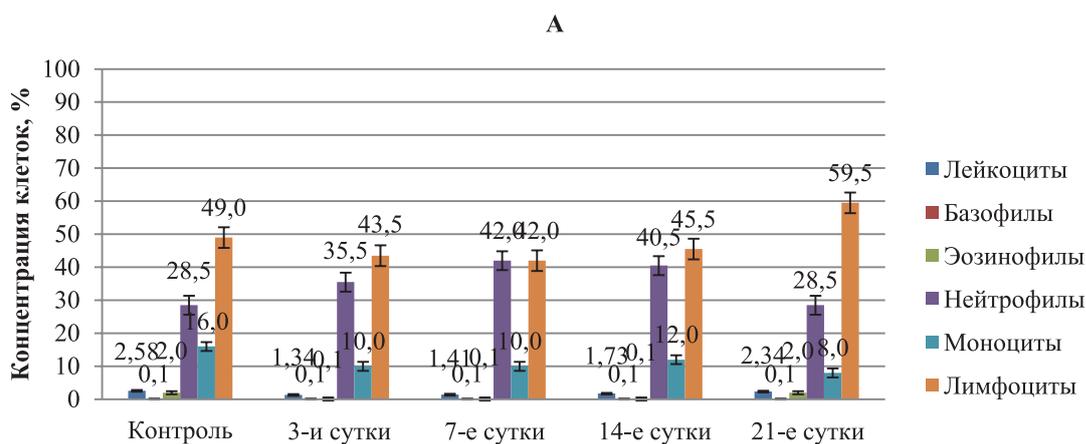
Так, на 3-и сутки регистрировали увеличение содержания малых лимфоцитов на 18 % на фоне снижения уровня больших форм на 14 %. На 7–14-е сутки проявилась обратная динамика: уровень малых лимфоцитов снизился, а больших форм – увеличился, что не отразилось на общем содержании лимфоцитов. На 21-е сутки увеличение общего содержания лимфоцитов было связано с существенным увеличением малых лимфоцитов на 8 %, несмотря на снижение больших форм на 4,5 % по сравнению с группой контроля.

Накопленный в настоящее время фактический материал показывает, что ранее проведенные исследования касались в основном изучения содержания нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов без учета дифференцировки данных клеток на субпопуляции [Marks, 1969; Gadarowski, 1984; Konnov, 2016].

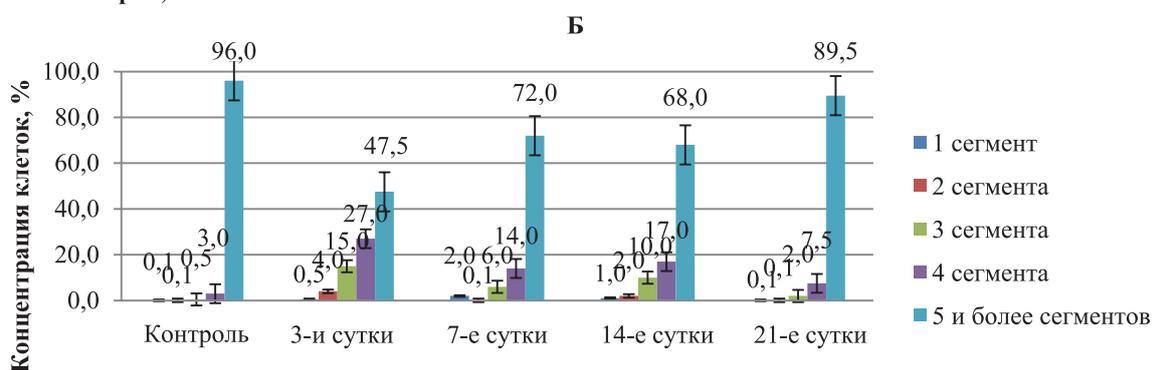
Количественный анализ форменных элементов крови с учетом их субпопуляций за более длительный период изучения после отморозения показал: снижение общего количества лейкоцитов на 3-и сутки указывает на то, что холодовое воздействие действительно является стрессовым фактором для теплокровных животных. Это коррелирует с исследованиями Е. Г. Костоломовой, где показано, что популяции изолированных ИКК по-разному реагируют на длительность холодовой экспозиции [Костоломова, 2011]. Кратковременное охлаждение является фактором, активирующим функциональную активность моноцитов и нейтрофилов, а длительное – угнетающим. В исследованиях В. М. Николаева также отмечалось, что при адаптации крыс к гипотермии изменяются показатели неспецифического клеточного иммунитета, связанные с фагоцитарной активностью лейкоцитов [Николаев, 2007].

Будем полагать, что экспозиция крыс в нашем эксперименте в течение 3–21 суток, имеющая в результате подавление активности лейкоцитов, являлась достаточно длительной.

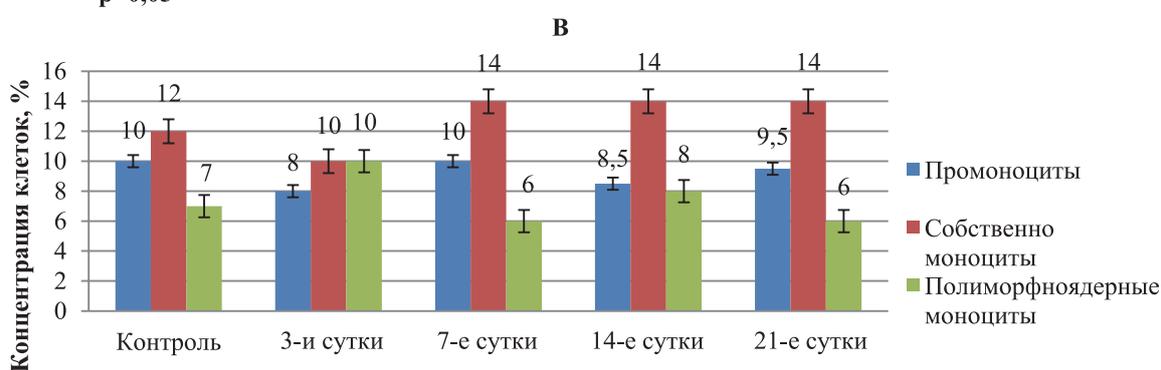
Анализ сегментограммы (рис., Б) показал, что в физиологических условиях основными нейтрофилами крови крыс являются 5-сегментные формы.



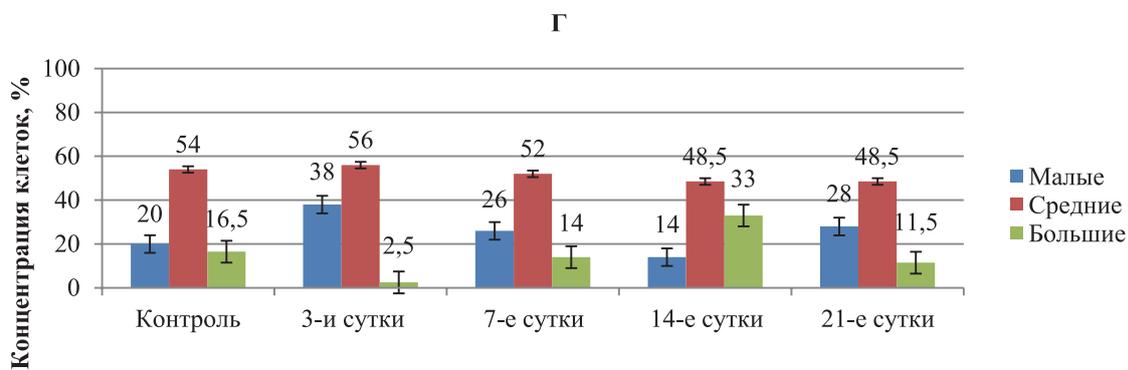
*p<0,05



*p<0,05



*p<0,05



*p<0,05

Динамика гематологических показателей и показателей (кл./л) лейкограммы (А), сегментограммы (Б), моноцитограммы (В) и лимфоцитограммы (Г) крови крыс после локального холодового повреждения
 Dynamics of the hematological parameters and of indicators (cells/l) of leukogram (A), segmentogram (Б), monocyto-gram (B) and lymphocytogram (Г) of rat blood after local cold injury

По мнению П. Д. Горизонтова, сегментоядерные нейтрофилы являются одним из факторов неспецифической резистентности, так как обеспечивают фагоцитоз в тканях и на поверхностях слизистых, синтезируют комплемент, лизоцим, миелопероксидазу и катионные белки. Как видно из фрагмента Б рисунка, происходило статистически значимое увеличение 1-, 2-, 3- и 4-сегментных форм на фоне снижения 5-сегментоядерных нейтрофилов на 3-и сутки после холодового повреждения, тем самым можно предполагать об усиленной миграционной активности 5-сегментных форм и дополнительном рекрутировании менее сегментированных форм нейтрофилов из красного костного мозга [Горизонтов, 1983].

При изучении активности и пролиферации моноцитов (рис., В) отмечено увеличение концентрации собственно моноцитов на фоне снижения уровня промоноцитов, что позволяет предположить об усиленном формировании именно той популяции моноцитов, которая способна выполнять специализированные функции. В свою очередь, снижение содержания полиморфноядерных форм моноцитов может свидетельствовать об усиленной их миграции в зону повреждения.

Вместе с тем следует отметить, что сдвиги представленных гематологических изменений со стороны нейтрофилов и моноцитов будут различными при разных вариантах моделирования – в зависимости от силы стрессора и длительности его действия, а также от функционального состояния экспериментального животного. Что в конечном итоге может проявляться в виде формирования других соотношений различных видов клеток в периферической крови. Так, при умеренном по силе раздражителе гематологическая картина проявляется в виде увеличения количества нейтрофилов, моноцитов. При чрезмерно сильном стрессовом воздействии развивается абсолютная лимфопения, абсолютная моноцитопения, абсолютный нейтрофилез [Шилова, 2011].

Анализ лимфоцитограммы (рис., Г) показал статистически значимые колебания концентраций малых и больших лимфоцитов после локального холодового повреждения, при этом отсутствовали какие-либо реакции со стороны среднеплазменных лимфоцитов. Данные изменения указывают на основную роль малых и больших лимфоцитов в восстановительном периоде.

Как отмечает А. А. Савченко, увеличение содержания больших лимфоцитов является результатом бласттрансформации, а малые лимфоциты составляют основную часть недифференцированных лимфоцитов, способных экс-

прессировать рецепторы CD34, что и характеризует их как стволовые клетки [Савченко, 1996].

С 3-х по 14-е сутки изменения соотношения между малыми и большими лимфоцитами не связаны с увеличением общего числа лимфоцитов. Увеличение на 21-е сутки общего содержания лимфоцитов происходило за счет возрастания их малых форм, что позволяет предполагать о наиболее активном рекрутировании малых лимфоцитов, как стволовых клеток крови, необходимых для восстановления поврежденных тканей.

Заключение

Анализируя вышеизложенное, можно утверждать, что холодовое воздействие является стрессом, выражающимся в реакции со стороны всего клеточного состава крови. В результате действия холодового фактора стимулируется специфический иммунный ответ, на что указывает увеличение в крови количества лимфоцитов, а реакции неспецифического ответа, опосредованные другими видами лейкоцитов, подавляются.

Литература

- Агаджанян Н. А. Стресс и теория адаптации. Оренбург: ОГУ, 2005. С. 60–94.
- Бойко В. В. Изучение морфологических особенностей в тканях экспериментальных животных при моделировании холодовой травмы // Вестник морфологии. 2010. № 16(3). С. 526–528.
- Горизонтов П. Д., Белоусова О. И., Федотова М. И. Стресс и система крови. М.: Медицина, 1983. 240 с.
- Добродеева Л. К., Жилина Л. П. Иммунологическая реактивность, состояние здоровья населения Архангельской области. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 230 с.
- Казначеев В. П. Современные аспекты адаптации. Новосибирск: Наука, 1980. 190 с.
- Костоломова Е. Г. Сопряженность иммунофизиологических реакций макроорганизма и изолированных иммунокомпетентных клеток при различных режимах криовоздействия: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2011. 171 с.
- Николаев В. М. Изменения прооксидантно-антиоксидантного равновесия в ответных эколого-биохимических реакциях организма животных и человека на действие холода: дис. ... канд. биол. наук. Якутск, 2007. 112 с.
- Петров Р. В. Иммунология. М.: Медицина, 1982. 636 с.
- Саввинов Д. Д. Среда обитания и здоровье человека на Севере. Новосибирск: Наука, 2005. 100 с.
- Савченко А. А. Метаболические особенности лимфоцитов крови у людей с нарушениями иммунореактивности, проживающих в разных климато-ге-

ографических условиях: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Томск, 1996. 30 с.

Сапин М. Р., Никитюк Д. Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М.: Джангар, 2000. 184 с.

Тодоров Й. Т. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София: 6-е рус. изд-во, 1968. 784 с.

Фрейдлин И. С., Тотолян А. А. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 2001. 390 с.

Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Истамов Х. И. Экологическая иммунология. М.: ВНИРО, 1995. 219 с.

Шерстенникова А. К., Кашутин С. Л., Николаев В. И., Хлопина И. А. Уровень экспрессии молекул адгезии на лимфоцитах в зависимости от размеров их цитоплазмы // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. № 3. С. 42–44.

Шилова Ю. А. Влияние пропранолола гидрохлорида при остром стрессе на фагоцитарную

активность лейкоцитов периферической крови // Успехи современного естествознания. 2011. № 8. С. 144–145.

Gadarowski J. J. Jr., Esce J. D. Acute systemic changes in blood cells, proteins, coagulation, fibrinolysis, and platelet aggregation after frostbite injury in the rabbit // *Cryobiology*. 1984. Vol. 21(3). P. 359–370.

Konnov V. A., Shapovalov K. G. Lymphocyte-platelet interactions in patients with deep frostbites with various nutritional statuses // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* 2016. Vol. 60(3). P. 52–56.

Marks R., Lim C. C., Borrie P. F. A pernicious syndrome with monocytosis and neutropenia: a possible association with a preleukaemic state // *Br. J. Dermatol.* 1969. May. Vol. 81(5). P. 327–332 p.

Поступила в редакцию 13.06.2019

References

Agadzhanyan N. A. Stress i teoriya adaptatsii [Stress and theory of adaptation]. Orenburg: OGU, 2005. P. 60–94.

Boiko V. V. Izuchenie morfologicheskikh osobennostei v tkanyakh eksperimental'nykh zhyvotnykh pri modelirovanii kholodovoi travmy [The study of morphological features in the tissues of experimental animals in the simulation of cold injury]. *Vestnik morfologii* [Herald Morphology]. 2010. No. 16(3). P. 526–528.

Dobrodeeva L. K., Zhilina L. P. Immunologicheskaya reaktivnost', sostoyanie zdorov'ya naseleniya Arkhangel'skoi oblasti [Immunological reactivity, state of health of the population of the Arkhangelsk Region]. *Ekaterinburg: Ural Br. of RAS*, 2004. 230 p.

Freidlin I. S., Totolyan A. A. Kletki immunnoi sistemy [Cells of the immune system]. St. Petersburg: Nauka, 2001. 390 p.

Horizontov P. D., Belousova O. I., Fedotova M. I. Stress i sistema krovi [Stress and blood system]. Moscow: Meditsina, 1983. 240 p.

Kaznacheev V. P. Sovremennyye aspekty adaptatsii [Contemporary aspects of adaptation]. Novosibirsk: Nauka, 1980. 190 p.

Khaitov R. M., Pinegin B. V., Istamov H. I. Ekologicheskaya immunologiya [Ecological immunology]. Moscow: VNIRO Publ., 1995. 219 p.

Kostolomova E. G. Sopryazhennost' immunofiziologicheskikh reaktsii makroorganizma i izolirovannykh immunokompetentnykh kletok pri razlichnykh rezhimakh kriovozdeistviya [Conjugation of immunophysiological reactions of a macroorganism and isolated immunocompetent cells under various modes of cryotherapy]: PhD (Cand. of Biol.) thesis. Moscow, 2011. 171 p.

Nikolaev V. M. Izmeneniya prooksidantno-antioxidantnogo ravnesiya v otvetnykh ekologo-biokhimi-cheskikh reaktsiyakh organizma zhyvotnykh i cheloveka na deistvie kholoda [Changes in the prooxidant-antioxidant balance in the response of the ecological and biochemical reactions of the organism of animals and humans to the action of cold]: PhD (Cand. of Biol.) thesis. Yakutsk, 2007. 112 p.

Petrov R. V. Immunologiya [Immunology]. Moscow: Meditsina, 1982. 636 p.

Sapin M. R., Nikityuk D. B. Immunnaya sistema, stress i immunodefitsit [Immune system, stress, and immunodeficiency]. Moscow: Dzhangar, 2000. 184 p.

Savchenko A. A. Metabolicheskie osobennosti limfotsitov krovi u lyudei s narusheniyami immunoreaktivnosti, prozhivayushchikh v raznykh klimato-geograficheskikh usloviyakh [Metabolic features of blood lymphocytes in people with immunoreactivity disorders, living in different climatic and geographical conditions]: Summary of DSc (Dr. of Med.) thesis. Tomsk, 1996. 30 p.

Savinov D. D. Sreda obitaniya i zdorov'e cheloveka na Severe [Habitat and human health in the North]. Novosibirsk: Nauka, 2005. 100 p.

Sherstennikova A. K., Kashutin S. L., Nikolaev V. I., Khlopin I. A. Uroven' ekspressii molekul adgezii na limfotsitakh v zavisimosti ot razmerov ikh tsitoplazmy [The level of expression of adhesion molecules on lymphocytes, depending on the size of their cytoplasm]. *Klinicheskaya lab. diagnostika* [Clinical Lab. Diagnosis]. 2017. No. 3. P. 42–44.

Shilova Yu. A. Vliyaniye propranolola gidrokhlorida pri ostrom stresse na fagotsitarnuyu aktivnost' leukotsitov perifericheskoi krovi [The effect of propranolol hydrochloride in acute stress on the phagocytic activity of peripheral blood leukocytes]. *Uspekhi sovr. estestvoznaniya* [Advances in Current Nat. Sci.]. 2011. No. 8. P. 144–145.

Todorov Y. T. Klinicheskie laboratornye issledovaniya v pediatrii [Clinical laboratory studies in pediatrics]. Sofia: 6th Russian ed., 1968. 784 p.

Gadarowski J. J. Jr., Esce J. D. Acute systemic changes in blood cells, proteins, coagulation, fibrinolysis, and platelet aggregation after frostbite injury in the rabbit. *Cryobiology*. 1984. Vol. 21(3). P. 359–370.

Konnov V. A., Shapovalov K. G. Lymphocyte-platelet interactions in patients with deep frostbites with various nutritional statuses. *Patol. Physiol. Exp. Ter.* 2016. Vol. 60(3). P. 52–56.

Marks R., Lim C. C., Borrie P. F. A pernicious syndrome with monocytosis and neutropenia: a possible association with a preleukaemic state. *Br. J. Dermatol.* 1969. May. Vol. 81(5). P. 327–332.

Received June 13, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шагров Леонид Леонидович

младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Северный государственный медицинский университет пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000
эл. адрес: leonidshagrov@mail.ru
тел.: +79506608685

Шутский Никита Алексеевич

лаборант-исследователь центральной научно-исследовательской лаборатории Северный государственный медицинский университет пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000
эл. адрес: nikitashutskijj@rambler.ru
тел.: +79009204623

Кашутин Сергей Леонидович

заведующий кафедрой кожных и венерических болезней, д. м. н.
Северный государственный медицинский университет пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000
эл. адрес: sergeycash@yandex.ru
тел.: +79062812390

Малявская Светлана Ивановна

проректор по научно-инновационной работе, д. м. н., проф.
Северный государственный медицинский университет пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000
эл. адрес: malyavskaya@yandex.ru
тел.: +79214809546

CONTRIBUTORS:

Shagrov, Leonid

Northern State Medical University
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia
e-mail: leonidshagrov@mail.ru
tel.: +79506608685

Shutskiy, Nikita

Northern State Medical University
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia
e-mail: nikitashutskijj@rambler.ru
tel.: +79009204623

Kashutin, Sergey

Northern State Medical University
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia
e-mail: sergeycash@yandex.ru
tel.: +79062812390

Malyavskaya, Svetlana

Northern State Medical University
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia
e-mail: malyavskaya@yandex.ru
tel.: +79214809546

УДК 612.115:591.11:546.26

ОЦЕНКА ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДИСПЕРСИИ ШУНГИТОВОГО НАНОУГЛЕРОДА

А. Г. Борисова

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

Графен и связанные с ним производные показали большой нанотехнологический потенциал, включая биомедицинские приложения, поэтому шунгитовый углерод, содержащий графеноподобные наноразмерные структуры, также вызывает интерес исследователей благодаря своим уникальным свойствам. Тщательное изучение свойств шунгитового нанокربона необходимо для понимания циркуляции наноматериала во внутренней среде организма и в окружающей среде. Шунгитовый углерод предлагается рассматривать как многоуровневую структуру, образованную графеноподобными фрагментами, близкими по свойствам к восстановленному оксиду графена. Проведено исследование влияния водной дисперсии наночастиц шунгитового углерода на клетки красной крови человека *in vitro*. Изучена осмотическая устойчивость эритроцитов человека в присутствии шунгитовых наночастиц при комнатной температуре, а также терморезистентность эритроцитов. Осморезистентность эритроцитов под действием частиц шунгитового коллоида в концентрации 4–15 мкг/мл незначительно снижалась, но оставалась в границах нормы. Шунгитовый углерод в концентрации 2,5–40 мкг/мл не индуцировал повреждение клеток крови человека в условиях термогемолиза. Сопоставление результатов по осмо- и терморезистентности эритроцитов позволяет заключить, что проявление гемолитической активности наночастиц водной дисперсии шунгитового углерода зависит от температуры среды и концентрации. Можно предположить, что в условиях опыта по термогемолизу адсорбция наночастиц шунгитового углерода на поверхности клеточной мембраны была недостаточной, чтобы вызвать существенные изменения цитоархитектоники клеток, либо состояние окисленности графеновых фрагментов таково, что не влекло за собой изменение проницаемости мембраны для ионов.

Ключевые слова: шунгит; наночастицы; гемолиз; термогемолиз; осморезистентность; мембрана клетки.

A. G. Borisova. AN ASSESSMENT OF THE RESISTANCE OF ERYTHROCYTES TO HEMOLYSIS UNDER THE EFFECT OF DISPERSED SHUNGITIC NANOCARBON

Graphene and the related derivatives have exhibited high potential for nanotechnology applications, including biomedicine, wherefore shungitic carbon, which contains graphene-like nanoscale structures, is also of interest for researchers due to its unique properties. The properties of shungitic nanocarbon need to be studied thoroughly to understand how this nanomaterial circulates inside the body and in its ambient environment. Shungitic carbon should arguably be regarded as a multi-tiered structure formed by graphene-like

fragments similar in properties to reduced graphene oxide. The effect of an aqueous dispersion of shungitic carbon nanoparticles on human red blood cells was studied *in vitro*. The osmotic resistance of human erythrocytes in the presence of shungite nanoparticles at room temperature, as well as the thermal resistance of erythrocytes were investigated. The osmotic resistance of red blood cells decreased slightly under the action of a 4.0–15 µg/ml colloidal solution of shungite particles, but remained within the normal range. The 2.5–40 µg/ml concentration of shungitic nanocarbon did not damage human blood cells during thermohemolysis. A comparison of the results on the osmotic and thermal resistance of red blood cells has led to the conclusion that the expression of the hemolytic activity of nanoparticles in an aqueous dispersion of shungitic carbon depends on the temperature of the medium and on concentration. In the given experiment on thermohemolysis, the adsorption of shungite carbon nanoparticles on cell membrane surface was probably insufficient to cause significant changes in the cell architectonic organization, or the oxidation state of graphene fragments was such that it did not entail a change in membrane permeability to ions.

Key words: shungite; nanoparticles; hemolysis; thermohemolysis; osmoresistance; cell membrane.

Введение

В последнее время все больший интерес исследователей вызывают биологические эффекты наночастиц углерода, а также механизмы их взаимодействия с биополимерами и биомембранами. Спектр биологической активности углеродных наноматериалов очень широк – от противоопухолевой, антивирусной и антимикробной до антиоксидантной, нейропротективной, фотодинамической и мембранотропной [Liu et al., 2013; Wang et al., 2016]. Широкое применение наноматериалов семейства графена, а к ним относится, по многим данным, и наноуглерод шунгита [Rozhkova et al., 2016], делают крайне вероятным их появление в окружающей среде в значительных количествах. Число биологических исследований графеновых наноматериалов очень быстро увеличивается в последние годы. В них показаны эффекты биологических взаимодействий между графеновыми материалами на различных уровнях организации живых систем, от биомолекул до целых организмов [Zhang et al., 2016; Ye et al., 2018]. Однако то, каким образом осуществляются эти эффекты, остается далеко не ясным. Очевидно, что для ответа на данный вопрос совершенно необходимы соответствующие исследования на уровне биологических молекул, а также клеточных мембран и целых клеток.

Уникальные свойства структуры шунгита могут использоваться для развития технологий в наномедицине, в т. ч. и для доставки лекарств. В основе шунгитового углерода выделяется ведущий структурный элемент – непланарные молекулы, близкие по свойствам к восстановленному оксиду графена. При весь-

ма широком использовании шунгитового материала в различных биологических приложениях (косметика, курортология, биодобавки, водяные фильтры) отсутствует понимание его взаимодействий с биомолекулами и клетками в физиологической среде. Данные об особенностях совместимости графена – как чистого, так и разной степени окисленности – с различными отделами внутренней среды организма носят фрагментарный и противоречивый характер [Liao et al., 2011; Zhang et al., 2011; Sasidharan et al., 2012]. К сожалению, недостаточно и информации, касающейся потенциальной опасности углеродных наноматериалов, а также их токсичности [Zhao et al., 2014].

Одним из базовых тестов для выявления взаимодействия наночастиц с эритроцитами является гемолиз (потеря целостности мембран эритроцитов, приводящая к утечке гемоглобина). Наночастицы могут повлиять на целостность мембраны эритроцитов в результате механического повреждения или действия активных форм кислорода (АФК). Кроме того, на гемолитические свойства наночастиц также могут влиять их размер, форма, поверхностный заряд и химический состав.

Так, в работе [Zhang et al., 2011] показано, что оксид графена индуцировал зависящий от дозы и от времени гемолиз эритроцитов мышей при 37 °С. При выдерживании суспензии эритроцитов с оксидом графена в концентрации 10–80 мкг/мл в течение 1 часа не было обнаружено разницы в степени гемолиза как между этими концентрациями, так и с контролем, но при удлинении времени экспозиции до 6 часов разница в степени гемолиза по сравнению с контролем была существенной – почти в 3 раза. В статье [Sasidharan et al., 2012] при-

ведены данные о том, что обработка эритроцитов человека чистым и окисленным графеном в течение 3 часов при комнатной температуре не приводила к гемолизу при концентрациях графена от 10 до 75 мкг/мл. Таким образом, и графен, и оксид графена проявляли в условиях опыта хорошую гемосовместимость.

В противоположность этому в работе [Liao et al., 2011] обнаружена высокая гемолитическая активность оксида графена в интервале концентраций 3–200 мкг/мл. При наименьшем размере окисленный графен показал наибольшую гемолитическую активность, тогда как агрегированные графеновые листы показали самую низкую гемолитическую активность, а покрытие оксида графена хитозаном ее практически исключило. Таким образом, эти результаты демонстрируют, что размер частиц, их морфология, состояние частиц и поверхностный заряд графена оказывают сильное влияние на биологические/токсикологические реакции по отношению к эритроцитам.

В экспериментах [Jaworski et al., 2017] с красными кровяными клетками куриных эмбрионов также обнаружена гемолитическая активность графена и его производных – инкубация с графеном, оксидом графена и восстановленным оксидом графена в концентрациях 50 мкг/мл и выше вызывала повреждение структуры эритроцитов и дозозависимый гемолиз. Результаты исследования показали, что различные формы графена, в зависимости от способа получения и модификации поверхности, имели различную гемосовместимость, гемолитическая активность росла в ряду оксид графена > восстановленный оксид графена > графен.

Таким образом, эти факторы должны быть тщательно изучены и рассмотрены перед применением шунгитовых дисперсий в медицинских и прочих целях, поскольку углерод шунгита, согласно структурной модели, строится из графеновых кластеров как промежуточных элементов. Важно контролировать физические и химические свойства получаемых водных коллоидов углеродных наночастиц, т. к. степень эксфолиации (отслаивания) частиц и их последующей агрегации зависит от времени обработки суспензии ультразвуком.

Ранее мы исследовали влияние наночастиц шунгитового углерода (ШУ) на эритроциты человека и ряда позвоночных *in vitro* различными методами. Было показано, что введение нанодисперсии ШУ в суспензию эритроцитов человека приводило к образованию агрегатов из дискоцитов [Горюнов и др., 2009]. Выявлено тромбогенное действие дисперсии ШУ на сис-

тему свертывания крови человека [Борисова, 2018].

Устойчивость эритроцитов к гемолизу определяется структурной организацией их мембраны и поэтому может быть использована для оценки функционального состояния клеток под влиянием химических соединений, потенциально способных вызывать изменение физических и химических свойств мембран и целых клеток.

Целью настоящей работы было выявление *in vitro* гемолитической активности наночастиц ШУ – их возможного воздействия на мембраны эритроцитов человека как в условиях осмотического стресса, так и при действии высоких температур.

Материалы и методы

Объектами исследования были эритроциты человека. Консервированную кровь здоровых доноров I(0) группы, отобранную в гемоконсервант «Глюгицир» (срок хранения 21 день), трижды отмывали в фосфатно-солевом буфере pH 7,4 для получения осадка эритроцитов, из которого готовили 1%-ю суспензию.

В экспериментах использованы стабильные водные дисперсии наночастиц ШУ, приготовленные из шунгитового горнорудного сырья Шуньга I согласно методике Н. Н. Рожковой [2011] и охарактеризованные с помощью спектрофотометрии UV-Vis, рамановского рассеяния и динамического рассеяния света с исходной концентрацией углерода 0,1 мг/мл. Шунгитовый углерод предлагается рассматривать как 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 углеродных наночастиц (НЧ) [Rozhkova et al., 2016].

На рис. 1 представлен спектр поглощения такой дисперсии.

Спектр имеет характерный вид с пиком поглощения при 256 нм, который обусловлен $\pi \rightarrow \pi^*$ переходами в сопряженных связях. Сравнение со спектрами оксида графена и восстановленного оксида графена [Gurunathan et al., 2012; Choi et al., 2016] позволяет считать, что спектр характеризует образец с меньшей степенью окисления графеновых элементов ШУ, т. е. восстановленный оксид графена.

Отличие в состоянии окисления обусловлено различным количеством гидроксильных, карбоксильных и эпоксидных групп по краям

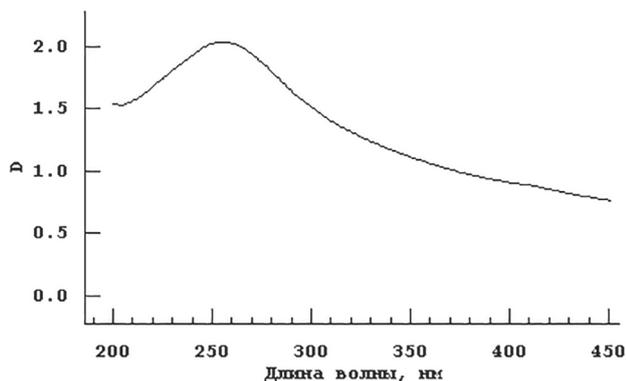


Рис. 1. Спектр поглощения дисперсии ШУ после центрифугирования при 10000 об/мин, обработанного ультразвуком в течение 5 минут, концентрация 0,1 мг/мл

Fig. 1. The absorption spectrum of the dispersion ShC after centrifugation at 10,000 rpm, treated with ultrasound for 5 minutes, the concentration of 0.1 mg/ml

и на плоскости графеновых элементов. Восстановленный оксид графена имеет кислородсодержащие группы только по краям. Более высокая степень окисления наночастиц графена означает и более высокую гидрофильность их поверхности.

Для исследования влияния наночастиц ШУ на состояние клеточной мембраны мы выдерживали эритроциты человека *in vitro* с дисперсиями шунгитового наноглерода с исходной концентрацией 0,1 мг/мл, варьируя условия и время воздействия.

Для оценки осморезистентности количественно определяли степень гемолиза эритроцитов в гипотонических растворах NaCl [Лабораторные..., 1987]. Готовили солевые растворы со снижающейся концентрацией – 0,85; 0,80; 0,75; 0,70; 0,65; 0,60; 0,55; 0,50; 0,45; 0,40; 0,35; 0,30; 0,25; 0,20; 0,15; 0,10 %. В пробирки добавляли взвесь эритроцитов и оставляли при комнатной температуре на 30 минут, затем на спектрофотометре СФ-56 определяли поглощение раствора при 540 нм (поглощение гемоглобина), которое было пропорционально количеству выделившегося гемоглобина. Строили кривые гемолиза, из которых определяли C_{50} – концентрацию NaCl, при которой лизировало 50 % клеток. Эта величина является характеристикой осморезистентности эритроцитов. Исследовано 9 образцов донорской крови, для каждого строились кривые гемолиза по 14–16 концентрациям NaCl, повторность в пределах каждого образца составляла 3. В таблице приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий определяли с помощью дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису.

Термогемолиз эритроцитов изучали модифицированным нами равновесным методом [Ямайкина, Черницкий, 1989]. Суспензию клеток, находящуюся в фосфатно-солевом буфере, инкубировали при 56 °С в течение времени t ; гемолиз оценивали спектрофотометрически по выходу гемоглобина в среду при 540 нм. По данным о степени гемолиза строили кинетические кривые, из которых вычисляли среднюю константу скорости реакции $k_{50} = 1/\tau_{50}$ (мин⁻¹), где τ_{50} – время лизиса 50 % клеток в суспензии.

Исследовано 16 образцов крови, эксперименты при каждой температуре выполнялись в 3-кратной повторности. Проведен дисперсионный анализ результатов по Краскелу – Уоллису.

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

Результаты и обсуждение

Влияние наночастиц углерода на осморезистентность мембраны эритроцита

Анализировали изменение осморезистентности эритроцитов под действием шунгитового коллоида (ШК), результаты для концентрации ШК 2,5 мкг/мл проиллюстрированы на рис. 2.

Снижение концентрации NaCl, при которой лизировало 50 % клеток (C_{50}), свидетельствует о повышении осмотической резистентности эритроцитов, т. е. устойчивости клеток к различным воздействиям. Ослабление осмотической резистентности эритроцитов происходит

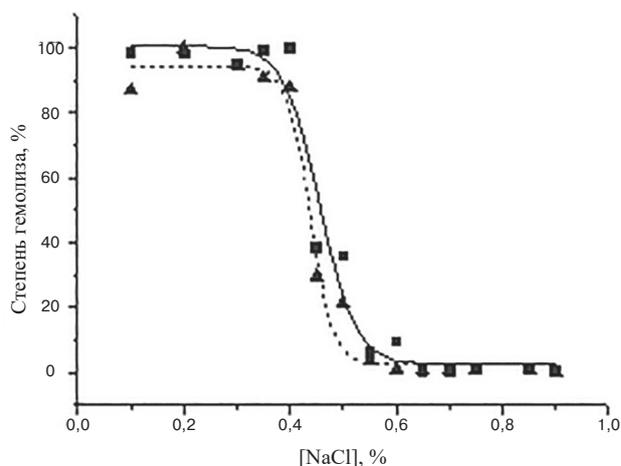


Рис. 2. Гемолиз эритроцитов человека в гипотонической среде, ■ – К, ▲ – 2,5 мкг/мл ШК ($t_{комн}$)

Fig. 2. Hemolysis of human erythrocytes in a hypotonic medium, ■ – K, ▲ – 2.5 µg/ml ShC (t_{room})

Величина осмотичности, соответствующая гемолизу 50 % клеток (C_{50}) после 30-минутной экспозиции при комнатной температуре

The magnitude of osmolality corresponding to hemolysis of 50 % of cells (C_{50}) after 30 minutes of exposure at room temperature

Концентрация НЧ, мкг/мл Concentration of NP, µg/ml	C_{50} , % NaCl, контроль control	C_{50} , % NaCl, опыт experiment
2,5	0,465 ± 0,022	0,422 ± 0,020
4	0,423 ± 0,020	0,452 ± 0,022
8	0,467 ± 0,025	0,474 ± 0,025
15	0,437 ± 0,020	0,460 ± 0,025

Примечание. Статистика по Краскелу – Уоллису $H = 11,076$, $p = 0,011$.

Note. Statistics according to the Kruskal – Wallis test $H = 11,076$, $p = 0.011$.

вследствие нарушения структурных и функциональных свойств их мембран.

Из анализа зависимостей, аналогичных представленным на рис. 2, получены данные по осморезистентности при различных концентрациях ШК (табл.).

Результаты дисперсионного анализа приведенных данных по Краскелу – Уоллису $H = 11,076$, $p = 0,011$ свидетельствуют о том, что выявлено достоверное влияние НЧ шунгитового углерода на осморезистентность эритроцитов. Таким образом, можно сделать вывод, что экспозиция красных клеток крови с наночастицами ШУ в концентрациях 4–15 мкг/мл приводила к уменьшению осмотической устойчивости эритроцитов, но абсолютные величины этого изменения были незначительны, т. е. не выходили за пределы нормы [Лабораторные..., 1987].

Снижение осмотической устойчивости эритроцитов может быть связано с некоторым снижением доли дискоцитов и ростом количества измененных форм эритроцитов, которые обладают наименьшей осмотической стойкостью. Ранее мы исследовали влияние нанодисперсий шунгитового углерода на морфологию и агрегацию эритроцитов человека [Горюнов и др., 2009]. Было установлено, что после инкубации с ШУ в концентрациях 3 мкг/мл в течение 30 мин при комнатной температуре изменений в соотношении форм клеток (дискоцитов, эхиноцитов, стоматоцитов) не наблюдалось, что согласуется с отсутствием гемолитической активности наночастиц при этих концентрациях.

Влияние наночастиц углерода на процесс термогемолиза эритроцитов

Общий вид кинетической кривой термогемолиза эритроцитов представлен на рис. 3.

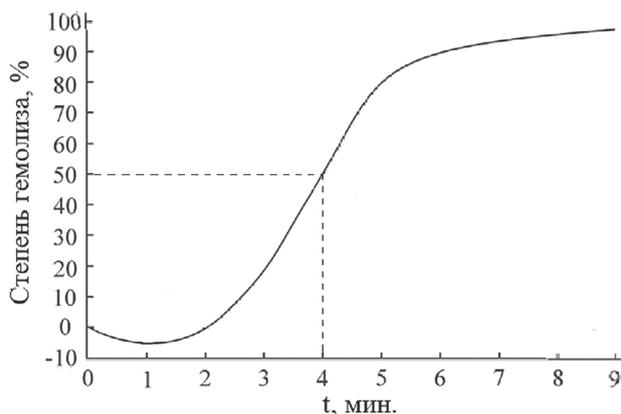


Рис. 3. Интегральная кривая термогемолиза эритроцитов. Пунктиром отмечено время 50% гемолиза (τ_{50})

Fig. 3. The integral curve of thermohemolysis of red blood cells. Dotted line shows the time of 50% hemolysis (τ_{50})

На S-образной кривой можно выделить начальную фазу (фазу сферуляции), прямолинейный участок, где скорость гемолиза максимальна, и конечную фазу гемолиза.

На рис. 4 показаны кинетические зависимости термогемолиза эритроцитов человека при 56 °С, на которых видно, что в присутствии 5 мкг/мл НЧ шунгитового углерода гемолиз проходит медленнее.

Аналогичные кривые были получены для различных концентраций шунгитового коллоида, из значений времени лизиса 50 % клеток τ_{50} рассчитывали константу скорости процесса гемолиза k_{50} ; результаты объединены на рис. 5. Поскольку в эксперименте использованы раз-

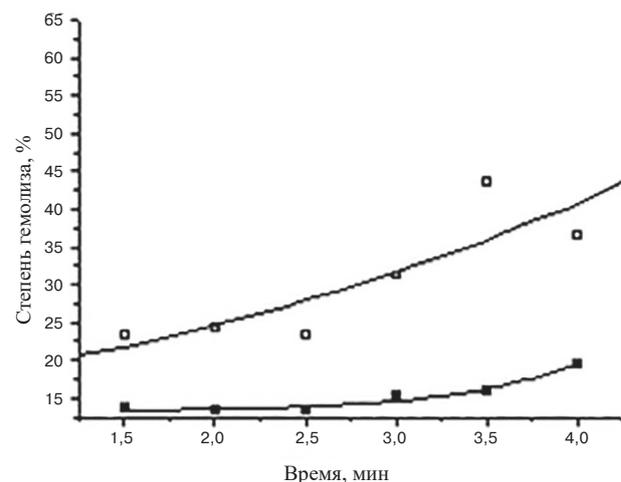


Рис. 4. Кинетические кривые гемолиза эритроцитов человека при 56 °С в присутствии наночастиц углерода: ■ – контроль, □ – 5 мкг/мл ШК

Fig. 4. Kinetic curves of human erythrocyte hemolysis at 56 °C in the presence of carbon nanoparticles: ■ – control, □ – 5 µg/ml ShC

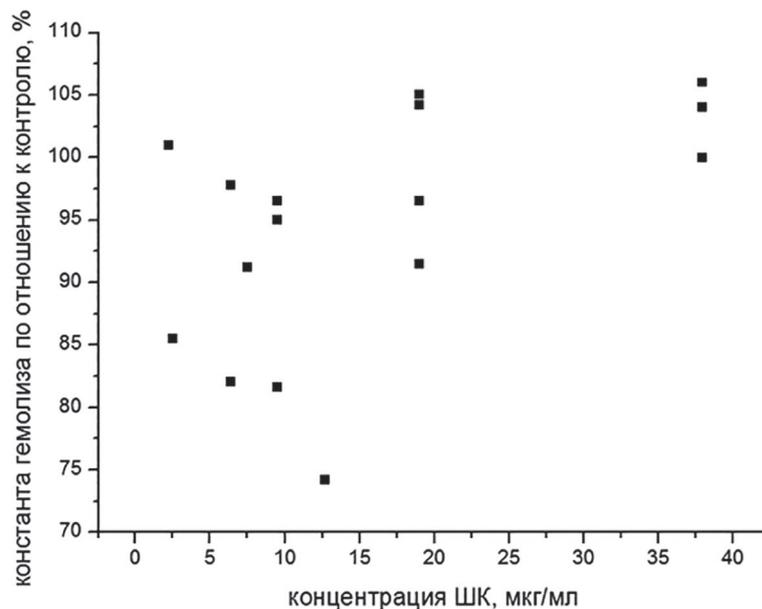


Рис. 5. Значения констант скорости термогемолиза эритроцитов человека при 56 °С, рассчитанных по отношению к контрольным значениям (без ШК), % (критерий Краскела – Уоллиса $H = 16,28$, $p = 0,297$)

Fig. 5. The values of the rate constants of thermohemolysis of human erythrocytes at 56 °C, calculated in relation to the control values (without ShC), % (test-statistic $H = 16.28$, P-Value = 0.297)

ные образцы крови, разброс данных достаточно велик, показатели интегральных средних значений по всем опытам не позволяют увидеть истинную картину, поэтому на рисунке по оси ординат представлены значения величины константы скорости гемолиза в процентах по отношению к контролю в каждом эксперименте.

На рис. 5 видно, что в исследованном интервале концентраций частиц ШУ – от 2,5 до 40 мкг/мл – наблюдается большой разброс в соотношении констант термогемолиза контрольных и опытных образцов, что не позволяет сделать однозначный вывод о влиянии НЧ шунгитового углерода на устойчивость клеток. Данные дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису $H = 16,28$ и $p = 0,297$ свидетельствуют о том, что статистически значимых различий между группами нет, т. е. влияния дисперсии наночастиц шунгитового углерода на резистентность эритроцитов к высокой температуре в исследованном интервале концентраций не обнаружено.

Это согласуется с данными статьи [Jaworski et al., 2017], где обнаружена гемолитическая активность графена и его производных лишь при концентрациях 50 мкг/мл и выше, а также с результатами экспериментов с чистым и окисленным графеном, в которых не наблюдался гемолиз эритроцитов после обработки их

наночастицами в концентрациях 10–75 мкг/мл в течение 3 часов при комнатной температуре [Sasidharan et al., 2012].

Изучаемая нами дисперсия шунгитового углерода является уникальной как по способу приготовления, так и по составу, поэтому целью исследования была гемосовместимость НЧ шунгитового углерода. Выше отмечалось, что данные о гемосовместимости графена и его производных носят противоречивый характер [Liao et al., 2011; Zhang et al., 2011; Sasidharan et al., 2012] и в значительной степени зависят от концентрации наночастиц. Поскольку водная дисперсия шунгитового углерода содержит частицы различных размеров, вплоть до долей микрона, необходимо продолжить исследования с большими концентрациями НЧ для оценки их влияния на систему крови.

В эксперименте также обнаружено, что ШК в концентрациях 0,1–20 мкг/мл не влиял на устойчивость красных клеток крови как на холоде (4–6 °С), так и при температуре тела (37 °С).

Важно отметить, что манипуляции, проводимые с дисперсией шунгитового наноуглерода, могут в различной степени влиять на ее состав, а именно на размер и количество частиц. С одной стороны, обработка ультразвуком приводит к отщеплению слоев графена, т. е. к уве-

личению числа частиц в дисперсии при одной и той же общей концентрации углерода. С другой стороны, центрифугирование дисперсии может вызывать слипание этих слоев, т. е. агрегацию в более крупные глобулы, которые отличаются по своим физико-химическим свойствам. Большой разброс значений констант гемолиза при одних и тех же концентрациях углерода в дисперсии дает основания утверждать, что важно контролировать физические и химические свойства дисперсии частиц наночастиц углерода, которые в большой степени зависят от способа ее приготовления, т. к. на степень отслаивания и размеры образующихся наночастиц влияют в том числе время обработки ультразвуком и мощность аппарата.

Ранее мы установили, что углеродные наночастицы способны значительно модифицировать состояние мембраны эритроцитов, что приводило к агрегации клеток в суспензии [Горюнов и др., 2009]. Проявление этого действия зависело от концентрации наночастиц и температуры, при которой инкубируются клетки. Экспозиция эритроцитов с шунгитовым наночастицами углерода в концентрации 50 мкг/мл при 47 °С приводила к заметному увеличению эхиноцитов, дискоцитов со множественными выростами и ребристых форм, что, как мы предполагаем, связано с образованием комплексов наночастиц углерода с белками мембраны эритроцитов. Похожие результаты описаны в работе [Jaworski et al., 2017], выполненной на эритроцитах куриных эмбрионов, – инкубация с графеном, оксидом графена и восстановленным оксидом графена в концентрациях 50 мкг/мл и выше приводила к структурному повреждению клеточных мембран и образованию стоматоцитов и эхиноцитов.

Адсорбция наночастиц углерода на поверхности липидного бислоя клеточной мембраны также может повлечь за собой как изменение проницаемости мембраны для ионов, так и изменение цитоархитектоники клетки; и то, и другое сильно влияет на жизнеспособность клетки и на ее резистентность.

Заключение

Проведенные исследования показали, что устойчивость эритроцитов человека к высокотемпературному гемолизу (56 °С) в присутствии ШУ в концентрациях 2,5–40 мкг/мл достоверно не менялась. Данные о действии ШУ на термогемолиз не коррелируют с результатами наших экспериментов по осморезистентности – наночастицы углерода в концентрациях от 4 до 15 мкг/мл влияли на прочность мембраны

в условиях гипотонического стресса (незначительно снижал).

Очевидно, даже очень низкие концентрации наночастиц ШУ в суспензии влияют на состояние мембраны эритроцита, хотя их эффекты различаются. Известно, что особенность наночастиц состоит в их сильно развитой поверхности, вследствие чего поверхностные свойства систем, состоящих из подобных структур, могут преобладать над остальными, поэтому мы предполагали, что исследованные нами шунгитовые коллоидные растворы при определенных концентрациях могут проявлять свойства поверхностно-активных веществ, т. е. усиливать гемолиз клеток. В выбранном нами диапазоне концентраций углеродных наночастиц такой эффект при высокой температуре не наблюдался, что, возможно, связано с агрегацией наночастиц в этих условиях и изменением их поверхностных свойств. Другим возможным механизмом индуцирования гемолиза может быть генерация АФК наночастицами в результате их взаимодействия с эритроцитами и, как следствие, повреждение мембраны в результате окислительного стресса. Такого рода активность шунгитового наночастицы углерода зависит от степени окисленности графеновых фрагментов и требует дальнейшего изучения.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0082).

Литература

Борисова А. Г. Тромбогенность углеродных наночастиц шунгита *in vitro* // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 6. С. 109–114. doi: 10.17076/eb728

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.

Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В. В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.

Рожкова Н. Н. Наночастицы углерода. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. 100 с.

Ямайкина И. В., Черницкий Е. А. Денатурация гемоглобина – первая стадия термогемолиза эритроцитов // Биофизика. 1989. Т. 34. С. 656–659.

Choi Y.-J., Kim E., J. Han J., Kim J. H., Gurunathan S. A Novel biomolecule-mediated reduction of graphene oxide: A Multifunctional anti-cancer agent // *Molecules*. 2016. Vol. 21. P. 375. doi: 10.3390/molecules21030375

Gurunathan S., Han J. W., Dayem A. A., Eppakayala V., Kim J. H. Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide

in *Pseudomonas aeruginosa* // Int. J. Nanomed. 2012. Vol. 7. P. 5901–5914. doi: 10.2147/IJN.S37397

Jaworski S., Hinzmann M., Sawosz E., Grodzik M., Kutwin M., Wierzbicki M., Strojny B., Vadalasetty K. P., Lipińska L., Chwalibog A. Interaction of different forms of graphene with chicken embryo red blood cells // Environ. Sci. Pollut. Res. 2017. Vol. 24. P. 21671–21679. doi: 10.1007/s11356-017-9788-5

Liao K.-H., Lin Y.-S., Macosko C. W., Haynes C. L. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2011. P. 3, no. 7. P. 2607–2615. doi: 10.1021/am200428v

Liu J., Cui L., Losic D. Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications // Acta Biomater. 2013. Vol. 9. P. 9243–9257.

Rozhkova N. N., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Natural grapheme-based shungite nanocarbon <http://elibrary.ru/item.asp?id=25397193> // Carbon nanomaterials sourcebook: graphene, fullerenes, nanotubes, and nanodiamonds / Ed. K. D. Slatter. Boca Raton; London; New York: CRC press inc. (Taylor and Francis group), 2016. Vol. 1. P. 153–178.

Sasidharan A., Panchakarla L. S., Sadanandan A. R., Ashokan A., Chandran P., Girish C. M., Menon D., Nair S. V., Rao C. N., Koyakutty M. Hemocompatibility and macrophage response of pristine and functionalized graphene // Small. 2012. Vol. 8. P. 1251–1263. doi: 10.1002/smll.201102393

zed graphene // Small. 2012. Vol. 8. P. 1251–1263. doi: 10.1002/smll.201102393

Ye N., Wang Z., Wang S., Peijnenburg W. J. G. M. Toxicity of mixtures of zinc oxide and graphene oxide nanoparticles to aquatic organisms of different trophic level: particles outperform dissolved ions // Nanotoxicology. 2018. Vol. 2, no. 5. P. 423–438. doi: 10.1080/17435390.2018.1458342

Wang Z., Zhu W., Qiu Y. Biological and environmental interactions of emerging two-dimensional nanomaterials // Chem. Soc. Rev. 2016. Vol. 45(6). P. 1750–1780.

Zhang B., Wei P., Zhou Z., Wei T. Interactions of graphene with mammalian cells: Molecular mechanisms and biomedical insights // Adv. Drug Deliver. Rev. 2016. Vol. 105, part B. P. 145–162. doi: 10.1016/j.addr.2016.08.009

Zhang X., Yin J., Peng C., Hu W., Zhu Z., Li W., Fan C., Huang Q. Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration // Carbon. 2011. Vol. 49. P. 986–995. doi: 10.1016/j.carbon.2010.11.005

Zhao J., Wang Z., White J. C. Graphene in the aquatic environment: adsorption, dispersion, toxicity and transformation // Environ. Sci. Technol. 2014. Vol. 48, no. 17. P. 9995–10009.

Поступила в редакцию 30.05.2019

References

Borisova A. G. Trombogenicnost' uglerodnykh nanochastits shungita *in vitro* [Thrombogenicity of carbon nanoparticles of shungite *in vitro*]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 6. P. 109–114. doi: 10.17076/eb728

Goryunov A. S., Borisova A. G., Rozhkov S. P., Sukhanova G. A., Rozhkova N. N. Morfologiya i agregatsiya 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 investigations in a clinic]. Ed. V. V. Men'shikova. Moscow: Meditsina, 1987. 368 p.

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

Yamaikina I. V., Chernitskii E. A. Denaturatsiya gemoglobina – pervaya stadiya termogemoliza eritrotsitov [Hemoglobin denaturation – the first stage of erythrocyte thermohemolysis]. *Biophysika* [Biophysics]. 1989. Vol. 34. P. 656–659.

Choi Y.-J., Kim E., J. Han J., Kim J. H., Gurunathan S. A Novel biomolecule-mediated reduction of graphene oxide: A Multifunctional anti-cancer agent. *Molecules*. 2016. Vol. 21. P. 375. doi: 10.3390/molecules21030375

Gurunathan S., Han J. W., Dayem A. A. Eppakayala V., Kim J. H. Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Nanomed.* 2012. Vol. 7. P. 5901–5914. doi: 10.2147/IJN.S37397

Jaworski S., Hinzmann M., Sawosz E., Grodzik M., Kutwin M., Wierzbicki M., Strojny B., Vadalasetty K. P.,

Lipińska L., Chwalibog A. Interaction of different forms of graphene with chicken embryo red blood cells. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2017. Vol. 24. P. 21671–21679. doi: 10.1007/s11356-017-9788-5

Liao K.-H., Lin Y.-S., Macosko C. W., Haynes C. L. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2011. P. 3, no. 7. P. 2607–2615. doi: 10.1021/am200428v

Liu J., Cui L., Losic D. Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications. *Acta Biomater.* 2013. Vol. 9. P. 9243–9257.

Rozhkova N. N., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Natural grapheme-based shungite nanocarbon. *Carbon nanomaterials sourcebook: graphene, fullerenes, nanotubes, and nanodiamonds*. Ed. K. D. Slatter. Boca Raton; London; New York: CRC press inc. (Taylor and Francis group), 2016. Vol. 1. P. 153–178.

Sasidharan A., Panchakarla L. S., Sadanandan A. R., Ashokan A., Chandran P., Girish C. M., Menon D., Nair S. V., Rao C. N., Koyakutty M. Hemocompatibility and macrophage response of pristine and functionalized graphene. *Small*. 2012. Vol. 8. P. 1251–1263. doi: 10.1002/smll.201102393

Ye N., Wang Z., Wang S., Peijnenburg W. J. G. M. Toxicity of mixtures of zinc oxide and graphene oxide nanoparticles to aquatic organisms of different trophic level: particles outperform dissolved ions. *Nanotoxicology*. 2018. Vol. 2, no. 5. P. 423–438. doi: 10.1080/17435390.2018.1458342

Wang Z., Zhu W., Qiu Y. Biological and environmental interactions of emerging two-dimensional nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.* 2016. Vol. 45(6). P. 1750–1780.

Zhang B., Wei P., Zhou Z., Wei T. Interactions of graphene with mammalian cells: Molecular mechanisms and biomedical insights. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 2016. Vol. 105, part B. P. 145–162. doi: 10.1016/j.addr.2016.08.009

Zhang X., Yin J., Peng C., Hu W., Zhu Z., Li W., Fan C., Huang Q. Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous ad-

ministration. *Carbon*. 2011. Vol. 49. P. 986–995. doi: 10.1016/j.carbon.2010.11.005

Zhao J., Wang Z., White J. C. Graphene in the aquatic environment: adsorption, dispersion, toxicity and transformation. *Environ. Sci. Technol.* 2014. Vol. 48, no. 17. P. 9995–10009.

Received May 30, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Борисова Александра Григорьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
ФИЦ «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 57.084.1 (597.555.1)

ОЦЕНКА ФИЗИЧЕСКОЙ СИЛЫ РЫБ (ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ, ПЕРСПЕКТИВЫ)

Ю. А. Шустов¹, И. А. Тыркин²

¹ Петрозаводский государственный университет, Россия

² Карельский филиал Главного бассейнового управления по рыболовству и сохранению водных биологических ресурсов, Петрозаводск, Россия

Лососевые рыбы рода *Salmo* являются важным объектом промысла, искусственно-го разведения и спортивного рыболовства. В настоящее время в силу ряда причин численность популяции лососевых находится в депрессивном состоянии. С развитием искусственного воспроизводства для части популяций лососевых рыб на севере России появилась возможность решить некоторые проблемы их сохранения. Однако качество молоди лососевых рыб, воспроизводимых в заводских условиях, система транспортировки и выпуска молоди недостаточно эффективны, поскольку вскоре после выпуска в естественные водоемы большая часть рыб гибнет. Причиной гибели является недостаточная физическая сила и выносливость молоди в речных условиях. В данный момент нормативным критерием для качества молоди является навеска выпускаемых рыб. Одной из альтернатив при оценке качества мальков может быть применение прибора «Фиш-спринт», действие которого основано на регистрации динамометром силы тяги, развиваемой при двигательной реакции рыбы на анод в ответ на действие электрического поля постоянного тока (анодная реакция). Исследования показали, что тяговое усилие рыб существенно изменяется в сезонном аспекте и определяется в первую очередь температурой среды обитания. Для молоди атлантического лосося наблюдается постепенное нарастание физической силы при температуре от 3,5 до 16 °С, а в дальнейшем тяговое усилие практически не изменяется. Физическая сила диких пестряток кумжи (возраст от 2+ до 4+), обитающих в речных условиях, оказалась выше по сравнению с заводской молодью атлантического лосося. При одинаковых морфологических показателях длины и массы молодь лосося, обитающая в естественных условиях (реках), развивает физическую силу в два раза выше по сравнению с молодью, выросшей на рыбоводных заводах.

Ключевые слова: физическая сила; атлантический лосось; кумжа; окунь; фиш-спринт; качество заводской молоди.

Yu. A. Shustov, I. A. Tyrkin. ASSESSMENT OF THE PHYSICAL STRENGTH OF FISH (RESEARCH RESULTS, PROSPECTS)

Fishes of the genus *Salmo* are important items for commercial fisheries, aquaculture, and sport fishing. For a number of reasons, the salmonid population is currently in a depressed state. For some salmonid populations in Northern Russia, the development of artificial reproduction has created opportunities for dealing with some conservation issues. However, the quality of hatchery-reared juvenile salmonids, their transportation and release stocking systems have flaws, considering that most of the fish die soon after being released into the wild. The reason for these mortalities is the lack of physical strength

and resilience of the juveniles in the river. At present, the criterion for suitable quality of juveniles is the weight of the released fishes. A possible alternative for assessing the quality of fry is to use the "Fish Sprint" device, whose operating principle is the registration by a dynamometer of the traction force developed by the fish moving towards the anode in response to the action of direct-current electric field (anodic reaction). Studies have shown that the traction force of fish varies significantly seasonally, and is primarily determined by ambient temperature. The physical strength of juvenile Atlantic salmon gradually increased with temperature rise from 3.5 to 16 °C, after which the traction force remained almost invariable. Wild trout parr (age 2+ – 4+) living in the river proved to be physically stronger than hatchery-reared Atlantic salmon. The morphological indices of length and mass being the same, juvenile salmon living in the wild (rivers) developed a twice greater traction force compared to hatchery-reared parr.

Key words: physical strength; Atlantic salmon; brown trout; perch; fish-sprint; out-of-hatchery parr quality.

Введение

Известно, что лососевые рыбы рода *Salmo* являются важным объектом промысла, искусственного разведения и спортивного рыболовства во многих странах северного полушария [Лихатович, 2004]. Однако в силу ряда причин численность популяций снижается, в том числе и на Европейском Севере России, продолжает ухудшаться среда обитания. Поэтому проблема сохранения лосося как в морских, так и в пресноводных водоемах чрезвычайно актуальна [Мартынов, 2007].

Строительство в середине прошлого века лососевых рыболовных заводов и перевод на искусственное воспроизводство части популяций лососевых на севере России позволило решить некоторые проблемы с численностью вида. Однако потенциальные возможности лососеводства реализованы далеко не полностью. Физическое качество молоди лососевых заводского происхождения, система ее транспортировки и выпуска остаются несовершенными, так как вскоре после выпуска в естественные водоемы большая часть рыб гибнет из-за непригодности к условиям обитания. Наиболее актуальной в настоящее время является проблема повышения качества выращиваемой молоди. Здесь имеется в виду не только навеска рыбы (которая сейчас является почти единственным нормативным критерием оценки деятельности рыболовных заводов), но и жизнестойкость молоди, ее физическая сила и выносливость, важно выработать необходимые поведенческие реакции к естественным гидрологическим особенностям среды обитания и навыкам кормления [Шустов, 1983]. Поэтому в естественных условиях выживаемость заводской молоди будет определяться главным образом физической выносливостью, включающей в себя силу реакции на пищевой объект, течение реки и хищников.

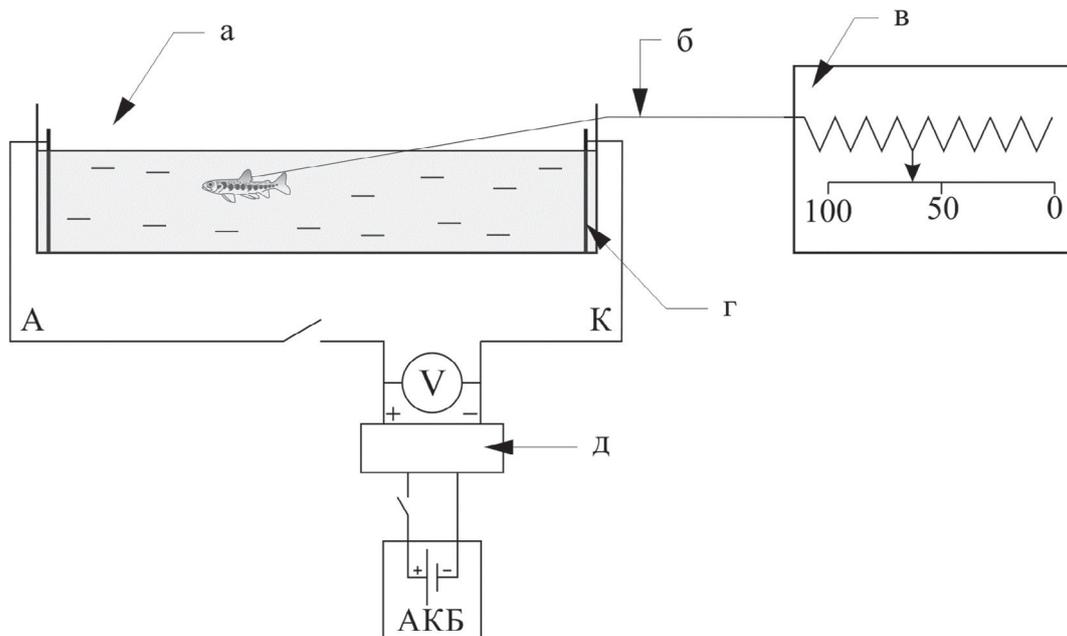
Для сравнительного анализа физического состояния молоди лососевых рыб естественного (дикого) и заводского происхождения нами был разработан экспресс-метод количественной оценки ее жизнестойкости, защищенный авторским свидетельством [Шустов и др., 1994]. С помощью прибора «Фиш-спринт» в процессе многолетних исследований пресноводных рыб авторы провели серию полевых экспериментов по оценке физической силы с дикой и заводской молодью атлантического лосося (*Salmo salar*), молодью кумжи (*Salmo trutta*), окунем обыкновенным (*Perca fluviatilis*).

Результаты исследований нами были опубликованы в отечественных и зарубежных научных журналах, а также в учебном пособии для студентов Петрозаводского университета [Шустов и др., 2013]. Данная статья посвящена итогам и перспективам исследования физической силы рыб на базе установки «Фиш-спринт».

Материалы и методы

Прибор «Фиш-спринт» относительно прост в исполнении и включает в себя следующий комплект (рис.):

- пластиковый лоток с водой для рыбы, размеры 50 × 15 × 10 см;
- электроды постоянного тока (анод (+) и катод (-)) в виде латунных пластин, которые подключены к источнику напряжения (аккумуляторной батарее);
- монофильная леска ($d = 0,1$ мм) с маленьким «крокодилообразным» зажимом для рыбы;
- динамометр с тарировкой до 200 г, которую можно в процессе эксперимента изменять в зависимости от размеров и силы тяги рыбы;
- источник питания (аккумуляторная батарея), позволяющий создавать электрическое поле постоянного тока до 1 В на 1 см длины



Прибор «Фиш-спринт» для оценки физических возможностей молоди рыб:

а – лоток для рыбы, б – леска, в – регистратор, г – электроды, д – регулятор напряжения аккумуляторной батареи

The Fish-Sprint device to assess the physical capabilities of juvenile fish:

a – fish tray, б – fishing line, в – recorder, г – electrodes, д – voltage regulator of the storage battery

лотка для экспериментов (подстраивается регулятором напряжения).

Для регистрации силы тяги к рыбе в области спинного плавника прикрепляют миниатюрный зажим (или рыболовный крючок без бородки) с леской, соединенной с динамометром. В пластиковом лотке рыбу успокаивают (дают отдышаться) и аккуратно располагают строго параллельно силовым линиям электрического поля, головой к аноду. После включения электрического тока у экспериментальной рыбы мгновенно возникает анодная реакция, и она с максимальным усилием сразу устремляется к аноду. Так подачу тока повторяют 2–3 раза для регистрации на динамометре максимального значения силы тяги. Затем измеряют длину и массу тела. Живую, но несколько травмированную рыбу выпускали в реку (в полевых условиях) либо в бассейн (если работа идет на рыбоводном заводе).

Результаты исследований

Краткие результаты полевых экспериментов по оценке физической силы рыб приводятся согласно нумерации экспериментов в таблице. Здесь используются термины «физическая сила» или «физические способности» как синонимы, т. е. измеряется реальная сила тяги (в г), какую показывает рыба, с помощью динамометра при проявлении анодной реакции – макси-

мального физического броска при воздействии электрического тока.

Для изучения сезонной динамики физической силы дикой молоди атлантического лосося в речных условиях авторами в период 1984–1987 гг. на реках Карелии и Кольского полуострова в разные сезоны года отлавливались пестрятки возраста от 1+ до 3+. Рыб ловили в типичных местах их обитания – на порогах и перекатах, где происходит нерест производителей лосося и обитание его молоди. Глубина в таких местах около 0,3–0,5 м, а скорость потока – в пределах 0,2–0,4 м/с. Дно представлено галькой, мелкими и крупными валунами. Наши исследования показали, что физические возможности рыб в сезонном аспекте сильно различаются и в первую очередь определяются температурным режимом в водоеме. Наибольшие физические возможности у молоди лосося регистрируются в летний период, когда рыбы активно питаются сносимым в потоке воды дрейфом – донными беспозвоночными, а также воздушными насекомыми, летающими у поверхности воды [Шустов, 1983].

Экспериментальное исследование по влиянию температуры на физические способности молоди озерного лосося выполнено в ноябре 1986 г. на р. Лижма (бас. Онежского озера). С этой целью на порогах реки отловлено около 200 пестряток лосося в возрасте 2+ и длиной

Оценка физической силы рыб с применением прибора «Фиш-спринт»

Assessment of the physical strength of fish using the Fish – Sprint device

№ эксперимента Experiment No.	Объект эксперимента Object of the experiment	Тема исследований Research topic	Публикация Published article
1	Дикая молодь атлантического лосося Wild juvenile Atlantic salmon	Сезонная динамика физической силы дикой молоди лосося в речных условиях Seasonal dynamics of the physical strength of wild juvenile salmon in river conditions	Shustov, Shchurov, 1990
2	Дикая молодь атлантического лосося Wild juvenile Atlantic salmon	Экспериментальное исследование влияния температуры на физические способности молоди лосося An experimental study of the effect of temperature on the physical capabilities of juvenile salmon	Шустов и др., 1989 Shustov et al., 1989
3	Дикая молодь атлантического лосося и кумжи Wild juvenile Atlantic salmon and brown trout	Сравнительное изучение физической силы молоди лосося и кумжи Comparative study of the physical strength of juvenile salmon and brown trout	Щуров, Шустов, 1989 Shchurov, Shustov, 1989
4	Дикая и заводская молодь атлантического лосося Wild and hatchery-reared juvenile Atlantic salmon	Сравнительное изучение физической силы дикой и заводской молоди лосося Comparative study of the physical strength of wild and hatchery-reared salmon	Shustov, Shchurov, 1988
5	Дикая и заводская молодь атлантического лосося Wild and hatchery-reared juvenile Atlantic salmon	Экспериментальные исследования влияния физической силы молоди атлантического лосося на интенсивность питания рыб в речных условиях Experimental studies of physical strength influence of juvenile Atlantic salmon on the intensity of fish nutrition in river conditions	Shustov, Shchurov, 1989
6	Окунь речной Perch	Сезонные особенности физических способностей речного окуня Seasonal features of physical capabilities of river perch	Шустов и др., 2018 Shustov et al., 2018

от 10 до 13 см. Часть рыб (30 экз.) были оставлены в реке в каркасном делевом садке при естественной температуре (3,5°C), а остальные пестрятки разделены на четыре группы по 25 экз. и размещены в пластиковых чанах емкостью 120 л каждый. В экспериментальных чанах постепенно в течение суток с помощью электронагревателей и терморегуляторов повышали и термостатировали воду до нужного значения (8, 12, 16 и 20°C). Результаты эксперимента показали, что между температурой и физическими способностями пестряток озерного лосося существует довольно сложная зависимость – в пределах температуры от 3,5 до 16°C идет резкое нарастание физических способностей рыб, однако далее, с повышением температуры до 20°C, физическая сила рыб остается практически без изменений.

Многочисленные исследования поведения и распределения дикой молоди атлантического лосося и молоди кумжи в реке убедительно доказывают, что эти виды рыб занимают в речной период жизни разные биотопы [Шустов, 1983]. Возможно, что эти различия определяются не только морфологическими особенностями рыб, но и зависят от физических способностей

(силы), сведения о которых на момент проведения наших опытов в литературе отсутствовали.

Исследования физической силы диких пестряток атлантического лосося и кумжи (возраст от 2+ до 4+) проводили в 1984 г. на реках Колвица и Лувеньга (Кольский полуостров) и на р. Лижма (бас. Онежского озера) в 1986 г. Сравнительное изучение физических способностей (силы) молоди лосося и кумжи в реках Кольского полуострова показало, что эти различия в распределении рыб в речных условиях не только определяются морфологическими особенностями рыб, но и зависят от их физических способностей. При равных размерах молодь кумжи сильнее молоди атлантического лосося. Это также подтверждается исследованиями реореакции молоди этих двух видов. Выдерживаемая критическая скорость течения для мальков одного возраста выше у кумжи [Ручьев и др., 2017]. Полученные нами результаты позволяют лучше понять причины существенных различий в поведении и распределении молоди этих видов рыб в речных условиях.

Как уже упоминалось выше, наряду с естественным воспроизводством лососевых рыб в мире широко распространено их искусствен-

ное воспроизводство. После отлова производителей, инкубирования искусственно оплодотворенной икры и выращивания молоди в заводских условиях ее выпускают в естественные водоемы – нерестовые реки, эстуарные зоны морей [Лихатович, 2004; Литвиненко, Корнеева, 2017]. В Карелии выращивание молоди атлантического и озерного лосося осуществляется на Выгском и Кемском рыболовных заводах.

К сожалению, искусственные условия настолько сильно отличаются от речных (отсутствие достаточно сильного течения, высокая плотность рыб и т. д.), что заводская молодь по многим физиологическим и морфологическим показателям, в том числе и по физической силе, значительно уступает диким рыбам. Наши эксперименты с оценкой физических способностей дикой и заводской молоди лосося из рек и рыболовных заводов Кольского полуострова [Shustov, Shchurov, 1988] показали, что молодь из рыболовных прудов и бетонных бассейнов, где практически отсутствует течение, по степени физической способности практически в два раза слабее дикой молоди.

Для проверки гипотезы существования зависимости между физическими способностями молоди атлантического лосося (семги) и интенсивностью питания рыб в речных условиях мы выполнили следующую экспериментальную работу [Shustov, Shchurov, 1989]. Отловили на р. Печенга дикую молодь семги возраста 2+ и 3+, а также заводских трехлеток семги, выпущенных за полтора месяца до исследования в р. Кицу (приток р. Кола). У пойманных рыб сразу же в экспериментальной установке измеряли тяговое усилие. Затем рыб фиксировали формалином с дальнейшей обработкой (анализ питания) в лабораторных условиях.

Эксперименты показали отсутствие достоверной статистической корреляции между интенсивностью питания рыб и их физическими способностями. Возможно, взаимоотношение между накормленностью рыб и их физическим состоянием в речных условиях носит более сложный характер.

Физические способности речного окуня в холодное и теплое время года изучали на оз. Ангозеро (Южная Карелия) в марте и августе. Температура озерной воды в это время составляла 2 и 15–17 °С соответственно. Результаты статистического сравнения выборок указывают на существенные отличия между сезонами, не подтверждая распространенное мнение о неизменности физических способностей речного окуня в течение года. Летом на электрическую стимуляцию активно реагировали все подопытные особи, тогда как реак-

ция при низкой температуре была достаточно вялой [Шустов и др., 2018].

Обсуждение

В наших ранних экспериментах на начальном этапе исследований физических способностей дикой и заводской молоди атлантического лосося (до разработки прибора «Фиш-спринт») физическая выносливость, реореакция и поведение пестряток семги в потоке воды изучались в гидродинамическом сетном лотке. Лоток устанавливали в реке таким образом, чтобы скорость потока была равномерной по всей площади. Выносливость (а точнее, плавательную способность) определяли при постоянной скорости потока 0,35 м/с, выбранной нами в качестве стандартной для экспериментов. Именно такая скорость потока характерна для тех зон порогов и перекаатов, где расселяются дикие пестрятки лосося.

По-видимому, тест на плавательную способность для оценки физических возможностей заводской молоди лосося [Щуров, 1981] имело смысл использовать как исследователям, так и рыболовам. Как мы считали в те годы, сама методика чрезвычайно проста и в то же время надежна. И все же эта достаточно простая методика требовала больших временных затрат при проведении измерений плавательных способностей, особенно дикой молоди лосося. Так, например, если для измерения плавательных способностей только одной заводской рыбки в среднем приходилось затрачивать около 15 минут, то дикие мальки активно сопротивлялись потоку воды в экспериментальном лотке в среднем около получаса, а некоторые «рекордсмены» – до одного часа. Поэтому воплощение идеи об измерении физической силы рыб во время проявления ими анодной реакции и создание для этой цели реального способа и прибора «Фиш-спринт» значительно упростило проведение экспериментов с рыбами в полевых условиях.

Экспресс-метод, а также специальный прибор «Фиш-спринт», которыми физическая сила рыб оценивается по результатам измерения плавательных усилий рыбы в момент проявления анодной реакции под воздействием постоянного тока определенной силы, позволили проводить массовые измерения максимальных физических способностей молоди лососевых рыб без отхода и существенной травматизации. Затраченное на эксперимент с одной особью время составляет не более 20–30 с. Сама аппаратно-инструментальная часть достаточно компактна (вес не более 2 кг, максимальный размер не более 0,5 м) и легко транспортируется даже в полевых условиях.

Однако наш опыт показал, что исследования физической силы некоторых рыб прибором «Фиш-спринт» выполнить сложно. Так, например, если исследование речного окуня не составило проблемы, то карповые (плотва, уклея) и молодь сиговых рыб (ряпушка) в нашей установке во время их отлова сачком, удерживания в руке при креплении крючка или зажима, даже при столь небольшой травматизации испытывали сильный стресс. Рыбы сразу переворачивались (а это явный признак плохого самочувствия) и уже практически не реагировали на электрические импульсы. И второй нерешенный вопрос: в форелевых хозяйствах собственники не позволят даже в легкой форме травмировать рыбу, особенно молодь форели и сиговых рыб.

Заключение

Исследования физической силы молоди рыб с помощью прибора «Фиш-спринт» показали, что тяговое усилие рыб существенно изменяется в сезонном аспекте и определяется в первую очередь температурой среды. В процессе исследований установлено, что у молоди атлантического лосося максимум физической силы наблюдается в летний период. При температуре 3,5–16 °С происходило резкое нарастание физической силы, а с повышением температуры в диапазоне 16–20 °С тяговое усилие практически не изменялось. При сравнении физической силы диких пестряток атлантического лосося и кумжи (возраст от 2+ до 4+) одинаковых линейных размеров в речных условиях последняя оказывала большее тяговое усилие. Следовательно, распределение молоди лосося и кумжи на НВУ зависит не только от морфологических особенностей рыб, но и связанной с ними развиваемой физической силы. При одинаковых морфологических параметрах молоди семги физическая сила рыб, выращенных в естественных условиях, в два раза выше, чем у рыб, выращенных на рыбоводных заводах Карелии. Причиной этого является содержание молоди в рыбоводных прудах и бетонных бассейнах на слабом течении в сравнении со скоростью речного потока.

Физические способности речного окуня оз. Ангозеро (Южная Карелия) имеют существенные отличия в зависимости от температуры среды. При температуре 15–17 °С на электрическую стимуляцию активно реагировали все подопытные особи, а при температуре 2 °С рыба была достаточно вялой.

Итоги исследований физической силы рыб методом анодной реакции, с нашей точки зрения, достаточно убедительны, однако

в перспективе нужно расширить возможности исследований. В настоящее время ведется работа над усовершенствованием установки «Фиш-спринт» в направлении атравматизации исследуемых рыб.

Литература

- Литвиненко А. В., Корнеева Е. И. Опыт выращивания молоди кеты на лососевом рыбоводном заводе «Бухта Оля» // Известия КГТУ. 2017. № 44. С. 28–37.
- Лихатович Д. Лосось без рек. История кризиса тихоокеанских лососей. Владивосток: Дальний Восток, 2004. 192 с.
- Мартынов В. Г. Атлантический лосось (*Salmo salar* L.) на Севере России. Екатеринбург: УрО РАН, 2007. 415 с.
- Ручьев М. А., Ефремов Д. А., Скоробогатов М. И., Веселов А. Е. Особенности локомоторных показателей реореакции молоди атлантического лосося (*Salmo salar* L.) и кумжи (*Salmo trutta* L.) // Труды КарНЦ РАН. 2017. № 12. С. 72–79. doi: 10.17076/eb679
- Шустов Ю. А. Экология молоди атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 1983. 152 с.
- Шустов Ю. А., Щуров И. Л., Веселов А. Е. Влияние температуры на физические способности молоди озерного лосося *Salmo salar morpha 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.
- Шустов Ю. А., Щуров И. Л., Тыркин И. А. Методика оценки физической силы молоди лососевых рыб. Учеб. пособие для студентов экол.-биол. фак. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. 35 с.
- Шустов Ю. А., Горбач В. В., Тыркин И. А. Сезонные особенности физических способностей речного окуня (*Perca fluviatilis* L.) // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 6. С. 51–58. doi: 10.17076/eb832
- Щуров И. Л., Шустов Ю. А. Сравнительное изучение физических способностей молоди атлантического лосося и кумжи в речных условиях // Вопр. ихтиологии. 1989. Т. 29, № 2. С. 340–342.
- Щуров И. Л. Контроль качества молоди лососевых, выращиваемой на рыбоводных заводах (состояние проблемы, методы контроля) // Контроль качества молоди лососевых. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1981. С. 5–31.
- Shustov Yu. A., Shchurov I. L. Quantitative estimation of stamina of wild and hatchery – reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Aquaculture. 1988. Vol. 71. P. 81–87.
- Shustov Yu. A., Shchurov I. L. Seasonal changes in the stamina of young Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under river conditions // Finnish Fisheries Research. 1990. Vol. 11. P. 1–5.
- Shustov Yu. A., Shurov I. L. Experimental study of the effect of young salmon, *Salmo salar* L., stamina on their feeding rates in a river // J. Fish. Biol. 1989. Vol. 34. P. 959–961.

Поступила в редакцию 24.07.2019

References

Litvinenko A. V., Korneeva E. I. Opyt vyrashchivaniya molodi kety na lososevom rybovodnom zavode "Bukhta Olya" [Experience of breeding young salmon in the hatchery "Bukhta Olya"]. *Izvestiya KGTU* [KSTU News]. 2017. No. 44. P. 28–37.

Likhatovich D. Losos' bez rek. Istoriya krizisa tikhookeanskikh lososei [Salmon without rivers: History of the Pacific salmon crisis]. Vladivostok: Dal'nii Vostok, 2004. 192 p.

Martynov V. G. Atlanticheskii losos' (*Salmo salar* L.) na Severe Rossii [Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the North of Russia]. Ekaterinburg: UrO RAN, 2007. 415 p.

Ruch'ev M. A., Efremov D. A., Skorobogatov M. I., Veselov A. E. Osobennosti lokomotornykh pokazatelei reoreaktsii molodi atlanticheskogo lososya (*Salmo salar* L.) i kumzhi (*Salmo trutta* L.) [Comparative research on locomotor components of rheotactic response in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and brown trout (*Salmo trutta* L.)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2017. No. 12. P. 72–79. doi: 10.17076/eb679

Shustov Yu. A. Ekologiya molodi atlanticheskogo lososya [Ecology of juvenile Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Karelia, 1983. 152 p.

Shustov Yu. A., Shchurov I. L., Veselov A. E. Vliyanie temperatury na fizicheskie sposobnosti molodi ozeronogo lososya *Salmo salar morpha sebago* [The effect of temperature on physical capacities of juvenile lacustrine salmon]. *Vopr. ikhtiol.* [J. Ichthyol.]. 1989. Vol. 29, no. 4. P. 676–677.

Shustov Yu. A., Shchurov I. L., Shemyakin A. P. Spособ opredeleniya zhiznesteikosti molodi lososevykh ryb [A method for determining the stamina of juvenile salmon fish]. *Avtorskoe svidetel'stvo SSSR № 1264881* [USSR Copyright certificate No. 1264881]. 1994. Byul. no. 6.

Shustov Yu. A., Shchurov I. L., Tyrkin I. A. Metodika otsenki fizicheskoi sily molodi lososevykh ryb. Ucheb. posobie dlya studentov ekol.-biol. fak. [A method for assessing physical strength of juvenile salmon: a textbook for ecology and biology students]. Petrozavodsk: PetrGU, 2013. 35 p.

Shustov Yu. A., Gorbach V. V., Tyrkin I. A. Sezonnnye osobennosti fizicheskikh sposobnostei rechnogo okunya (*Perca fluviatilis* L.) [Seasonal changes in the stamina of the European perch (*Perca fluviatilis* L.)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 6. P. 51–58. doi: 10.17076/eb832

Shchurov I. L., Shustov Yu. A. Sravnitel'noe izucheniye fizicheskikh sposobnostei molodi atlanticheskogo lososya i kumzhi v rechnykh usloviyakh [Comparative study of physical potential of juveniles of the Atlantic salmon and the brown trout in rivers]. *Vopr. ikhtiol.* [J. Ichthyol.]. 1989. Vol. 29, no. 2. P. 340–342.

Shchurov I. L. Kontrol' kachestva molodi lososevykh, vyrashchivaemoi na rybovodnykh zavodakh (sostoyaniye problemy, metody kontrolya). Kontrol' kachestva molodi lososevykh [Quality control of juvenile salmon in fish-breeding farms (state of the problem, methods of control). Quality control of juvenile salmon]. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1981. P. 5–31.

Shustov Yu. A., Shchurov I. L. Quantitative estimation of stamina of wild and hatchery – reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. 1988. Vol. 71. P. 81–87.

Shustov Yu. A., Shchurov I. L. Seasonal changes in the stamina of young Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under river conditions. *Finnish Fisheries Research*. 1990. Vol. 11. P. 1–5.

Shustov Yu. A., Shurov I. L. Experimental study of the effect of young salmon, *Salmo salar* L., stamina on their feeding rates in a river. *J. Fish. Biol.* 1989. Vol. 34. P. 959–961.

Received July 24, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шустов Юрий Александрович

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

Тыркин Игорь Александрович

заместитель начальника, к. б. н. Карельский филиал ФГБУ «Главное бассейновое управление по рыболовству и сохранению водных биологических ресурсов» ул. Коммунальная, д. 9а, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185035
эл. почта: igor7895@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Shustov, Yury

Petrozavodsk State University, Institute of Biology, Ecology and Agrotechnology
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: shustov@petsu.ru
tel.: +79214503711

Tyrkin, Igor

Karelian Branch of the Head Drainage Basin Administration for Fisheries and Conservation of Aquatic Biological Resources
9-A Kommunalnaya St., 185035 Petrozavodsk, Karelia, Russia,
e-mail: igor7895@yandex.ru
tel.: +79313030975

УДК 597.587.9 (268.4)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СХЕМЫ РОСТА ОТОЛИТОВ КАК ИНСТРУМЕНТА ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА РОСТА ОТОЛИТОВ ПОЛЯРНОЙ КАМБАЛЫ *LIOPSETTA GLACIALIS* ОНЕЖСКОГО ЗАЛИВА БЕЛОГО МОРЯ

Г. В. Фукс

Полярный филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии, Архангельск, Россия

Одним из методов исследований отолитов, который получил широкое развитие в мире в последние десятилетия, является отолитометрия. Исследований по отолитометрии камбаловых в бассейнах арктических морей никто пока не проводил, за исключением автора. Представленный в работе методический подход можно использовать для наглядного сравнения темпа роста отолитов и рыбы как одного из методов его изучения по результатам отолитометрии. Наиболее информативно проводить сравнение темпа роста отолитов рыб с выраженным половым диморфизмом. Особенно хорошо видны и сравнимы размеры годовых колец в первые годы жизни. При сравнении схем по районам берется возраст рыб для каждого из них. На основе полученной информации проводится анализ скорости роста и сравнение результатов по районам. В работе представлены приемы построения схемы роста отолитов для наглядного изучения и сравнения скорости роста полярной камбалы *Liopsetta glacialis* (Pleuronectidae) в разных районах обитания. В литературных источниках подобных методик не опубликовано.

Ключевые слова: линейная зависимость; коэффициент детерминации; Белое море; Онежский залив.

G. V. Fuks. USING OTOLITH GROWTH PATTERN AS A TOOL FOR COMPARATIVE ANALYSIS OF OTOLITH GROWTH IN THE ARCTIC FLOUNDER *LIOPSETTA GLACIALIS* FROM ONEGA BAY OF THE WHITE SEA

One of the methods for studying otoliths which has been widely promoted around the world in recent decades is otolithometry. There has so far been no otolithometric research on pleuronectids in basins of Arctic seas other than the author's own. The technique presented here can be used for a visual comparison of the growth rate of otoliths and fish as one of the methods for studying it based on the results of otolithometry. The comparison of the growth rate of fish otoliths would be the most informative in fish with pronounced sexual dimorphism. Annual ring sizes are especially clearly visible and comparable in the first years of life. When comparing area-specific patterns, fish of certain age are taken for each area. On the basis of the information received, growth rates are analyzed and compared among areas. The paper presents the methods of plotting an otolith growth pattern for illustrative study and comparison of growth rates in the Arctic flounder *Liopsetta glacialis* (Pleuronectidae) in different habitats. No such techniques have previously been published in the literature.

Введение

Изучение роста рыб, механизмов его регуляции представляет большой интерес для ученых. Выявление факторов, определяющих его темп, дает возможность прогнозировать промысловый запас популяции [Зубова, 2016]. Рост – сложный количественный процесс, связанный с приращением массы и линейных размеров. Рыбы растут в течение всей жизни, при этом с возрастом темп роста снижается [Дгебуадзе, 2001; Вышегородцев, 2002]. Под скоростью или темпом роста рыбы подразумевают увеличение ее длины или массы за условно взятый промежуток времени [Чугунова, 1959]. Рост рыб представляет собой изменение длины и массы организма, его можно отобразить математической функцией, у которой числовые значения параметров будут постоянны; его изучение необходимо для оценки биологических параметров популяции, которые, в свою очередь, являются частью задач промысловой ихтиологии для изучения системы «запас – промысел» [Шибяев, 2007].

Одним из методов исследований отолитов, который получил широкое развитие в мире в последние десятилетия, является отолитометрия [Campana, 2001]. Метод является важным инструментом изучения роста рыб и широко используется исследователями, он апробирован на многих видах рыб: тихоокеанских камбалах [Мягких, 2001], тресковых [Мина, 1967; Баранова, Бернер, 1984; Винников, Давыденко, 1998; Легенькая, 1999; Begg, 2000, 2001; Пашенко, Грицай, 2001; Jónsdóttir et al., 2006; Stransky et al., 2008; Орлов, Афанасьев, 2013], атлантической скумбрии [Castonguay et al., 1991], круглой сардинелле [Чешева, Зимин, 2004], северном морском окуне [Orlov et al., 2007], атлантической сельди [Messieh, 1972], семге [Friedland, Reddin, 1994], европейской ставриде [Stransky et al., 2008], горбуше [Ефанов, Хоревин, 1979]. Исследований по отолитометрии камбаловых в бассейнах арктических морей никто пока не проводил, за исключением автора [Фукс, 2014, 2016–2018]. Отолиты рыб начинают функционировать как регистрирующие структуры в самом раннем онтогенезе – еще до выклева рыб [Апс, 1981]. Рост рыбы и рост чешуи (а также костей и отолитов) закономерно связаны между собой и продолжают всю жизнь [Чугунова, 1959; Yaremko, 1996; Mendoza, 2006]. Отолиты служат источником

записи истории жизни рыбы [ICES..., 2004] и хранят информацию о ежедневном приросте, размере, росте и онтогенезе рыб [Gerard, Malca, 2011]. Одной из самых привлекательных характеристик отолитов является отсутствие резорбции. Это означает, что при неблагоприятных условиях, в том числе при отсутствии должного питания, минералы отолитов не будут расходоваться [Mendoza, 2006]. Таким образом, они являются одним из самых надежных инструментов для определения возраста, темпов роста, структуры популяции и управления рыболовством [Campana, Thorrold, 2001; Mendoza, 2006; McFarlane et al., 2010]. Для объективного изучения скорости роста необходим наиболее широкий возрастной ряд и репрезентативная выборка по каждому возрастному классу. Рыбы обладают чрезвычайной изменчивостью показателей роста, в том числе при внутривидовых сравнениях.

Существует много способов изучения роста рыб: по наблюдаемым данным, обратным расчислениям [Чугунова, 1959; Правдин, 1966; Брюзгин, 1969], по уравнениям Форда – Уолфорда и Берталанфи [Шибяев, 2007], различными математическими моделями с использованием вариационной статистики [Мина, Клевезаль, 1976; Лакин, 1990; Дгебуадзе, 2001]. Последние применены для изучения роста полярной камбалы Белого моря [Фукс, Шилова, 2017]. Представленную в работе методику можно использовать для наглядного сравнения темпа роста отолитов и рыбы как одного из методов его изучения по результатам отолитометрии.

Полярная камбала, *Liopsetta glacialis* (Pleuronectidae) Pallas, 1776, – аркто-бореальный [Mecklenburg et al., 2018] вид. Широко распространена в прибрежных участках исследуемых акваторий. По нашим данным, максимальный размер – 31,6 см, максимальная масса тела – 437 г. Достигает возраста 22 лет в Белом, 28 лет – в юго-восточной части Баренцева и 23 лет – в юго-западной части Карского моря [Фукс, Семушин, 2017]. Хозяйственное значение полярной камбалы невелико, в водоемах Северного рыбохозяйственного бассейна ее специализированный промысел не ведется, в то же время она является одним из важнейших второстепенных объектов рыболовства, постоянно присутствующим в приловах, и прежде всего при осуществлении промысла коренными и малочисленными народами Севера,

живущими на побережье Белого, Баренцева и Карского морей.

Целью работы является представление нового методического подхода к изучению роста отолигов на примере полярной камбалы, *Lipsetta glacialis* (Pleuronectidae) Pallas, 1776, Онежского залива Белого моря и сравнение скорости их роста в разных районах обитания. Новизна заключается в визуализации роста отолигов на основе эмпирических наблюдений, при этом можно использовать несколько участков ареала, от мелких до крупных; особенно информативно изучать рост рыб с выраженным половым диморфизмом. На схеме хорошо виден размер отолига первого года жизни рыбы, что особенно важно для выявления популяционных группировок, как отмечают некоторые исследователи [Лепесевич, 2010]. В литературных источниках подобных методик не опубликовано.

Материалы и методы

Изучение роста отолигов полярной камбалы проводилось на материале, собранном в Онежском заливе Белого моря в период 2001–2018 гг. на участках: акватории о-вов Кий и Большой Соловецкий, р. Колежма, центральная часть залива (далее – Море). Материалы собраны в ходе регулярных научно-исследовательских рейсов и прибрежных экспедиций. Для сбора ихтиологического материала с судна использовали придонный трал проекта ББГЛ с горизонтальным раскрытием 14 м, вертикальным – 5 м и шагом ячеи в кутке 16 мм. На прибрежных станциях использовали стационарные орудия лова с шагом ячеи в кутке 12–24 мм и разноячейные порядки ставных жаберных сетей с шагом ячеи 20–60 мм. Отолиги извлекали в ходе проведения биологического анализа по общепринятым ихтиологическим методикам [Чугунова, 1959; Правдин, 1966; Шибаев, 1996; Инструкции..., 2001]. Измерение длины и ширины проводилось в камеральных условиях под биноклем МБС-10 с помощью окуляр-микрометра (можно использовать другое увеличительное или измерительное устройство). При выполнении работ исследовано не менее 100 отолигов особей каждого пола по всем районам, возрастной ряд старались делать как можно шире, чтобы охватить большее количество возрастных классов. Размеры отолига в первые годы жизни при отсутствии эмпирических данных в некоторых районах получены методом обратных расчислений [Чугунова, 1959]. Всего исследовано 900 отолигов рыб обоих полов (табл.).

Размер полученных выборок различается как по количеству экземпляров, так и по ко-

Объем обработанных отолигов, шт.

The volume of processed otoliths, ind.

Район залива Bay area	Самки Females	Самцы Males
акватория о. Кий Kiy Island water area	137	105
р. Колежма Kolezhma River	102	102
о. Большой Соловецкий Big Solovetsky Island	116	103
Море Sea	133	102
Всего Total	488	412

личеству возрастных классов. В связи с этим статистическая обработка данных проводилась с применением критерия «хи-квадрат» для сравнения нескольких совокупностей одновременно, в частности четырех районов Онежского залива, для уровня значимости $\alpha = 0,05$, по методике В. Ю. Урбаха [1964].

Результаты и обсуждение

Проведенными исследованиями выявлено, что рост отолигов прямо пропорционален росту рыбы. Все показатели имеют линейную зависимость, безотносительно к полу и району исследований, с высоким коэффициентом детерминации – 0,9934 у самок и 0,9854 у самцов. Для примера приводятся данные по акватории о. Кий Онежского залива Белого моря, эмпирические кривые роста и линии тренда практически сливаются (рис. 1).

Линейная зависимость длины рыбы и длины отолига доказана многими исследователями на различных видах рыб [Trough, 1954; Templemana, Squires, 1956; Мина, 1967; Легенькая, 1999; Harvey et al., 2000; Aydin et al., 2004; Svetochева et al., 2007; Battaglia et al., 2010; Фукс, 2013; Seyfabadi et al., 2014; Dehghani et al., 2015; Zan et al., 2015], в том числе и на полярной камбале юго-восточной части Баренцева [Фукс, 2016] и юго-западной части Карского [Фукс, 2018] морей, схематично это показано на рис. 2.

В работе приведены схемы роста отолигов самок (у самцов наблюдается похожая картина) по четырем районам Онежского залива Белого моря: акватории кутовой части о. Кий, р. Колежма, центральной части залива (Море) и о. Большой Соловецкий (рис. 3).

Необходимо отметить, что существует различное программное обеспечение (как правило, иностранных разработчиков) для проведения измерений объектов с помощью микроскопии.

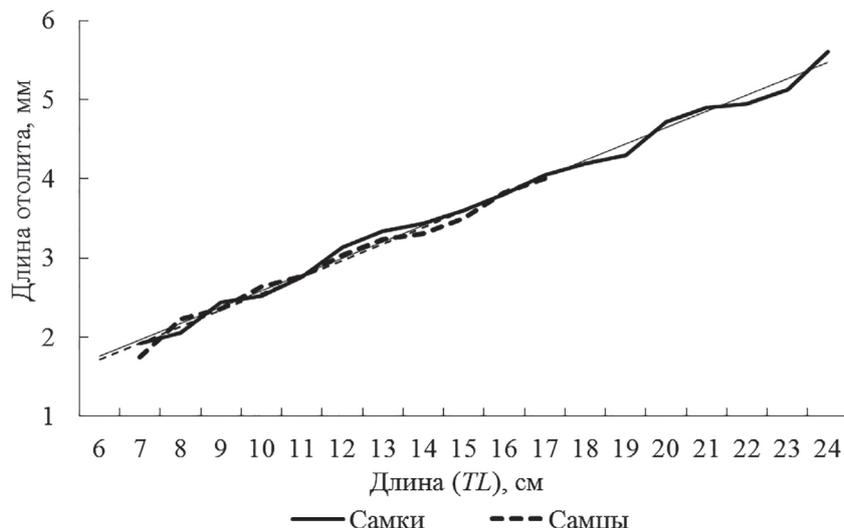


Рис. 1. Зависимость длины отолита от длины рыбы у полярной камбалы
 Fig. 1. The dependence of the otolith length on the length of the Arctic flounder

Некоторые программы имеются в свободном доступе, для других необходимы определенные финансовые затраты. В предлагаемом подходе применялась программа из стандартного пакета MS Office, который в современном мире имеется на каждом компьютере.

Отолит полярной камбалы фотографируют через бинокляр в отраженном свете на темной поверхности в емкости с водой, чтобы избежать бликов. Полученное изображение переносится в MS Excel. Для каждого видимого года с помощью инструмента «кривая» MS Excel обводятся годовые кольца по краю гиалиновой зоны, несколько таких колец показано на рис. 4. Ячейки страницы приводятся к одному масштабу и форме в виде квадрата. Далее берутся средние значения длины и ширины отолита по каждому году и строятся схемы.

Для удобства сравнения скорости роста все условные кольца смещаются к нулю. Наиболее информативно проводить сравнение видов рыб с выраженным половым диморфизмом (рис. 5). Особенно хорошо видны и сравнимы размеры годовых колец в первые годы жизни.

Для сравнения схем по районам берется возраст рыб, который имеется в каждом из них. Например, у полярной камбалы в районах Онежского залива Белого моря взят возраст, равный 8 годам, он может быть больше или меньше в зависимости от возрастного состава рыб сравниваемых районов. На рис. 6 приведены схемы роста правых отолитов самок полярной камбалы, для самцов отмечены похожие результаты. На основе полученной информации проводится анализ скорости роста и его сравнение по районам.

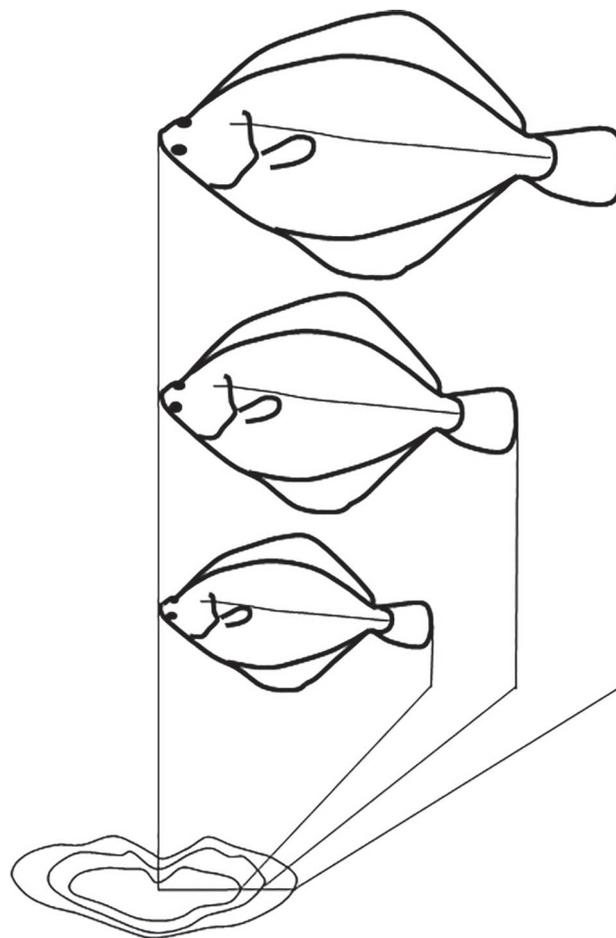


Рис. 2. Соотношение между темпом роста рыбы и отолита

Fig. 2. The ratio between the growth rate of fish and otolith

В возрасте 8 лет самый крупный отолит отмечен в эстуарной зоне р. Колежма, самый мелкий – в акватории о. Большой Соловецкий.

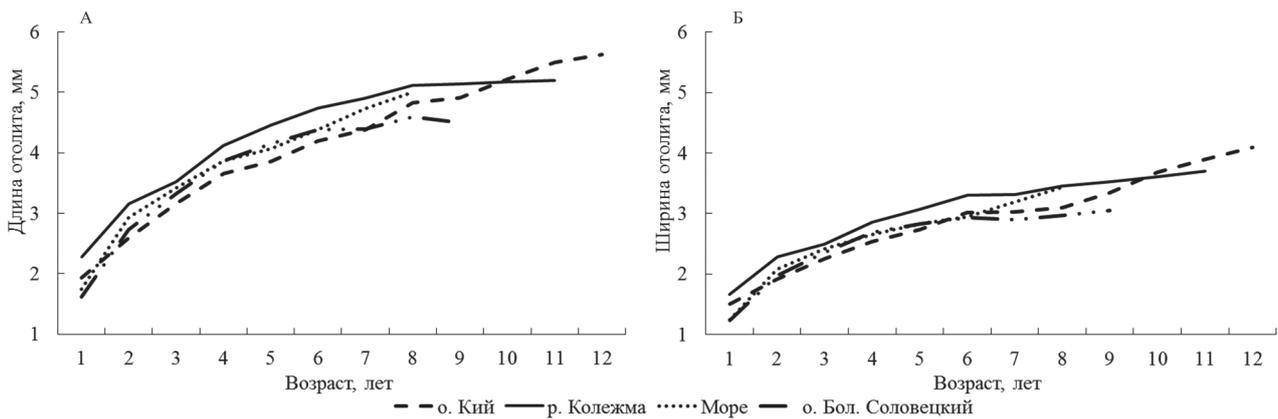


Рис. 3. Рост отолигов самок полярной камбалы в течение жизни в районах Онежского залива Белого моря: а – длина, б – ширина отолига

Fig. 3. Growth of the otoliths in females of the Arctic flounder over the lifetime in the areas of the Onega Bay in the White Sea:

a – length, b – width of otoliths

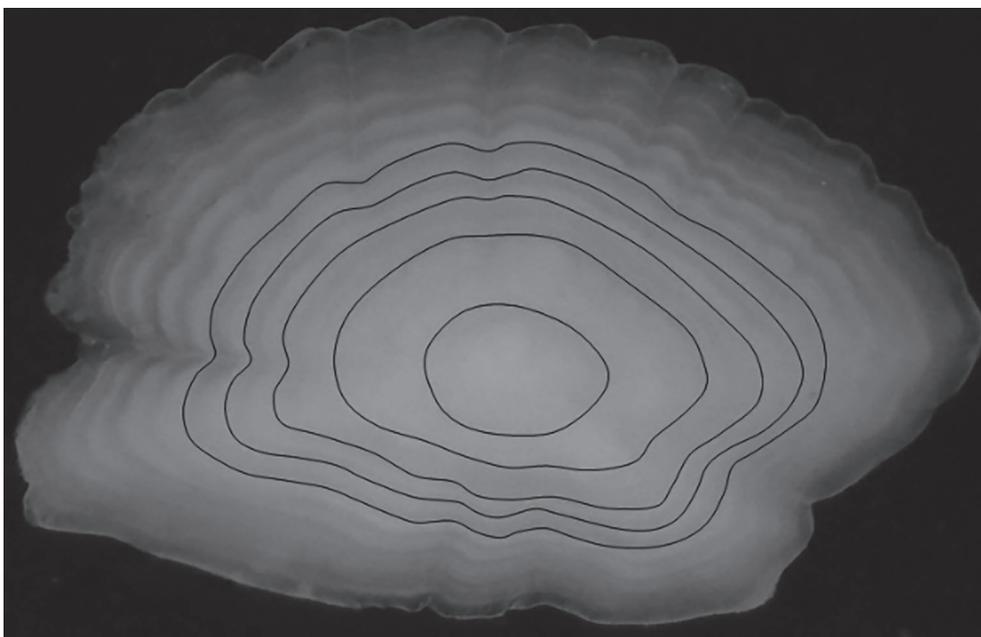


Рис. 4. Прорисованные «кольца» отолига полярной камбалы для построения схемы
Fig. 4. Traced 'rings' of the Arctic flounder otolith used for building the scheme

Отолиты первого года жизни крупнее в районах о. Кий и р. Колежма, которые относятся к кутовой части залива, имеющей более высокую температуру. Например, по данным ФГБУ «Северное управление по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды», г. Архангельск, средняя температура воды в период активного роста с мая по октябрь в 2016 г. в кутовой части составила 14,3, а на Соловецких о-вах 10,1 °С. В морских частях – Море и о. Большой Соловецкий – отолиты первого года мельче. Таким образом, на схеме видно, что в акватории р. Колежма отолиты полярной камбалы са-

мые крупные и быстрорастущие, а на о. Большой Соловецкий – наоборот. Схема наглядно показывает биологические особенности роста полярной камбалы. Подобным образом можно сравнивать любые участки ареала.

Далеко не всегда и везде удастся получить отолиты младших возрастных групп из-за отсутствия молоди рыб в уловах. Недостающие возрастные классы и, соответственно, параметры отолига находят с помощью обратных расчислений. По размеру отолига первого года жизни и характеру приростов, используя схему, можно предположить место рождения рыбы.

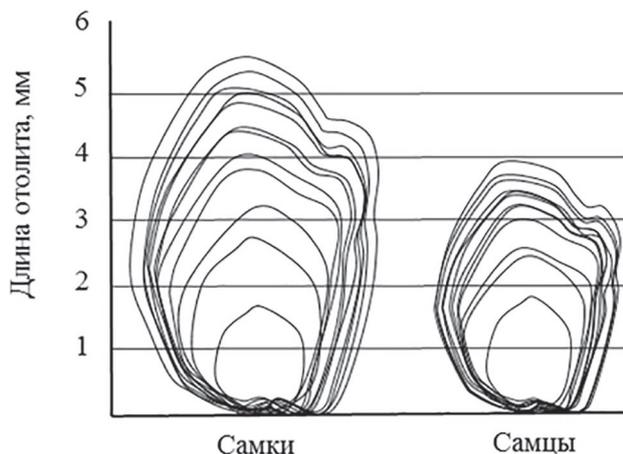


Рис. 5. Схемы роста одновозрастных отолитов полярной камбалы

Fig. 5. Schemes of even-aged otoliths growth of the Arctic flounder

Данная методика позволяет:

- сравнивать скорость роста отолитов у самцов и самок, в том числе у рыб, имеющих выраженный половой диморфизм;
- сравнивать скорость роста отолитов рыб в различных местах обитания любых размеров, от рыбопромысловых участков до заливов и морей;
- предположить пространственную принадлежность рыбы к тому или иному району, что может иметь важное значение для выявления популяционных группировок или собственно структуры популяции вида.

Статистическая обработка данных подтвердила достоверные различия для уровня значимости $\alpha = 0,05$ в длине отолитов особей полярной камбалы для всех возрастных групп во всех исследованных районах. Расчетное значение «хи-квадрат» для самок составило 0,0613, табличное значение – 28,869; для самцов – 0,2128 и 32,671 соответственно.

Заключение

Схемы роста можно использовать для наглядного сравнения темпа роста отолитов как одного из методов изучения роста рыб по результатам отолитометрии. Метод можно рекомендовать для изучения роста отолитов других видов рыб. Фотографирование, измерение отолитов, статистическую обработку можно выполнять с применением любой цифровой аппаратуры и программного обеспечения, в том числе MS Excel.

Литература

Андрияшев А. П., Чернова Н. В. Аннотированный список рыбообразных и рыб морей Арктики и сопредельных вод // Вопросы ихтиологии. 1994. Т. 34, № 4. С. 435–456.

Апс Р. А. Анализ строения отолитов балтийского шпрота как метод изучения его экологии: дис. ... канд. биол. наук. Тарту, 1981. 16 с.

Баранова Т. Д., Бернер М. Сравнительные результаты изучения структуры отолитов трески из различных районов Балтики // Fischerei-Forschung. 1984. № 3. С. 59–67.

Брюзгин В. Л. Методы изучения роста рыб по чешуе, костям и отолитам. Киев: Наукова думка, 1969. 187 с.

Винников А. В., Давыденко В. А. К вопросу о популяционной структуре тихоокеанской трески *Gadus macrocephalus* Tilesius (Gadidae) прикамчатских и сопредельных вод по результатам отолитометрии // Исследования биологии и динамики численности промысловых рыб Камчатского шельфа. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 1998. Вып. 4. С. 33–38.

Вышегородцев А. А. Краткий словарь ихтиолога. Красноярск: КрасГУ, 2002. 230 с.

Дгебуадзе Ю. Ю. Экологические закономерности изменчивости роста рыб. М.: Наука, 2001. 276 с.

Есипов В. К. Полярная камбала (*Liopsetta glacialis*) // Описание к Атласу промысловых рыб СССР. М.: Пищепромиздат, 1949. С. 730–732.

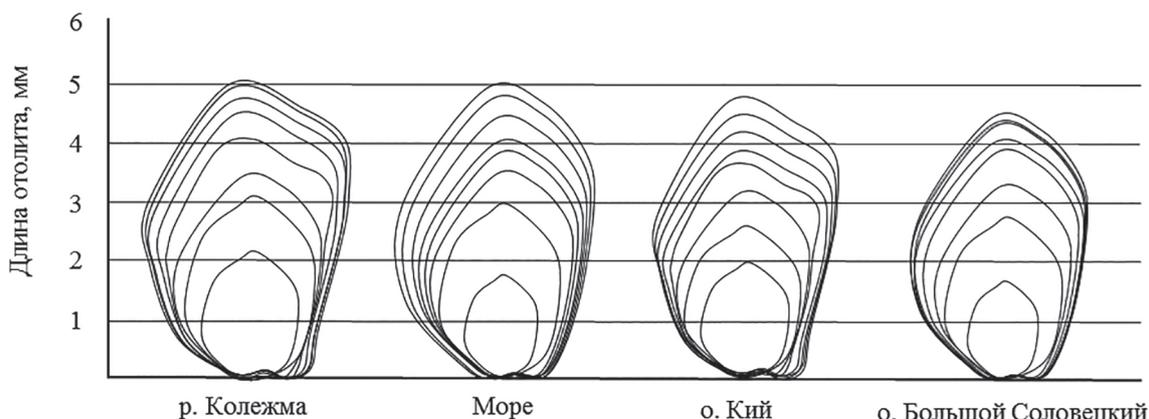


Рис. 6. Схема роста отолитов самок полярной камбалы в Белом море по районам

Fig. 6. The otolith growth pattern in females of the Arctic flounder in the White Sea by areas

Ефанов В. Н., Хоревин Л. Д. О возможности дифференциации популяций горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) по размерам ее отоликов // Вопросы ихтиологии. 1979. Т. 19, № 4. С. 734–737.

Зубова Е. М., Кашулин Н. А., Терентьев П. М. К методике расчисления темпа роста сига *Coregonus lavaretus* (L.) водоемов Северной Фенноскандии // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 9. С. 78–89. doi: 10.17076/lim387

Инструкции и методические рекомендации по сбору и обработке биологической информации в районах исследований ПИНРО. Мурманск: ПИНРО, 2001. 290 с.

Лакин Г. Ф. Биометрия. Учебное пособие для биол. спец. вузов, 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

Легенькая С. А. Возможности использования отолиметрии для выяснения популяционной структуры наваги // Известия ТИНРО. 1999. Т. 126. С. 271–275.

Лелесевич Н. А. Морфометрические характеристики различных типов отоликов северо-восточной арктической трески // Природа морской Арктики: современные вызовы и роль науки: тез. докл. междунар. науч. конф. / ММБИ КНЦ РАН. Апатиты, 2010. С. 132–134.

Мина М. В. Исследование зависимости между весом отолика (*sagitta*) и длиной особи в популяциях трески Баренцева и Белого морей // Биологические науки. 1967. Вып. 9(45). С. 26–31.

Мина М. В., Клевезаль Г. А. Рост животных (анализ на уровне организма). М., 1976. 292 с.

Мягих К. А., Коростелев С. Г. Оценка морфологических различий двухлинейной камбалы из Кроноцкого и Авачинского заливов методом отолиметрии // Тезисы докл. Всерос. конф. молодых ученых. Владивосток: ТИНРО-Центр, 2001. С. 37–38.

Орлов А. М., Афанасьев П. К. Отолиметрия как инструмент анализа популяционной структуры тихоокеанской трески *Gadus macrocephalus* (Gadidae, Teleostei) // Амурский зоологический журнал. 2013. Вып. 3. С. 327–331.

Пащенко В. М., Грицай Е. В. Географическая изменчивость морфологических признаков отоликов минтая // Изв. ТИНРО. 2001. Т. 128. С. 304–311.

Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром., 1966. 376 с.

Урбах Ю. В. Биометрические методы. М.: Наука, 1964. 415 с.

Фукс Г. В. Зависимость длины отолика от длины тела беломорской сельди (*Clupea pallasii marisalsbi*) // Арктика: экология и экономика. 2013. № 4. С. 81–83.

Фукс Г. В. Зависимость длины отолика от длины тела и возраста полярной камбалы *Liopsetta glacialis* юго-восточной части Баренцева моря // Морские биологические исследования: достижения и перспективы: Сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, к 145-летию Севастопольской биостанции. Севастополь, 2016. Т. 1. С. 320–322.

Фукс Г. В. Краткие результаты отолиметрии полярной камбалы Белого моря // Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов Бе-

лого моря: Материалы XIII Всерос. конф. с междунар. участием, к 60-летию Беломорской биостанции «Мыс Картеш» ЗИН РАН. СПб., 2017. С. 224–228.

Фукс Г. В. Результаты отолиметрии полярной камбалы Карской губы Карского моря // Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов мирового океана: Материалы V Междунар. науч.-техн. конф. Владивосток, 2018. С. 201–206.

Фукс Г. В. Результаты отолиметрии речной камбалы дельты р. Северная Двина // Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоемов: Тр. 2-й междунар. науч.-практ. конф. Калининград: КГТУ, 2014. С. 63–66.

Фукс Г. В., Семушин А. В. Максимальный возраст полярной камбалы *Liopsetta glacialis*, речной камбалы *Platichthys flesus* и ершоватки *Limanda limanda* в прибрежных водах Северного рыбохозяйственного бассейна // Изв. КГТУ. 2017. № 46. С. 47–59.

Фукс Г. В., Шилова Н. А. Применение методов математического моделирования для изучения роста полярной камбалы (*Liopsetta glacialis*) Белого моря // Arctic Environ. Res. 2017. Vol. 17, no. 2. P. 123–132. doi: 10.17238/issn2541-8416.2017.17.2.123

Чешева Э. А., Зимин А. В. Использование отолиметрии для выяснения популяционной структуры круглоног сардинеллы *Sardinella aurita* (Clupeidae) центрально-восточной Атлантики // Вопросы ихтиологии. 2004. Т. 44, № 5. С. 669–673.

Чугунова Н. И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М.: АН СССР, 1959. 164 с.

Шибяев С. В. Методы рыбохозяйственных исследований. Калининград, 1996. 27 с.

Шибяев С. В. Промысловая ихтиология. СПб.: Проспект науки, 2007. 400 с.

Aydin R., Calta M., Dursun S., Coban M. Z. Relationships between fish lengths and otolith length in the population of *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843) inhabiting Keban Dam Lake // Pakistan J. Biol. Sci. 2004. Vol. 7(9). P. 1550–1533. doi: 10.3923/pjbs.2004.1550.1553

Begg G. A., Brown R. W. Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis // Trans. Am. Fish. Soc. 2000. Vol. 129, no. 4. P. 935–945.

Begg G. A., Overholtz W. J., Munroe N. J. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on Georges Bank // Fish. Bull. 2001. Vol. 99, no. 1. P. 1–14.

Battaglia P., Malara D., Romeo T., Andaloro F. Relationships between otolith size and fish size in some mesopelagic and bathypelagic species from the Mediterranean Sea (Strait of Messina, Italy) // Scientia Marina. 2010. Vol. 74(3). P. 605–612. doi: 10.3989/scimar.2010.74n3605

Campana S. E., Thorrold S. R. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? // Can. J. Fish Aquat. Sci. 2001. Vol. 58. P. 30–38.

Castonguay M., Simard P., Gagnon P. Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) stock discrimination // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1991. Vol. 48, no. 2. P. 296–302.

Dehghani M., Kamrani E., Salarpouri A., Kamali E. Relationship between fish length and otolith dimensions

(length, width) and otolith weight of *Sardinella sindensis*, as index for environmental studies, Persian Gulf, Iran // J. Fisheries Livest. Prod. 2015. Vol. 3(2). P. 1–5. doi: 10.4172/2332-2608.1000134

Friedland K. D., Reddin D. G. Use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1994. Vol. 51, no. 1. P. 91–98.

Gerard T. L., Malca E. Silver nitrate staining improves visual analysis of daily otolith increments // J. Am. Sci. 2011. Vol. 7(1). P. 120–124.

Harvey J. T., Loughlin T. R., Perez M. A., Oxman D. S. Relationship between Fish Size and Otolith Length for 63 Species of Fishes from the Eastern North Pacific Ocean // NOAA Tech. Rep. NMFS. 2000. Vol. 150. 38 p.

ICES. Recruitment studies: Manual on precision and accuracy of tools. ICES Tech. Mar. Environ. Sci. 2004. Vol. 33. P. 38.

Jónsdóttir I. G., Campana S. E., Marteinsdóttir G. Otolith shape and temporal stability of spawning groups of Icelandic cod (*Gadus morhua* L.) // ICES J. Mar. Sci. 2006. Vol. 63. P. 1501–1512.

Mecklenburg C. W., Lynghammar A., Johannesen E., Byrkjedal I., Christiansen J. S., Dolgov A. V., Karamushko O. V., Mecklenburg T. A., Møller P. R., Steinke D., Wienerroither R. M. Marine fishes of the Arctic Region // Akureyri, Iceland, 2018. Vol. I. P. 1–454; vol. II. P. 455–739.

McFarlane G., Schweigert J., Hodes V., Detering J. Preliminary study on the use of polished otoliths in the age determination of Pacific sardine (*Sardinops sagax*) in British Columbia waters // Calif Coop. Ocean. Fish. Inv. Rep. 2010. Vol. 51. P. 162–168.

Mendoza R. P. R. Otoliths and their applications in fishery science // Ribarstvo. 2006. Vol. 64(3). P. 89–102.

Messieh S. N. Use of otoliths in identifying herring stocks in the southern Gulf of St. Lawrence and adjacent

waters // J. Fish. Res. Board Can. 1972. Vol. 29, no. 8. P. 1113–1118.

Orlov A. M., Abramov A. A., Stolyarova E. V. Use of otolithometry to determine Asian shorttraker rockfish population structure // Biology, Assessment, and Management of North Pacific Rockfishes. Alaska Sea Grant College Program. AK-SG-07–01. 2007. P. 207–221.

Stransky C., Murta A. G., Schlickeisen J., Zimmermann C. Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean // Fish. Res. 2008. Vol. 89. P. 159–166.

Seyfabadi J., Afshari M., Valinassab T. Note otolith morphology and body size relationships of *Nemipterus japonicus* (Bloch, 1791) in the northern Oman Sea // Indian J. Fish. 2014. Vol. 61(2). P. 112–117.

Svetocheva O., Stasenkov N., Fooks G. Guide to the bony fishes otoliths of the White Sea // IMR/PINRO Joint Rept. Ser. 2007. No. 3. 46 p.

Templemana W., Squires H. J. Relationship of otolith lengths and weights in the haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.), to the growth of the fish // J. Fish. Res. Board Can. 1956. Vol. 13. P. 467–487.

Trouth G. C. Otolith growth of the Barents Sea cod // Rapp. P-V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer. 1954. Vol. 150. P. 297–299.

Yaremko M. L. Age determination in Pacific sardine, *Sardinops sagax* // NOAA Tech Memo NMFS. 1996. 596 p.

Zan X. X., Zhang C., Xu B. D., Zhang C. L. Relationships between fish size and otolith measurements for 33 fish species caught by bottom trawl in Haizhou Bay China // J. Appl. Ichthyol. 2015. Vol. 31(3). P. 544–548. doi: 10.1111/jai.12751

Поступила в редакцию 27.08.2019

References

Andriyashev A. P., Chernova N. V. Annotirovannyi spisok ryboobraznykh i ryb morei Arktiki i sopredel'nykh vod [Annotated list of fish and fishes of the Arctic seas and adjacent waters]. *Voprosy ikhtiologii* [J. Ichthyology]. 1994. Vol. 34, no. 4. P. 435–456.

Aps R. A. Analiz stroeniya otolitov baltiiskogo shprotakak metod izucheniya ego ekologii [Analysis of the structure of the Baltic sprat otoliths as a method of studying its ecology]: DSc (Dr. of Biol.) thesis. Tartu, 1981. 16 p.

Baranova T. D., Berner M. Sravnitel'nye rezul'taty izucheniya struktury otolitov treski iz razlichnykh raionov Baltiki [Comparative results of the study of the structure of cod otoliths from different regions of the Baltic Sea]. *Fischerei-Forschung*. 1984. No. 3. P. 59–67.

Bryuzgin V. L. Metody izucheniya rosta ryb po cheshue, kostyam i otolitam [Techniques for studying growth in fish based on scales, bones and otoliths]. Kiev: Naukova dumka, 187 p.

Chugunova N. I. Rukovodstvo po izucheniyu vozrasta i rosta ryb [Guide to the study of age and growth of fish]. Moscow: AN SSSR, 1959. 164 p.

Dgebuadze Yu. Yu. Ekologicheskie zakonomernosti izmenchivosti rosta ryb [Ecological regularities of fish growth variability]. Moscow: Nauka, 2001. 276 p.

Efanov V. N., Khorevin L. D. O vozmozhnosti differentsiatsii populyatsii gorbushi *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) po razmeram ee otolitov [On the possibility of differentiation of populations of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) the size of its otoliths]. *Voprosy ikhtiologii* [J. Ichthyology]. 1979. Vol. 19, no. 4. P. 734–737.

Esipov V. K. Polyarnaya kambala (*Liopsetta glacialis*) [Arctic flounder]. *Opisanie k Atlasu promyslovykh ryb SSSR* [Description to the Atlas of commercial fish of the USSR]. Moscow: Pishchepromizdat, 1949. P. 730–732.

Fuks G. V. Zavisimost' dliny otolita ot dliny tela belomorskoi sel'di (*Clupea pallasii marisalbi*) [Dependence of the length of otolith on the body length of White Sea herring (*Clupea pallasii marisalbi*)]. *Arktika: ekologiya i ekonomika* [The Arctic: Ecology and Economy]. 2013. No. 4. P. 81–83.

Fuks G. V. Zavisimost' dliny otolita ot dliny tela i vozrasta polyarnoi kambaly *Liopsetta glacialis* yugo-vostochnoi chastei Barentseva morya [The dependence of the length of the otolith on the body length and age of the Arctic flounder *Liopsetta glacialis* of the southeastern Barents Sea]. *Morskoe biol. issled.: dostizheniya i perspektivy. Sb. mat. Vseross. naucho-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, k 145-letiyu Sevastopol'skoi*

biol. stantsii [Sea biol. research: progress and prospects. Proceed. All-Russ. sci. pract. conf. with int. part. dedicated to 145th anniv. Sevastopol biol. station]. Sevastopol'. 2016. Vol. 1. P. 320–322.

Fuks G. V. Kratkie rezul'taty otolitometrii polyarnoi kambaly Belogo morya [Brief results of otolithometry of the polar flounder in the White Sea]. *Izuch., ratsional'noe ispol'zovanie i okhrana prirod. resursov Belogo morya: Mat. XIII Vseros. konf. s mezhdunar. uch., k 60-letiyu Belomorskoj biostantsii "Mys Kartesh" ZIN RAN* [Study, rational use and protection of natural resources of the White Sea: Proceed. XIII All-Russ. conf. with int. part. dedicated the 60th anniv. of the White Sea biostation 'Cape Kartesh', ZIN RAS]. SPb., 2017. P. 224–228.

Fuks G. V. Rezul'taty otolitometrii polyarnoi kambaly Karskoi guby Karskogo moray [The results of otolithometry of the polar flounder of the Kara Bay of the Kara Sea]. *Aktual'nye probl. osvoeniya biol. resursov mirovogo okeana: Mat. V Mezhdunar. nauch.-tekhn. konf.* [Topical problems of biological resources development of the oceans: Proceed. V Int. sci. and tech. conf.]. Vladivostok, 2018. P. 201–206.

Fuks G. V. Rezul'taty otolitometrii rechnoi kambaly del'ty r. Severnaya Dvina [The results of otolithometry of the river flounder of the delta r. Severnaya Dvina]. *Vodnye bioresursy, akvakul'tura i ekol. vodoemov: Tr. 2-i mezhdunar. nauch.-prakt. konf.* [Aquatic bioresources, aquaculture and ecology of reservoirs: Proceed. 2nd int. scientific-pract. conf.]. Kaliningrad: KGTU, 2014. P. 63–66.

Fuks G. V., Semushin A. V. Maksimal'nyi vozrast polyarnoi kambaly *Liopsetta glacialis*, rechnoi kambaly *Platichthys flesus* i ershovatki *Limanda limanda* v pribrezhnykh vodakh Severnogo rybokhozyaistvennogo basseina [Maximum age of Arctic flounder *Liopsetta glacialis*, European flounder *Platichthys flesus* and dab *Limanda limanda* in the coastal waters of the Northern fishery basin]. *Izv. Kaliningr. gos. tekhn. un-ta* [Proceed. KSTU]. 2017. No. 46. P. 47–59.

Fuks G. V., Shilova N. A. Primenenie metodov matematicheskogo modelirovaniya dlya izucheniya rosta polyarnoi kambaly (*Liopsetta glacialis*) Belogo morya [Application of methods of mathematical modeling for studying the growth of Arctic flounder (*Liopsetta glacialis*) in the White Sea]. *Arctic Envir. Res.* 2017. Vol. 17, no. 2. P. 123–132. doi: 10.17238/issn2541–8416.2017.17.2.123

Instruktsii i metodicheskie rekomendatsii po sboru i obrabotke biologicheskoi informatsii v raionakh issledovaniya PINRO [Instructions and guidelines for the collection and processing of biological information in PINRO research areas]. Murmansk: PINRO, 2001. 290 p.

Lakin G. F. Biometriya [Biometrics]. A study guide for biology students. 4th ed., updated and revised. Moscow: Vyssh. shkola, 1990. 352 p.

Legen'kaya S. A. Vozmozhnosti ispol'zovaniya otolitometrii dlya vyyasneniya populyatsionnoi struktury navagi [The possibility of using otolithometry to determine the population structure of navaga]. *Izv. TINRO* [Proceed. Pacific Branch of the Russ. Federal Research Inst. of Fisheries and Oceanography (TINRO)]. 1999. Vol. 126. P. 271–275.

Lepesevich N. A. Morfometricheskie kharakteristiki razlichnykh tipov otolitov severo-vostochnoi arkticheskoi treski [Morphometric characteristics of different types

of otoliths of the North-Eastern Arctic cod]. *Priroda morskoi Arktiki: sovr. vyzovy i rol' nauki: tez. dokl. Mezhdunar. nauch. konf.* [Nature of the marine Arctic: Current challenges and the role of science. Abs. int. conf.]. Apacity: KNTs RAN, 2010. P. 132–134.

Mina M. V. Issledovanie zavisimosti mezhdu vesom otolita (sagitta) i dlinoi osobi v populyatsiyakh treski Barentseva i Belogo morei [The dependence between the weight of otolith (sagitta) and the length of the individual in the cod population of the Barents and White Seas]. *Biol. nauki* [Biol. Sci.]. 1967. Iss. 9(45). P. 26–31.

Mina M. V., Klevezal' G. A. Rost zhivotnykh (analiz na urovne organizma) [The animals' growth (analysis on the level of the body)]. Moscow, 1976. 292 p.

Myagkikh K. A., Korostelev S. G. Otsenka morfologicheskikh razlichii dvukhlineinoi kambaly iz Kronotskogo i Avachinskogo zalivov metodom otolitometrii [Assessment of morphological differences of the bilinear flounder from the Kronotsky and Avachinsky Gulfs with the use of the otolithometry method]. *Tez. dokl. Vseros. konf. molod. uchenykh* [Abs. All-Russ. conf. of young scientists]. Vladivostok: TINRO-Tsentr, 2001. P. 37–38.

Orlov A. M., Afanas'ev P. K. Otolitometriya kak instrument analiza populyatsionnoi struktury tikhookeanskoj treski *Gadus macrocephalus* (Gadidae, Teleostei) [Otolithometry as a tool for analysis of population structure of the Pacific cod *Gadus macrocephalus* (Gadidae, Teleostei)]. *Amurskii zool. zhurn.* [The Amurian Zool. J.]. 2013. Iss. 3. P. 327–331.

Pashchenko V. M., Gritsai E. V. Geograficheskaya izmenchivost' morfologicheskikh priznakov otolitov mintaya [Geographical variability of morphological features of the otolith of the Alaska Pollock]. *Izvestiya TINRO* [Proceed. Pacific Branch of the Russ. Federal Research Inst. of Fisheries and Oceanography (TINRO)]. 2001. Vol. 128. P. 304–311.

Pravdin I. F. Rukovodstvo po izucheniyu ryb [Fish study guide]. Moscow: Pishch. prom., 1966. 376 p.

Shibaev S. V. Metody rybokhozyaistvennykh issledovaniy [Methods of fisheries research]. Kaliningrad, 1996. 27 p.

Shibaev S. V. Promyslovaya ikhtiologiya [Industrial ichthyology]. St. Petersburg: Prospekt nauki, 2007. 400 p.

Urbakh Yu. V. Biometricheskie metody [Biometric methods]. Moscow: Nauka, 1964. 415 p.

Vinnikov A. V., Davydenko V. A. K voprosu o populyatsionnoi strukture tikhookeanskoj treski *Gadus macrocephalus* Tilesius (Gadidae) prikamchatskikh i sopredel'nykh vod po rezul'tatam otolitometrii [To the question of population structure of the Pacific cod *Gadus macrocephalus* Tilesius (Gadidae) in the Kamchatka and adjacent waters according to the results of otolithometry]. *Issled. biol. i dinamiki chislennosti promyslovykh ryb Kamchatskogo shel'fa* [Study of biol. and population dynamics of commercial fish of the Kamchatka shelf]. Petropavlovsk-Kamchatskii: KamchatNIRO, 1998. Iss. 4. P. 33–38.

Vyshegorodtsev A. A. Kratkii slovar' ikhtiologa [A brief dictionary of the ichthyologist]. Krasnoyarsk: KrasGU, 2002. 230 p.

Zubova E. M., Kashulin N. A., Terent'ev P. M. K metodike raschisleniya tempa rosta siga *Coregonus lavaretus* (L.) vodoemov severnoi Fennoskandii [To the method

of growth rate back-calculation of whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) in reservoirs of Northern Fennoscandia]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2016. No. 9. P. 78–89. doi: 10.17076/lim387

Aydin R., Calta M., Dursun S., Coban M. Z. Relationships between fish lengths and otolith length in the population of *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843) inhabiting Keban Dam Lake. *Pakistan J. Biol. Sci.* 2004. Vol. 7(9). P. 1550–1533. doi: 10.3923/pjbs.2004.1550.1553

Begg G. A., Brown R. W. Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2000. Vol. 129, no. 4. P. 935–945.

Begg G. A., Overholtz W. J., Munroe N. J. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on Georges Bank. *Fish. Bull.* 2001. Vol. 99, no. 1. P. 1–14.

Battaglia P., Malara D., Romeo T., Andaloro F. Relationships between otolith size and fish size in some mesopelagic and bathypelagic species from the Mediterranean Sea (Strait of Messina, Italy). *Scientia Marina*. 2010. Vol. 74(3). P. 605–612. doi: 10.3989/scimar.2010.74n3605

Campana S. E., Thorold S. R. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2001. Vol. 58. P. 30–38.

Castonguay M., Simard P., Gagnon P. Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) stock discrimination. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1991. Vol. 48, no. 2. P. 296–302.

Dehghani M., Kamrani E., Salarpouri A., Kamali E. Relationship between fish length and otolith dimensions (length, width) and otolith weight of *Sardinella sindensis*, as index for environmental studies, Persian Gulf, Iran. *J. Fish. Livestock Prod.* 2015. Vol. 3(2). P. 1–5. doi: 10.4172/2332–2608.1000134

Friedland K. D., Reddin D. G. Use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (*Salmosalar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994. Vol. 51, no. 1. P. 91–98.

Gerard T. L., Malca E. Silver nitrate staining improves visual analysis of daily otolith increments. *J. Am. Sci.* 2011. Vol. 7(1). P. 120–124.

Harvey J. T., Loughlin T. R., Perez M. A., Oxman D. S. Relationship between Fish Size and Otolith Length for 63 Species of Fishes from the Eastern North Pacific Ocean. *NOAA Tech. Rep. NMFS*. 2000. Vol. 150. 38 p.

ICES. Recruitment studies: Manual on precision and accuracy of tools. *ICES Tech. Mar. Environ. Sci.* 2004. Vol. 33. P. 38.

Jónsdóttir I. G., Campana S. E., Marteinsdóttir G. Otolith shape and temporal stability of spawning groups

of Icelandic cod (*Gadus morhua* L.). *ICES J. Mar. Sci.* 2006. Vol. 63. P. 1501–1512.

Mecklenburg C. W., Lynghammar A., Johannesen E., Byrkjedal I., Christiansen J. S., Dolgov A. V., Karamushko O. V., Mecklenburg T. A., Møller P. R., Steinke D., Wienerroither R. M. Marine fishes of the Arctic Region. Akureyri, Iceland, 2018. Vol. I. P. 1–454; vol. II. P. 455–739.

McFarlane G., Schweigert J., Hodes V., Detering J. Preliminary study on the use of polished otoliths in the age determination of Pacific sardine (*Sardinops sagax*) in British Columbia waters. *Calif Coop. Ocean. Fish. Invest Rep.* 2010. Vol. 51. P. 162–168.

Mendoza R. P. R. Otoliths and their applications in fishery science. *Ribarstvo*. 2006. Vol. 64(3). P. 89–102.

Messiah S. N. Use of otoliths in identifying herring stocks in the southern Gulf of St. Lawrence and adjacent waters. *J. Fish. Res. Board Can.* 1972. Vol. 29, no. 8. P. 1113–1118.

Orlov A. M., Abramov A. A., Stolyarova E. V. Use of otolithometry to determine Asian shorttraker rockfish population structure. *Biology, Assessment, and Management of North Pacific Rockfishes. Alaska Sea Grant College Program*. AK-SG-07–01. 2007. P. 207–221.

Seyfabadi J., Afshari M., Valinassab T. Note otolith morphology and body size relationships of *Nemipterus japonicus* (Bloch, 1791) in the northern Oman Sea. *Indian J. Fish.* 2014. Vol. 61(2). P. 112–117.

Stransky C., Murta A. G., Schlickeisen J., Zimmermann C. Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. *Fish. Res.* 2008. Vol. 89. P. 159–166.

Svetocheva O., Stasenkova N., Fooks G. Guide to the bony fishes otoliths of the White Sea. *IMR/PINRO Joint Rept. Ser.* 2007. No. 3. 46 p.

Templemana W., Squires H. J. Relationship of otolith lengths and weights in the haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.), to the growth of the fish. *J. Fish. Res. Board. Can.* 1956. Vol. 13. P. 467–487.

Trouth G. C. Otolith growth of the Barents Sea cod. *Rapp. P.-V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.* 1954. Vol. 150. P. 297–299.

Yaremko M. L. Age determination in Pacific sardine, *Sardinops sagax*. *NOAA Tech Memo NMFS*. 1996. 596 p.

Zan X. X., Zhang C., Xu B. D., Zhang C. L. Relationships between fish size and otolith measurements for 33 fish species caught by bottom trawl in Haizhou Bay China. *J. Appl. Ichthyol.* 2015. Vol. 31(3). P. 544–548. doi: 10.1111/jai.12751

Received August 27, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Фукс Геннадий Валериевич

старший специалист
Полярный филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии
ул. Урицкого, 17, Архангельск, Россия, 163002
эл. почта: fuks@pinro.ru
тел.: (8182) 633837

CONTRIBUTOR:

Fuks, Gennady

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Polar Branch
17 Uritskogo St., 163002 Arkhangelsk, Russia
e-mail: fuks@pinro.ru
tel.: (8182) 633837

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.1

ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

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

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

Исследовали влияние высоких температур (37 и 43 °С) на образование супероксид анион-радикала, пероксида водорода, активность супероксиддисмутазы (СОД) и накопление малонового диальдегида (МДА) в листьях пшеницы. Установлено, что действие на растения указанных температур вызывает в клетках листьев усиление продукции супероксид анион-радикала. Причем этот процесс развивался более активно под влиянием температуры 37 °С. Активность СОД в листьях проростков, находящихся при этой температуре, увеличивалась на 2–3-и сутки, а при температуре 43 °С она повышалась уже через 15 мин и продолжала возрастать до конца эксперимента. Действие температуры 43 °С также приводило к повышению образования пероксида водорода в листьях пшеницы, особенно явно это было выражено через двое и трое суток эксперимента. Кроме того, при температуре 43 °С было отмечено высокое содержание МДА, которое значительно превышало этот показатель в листьях проростков, подвергнутых действию температуры 37 °С. Сопоставление динамики образования АФК, активности СОД и содержания МДА с формированием устойчивости проростков при температуре 37 и 43 °С позволяет заключить, что в первом случае активные формы кислорода (АФК) могут рассматриваться не только как фактор повреждения биологических структур, но и как посредники в процессе активации приспособительных механизмов. Во втором случае (при температуре 43 °С) интенсивное образование АФК указывает на развитие деструктивных процессов, ведущих к повреждению и гибели растений.

Ключевые слова: пшеница; высокая температура; активные формы кислорода; супероксиддисмутазы; устойчивость.

I. A. Nilova, L. V. Topchieva, A. F. Titov. FORMATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN WHEAT LEAVES UNDER HIGH TEMPERATURES

The study dealt with the effect of high temperatures (37 and 43 °C) on the formation of superoxide anion radical, hydrogen peroxide, superoxide dismutase (SOD) activity and the accumulation of malondialdehyde (MDA) in wheat leaves. The exposure of plants to the said temperatures was found to promote superoxide anion radical production in leaf cells. This process developed more actively under the effect of the 37 °C temperature.

SOD activity in the leaves of seedlings exposed to this temperature increased on the 2nd and 3rd days, while and at 43 °C the rise started as soon as after 15 minutes of exposure and continued until the end of the experiment. Also, exposure to 43 °C promoted hydrogen peroxide formation in wheat leaves, and the rise was especially pronounced after two and three days of the experiment. Plants exposed to 43 °C also exhibited a high content of MDA, which was significantly higher than in the leaves of seedlings exposed to 37 °C. Having compared changes in the formation of ROS, SOD activity and MDA content with the development of resistance in the seedlings at 37 and 43 °C temperatures, we can conclude that in the first case, reactive oxygen species (ROS) can be considered not only as a damaging factor for biological structures, but also as mediators in the process of activating adaptive mechanisms. In the second case (43 °C), the intensive formation of ROS indicates the development of destructive processes, leading to plant damage and death.

Key words: wheat; high temperatures; reactive oxygen species; superoxide dismutase; resistance.

Введение

Известно, что в ответ на повышение температуры воздуха в клетках и тканях растений, как и у других организмов, происходит большое количество изменений, в том числе увеличивается образование активных форм кислорода (АФК) и возрастает активность ферментов антиоксидантной системы (АОС) [Полесская, 2007; Креславский, 2012; Шарова, 2016]. При этом если повышение температуры не достигает критического уровня, определенного для каждого вида (сорта, экотипа), то эти изменения, наряду с другими, могут приводить к росту устойчивости растений к этим условиям [Колупаев, Карпец, 2010]. Также установлено, что АФК в небольших концентрациях выступают в роли сигнальных молекул [Полесская, 2007; Колупаев, Карпец, 2010], что косвенно доказывают результаты исследования по применению антиоксидантов, таких как ионол, обработка которыми может даже препятствовать повышению устойчивости пшеницы [Kolupaev et al., 2008].

В высоких концентрациях АФК являются одной из причин повреждения клеток и тканей растения. В частности, чрезмерное образование АФК приводит к перекисному окислению липидов и значительным нарушениям в структурно-функциональной организации мембран [Kong et al., 2016; Khan et al., 2017]. Для защиты от негативного воздействия АФК у растений существует АОС, одним из ключевых элементов которой является фермент супероксиддисмутаза (СОД). Он относится к ферментам так называемого первого уровня защиты биологических структур от АФК [Apel, Hirt, 2004; Прадедова и др., 2011], катализируя дисмутацию супероксидного анион-радикала в пероксид водорода [Бараненко, 2006].

Однако имеющиеся в литературе данные о генерации АФК и активности различных ферментов АОС растений в условиях действия высоких температур неоднозначны. С одной стороны, установлено, что более устойчивыми к ним являются растения, обладающие высокой способностью к нейтрализации АФК, которая обеспечивается высокой активностью ферментов АОС [Almeselmani et al., 2009; Mansoor, Naqvi, 2013]. С другой стороны, известно, что обработка растений пероксидом водорода вызывает накопление мРНК белков теплового шока (БТШ) – *HSP17,6*, *HSP18,2* и двух цитозольных аскорбатпероксидаз – *APX1* и *APX2* [Volkov et al., 2006]. Но в присутствии аскорбиновой кислоты или ингибитора накопления АФК DPI (diphenyleneiodonium chloride) индукция синтеза мРНК этих генов резко снижается [Volkov et al., 2006].

Цель данного исследования – изучить образование супероксид анион-радикала и пероксида водорода, динамику активности фермента СОД и накопление малонового диальдегида (МДА) у недельных проростков пшеницы сорта Московская 39, подвергнутых действию высоких температур.

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 проростки переносили в климатическую камеру, где их подвергали воздействию

температуры 37 или 43 °С. При этом все прочие условия сохраняли без изменений. Продолжительность высокотемпературного воздействия составляла от 15 мин до 3 сут.

Образование супероксид анион-радикала определяли путем восстановления нитросинего тетразолия с образованием фиолетового преципитата формазана методом, описанным Джабсом с соавт. [Jabs et al., 1996]. Уровень продукции пероксида водорода оценивали с помощью метода, основанного на полимеризации 3,3-диаминобензидина при вступлении в контакт с пероксидом водорода в присутствии пероксидазы [Thordal-Christensen et al., 1997]. О результатах судили по размеру пятен, возникающих на первом листе проростков пшеницы и регистрируемых фотографически. Анализ фотографий проводили с помощью специальной программы ImageJ (Image Processing and Data Analysis in Java), предназначенной для изучения медико-биологических изображений. Об уровне накопления АФК судили по доле окрашенных областей, отнесенной к общей площади листа и выраженной в процентах.

Содержание малонового диальдегида (МДА) оценивали спектрофотометрически по накоплению продукта его реакции с тиобарбитуровой кислотой [Stewart, Bewley, 1980].

Общую активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли спектрофотометрически, по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия [Beauchamp, Fridovich, 1971]. Содержание белка анализировали методом Бредфорда [Bradford, 1976].

Повторность в пределах одного варианта 3–6-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. При исследовании активности СОД и накопления МДА о достоверности различий от исходного уровня судили по критерию Стьюдента при $p < 0,05$. При изучении образования супероксид анион-радикала и пероксида водорода оценку достоверности отличий от исходного уровня проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что воздействие на проростки пшеницы высоких температур 37 и 43 °С вызывало в клетках листьев усиление образования супероксид анион-радикала, о чем свидетельст-

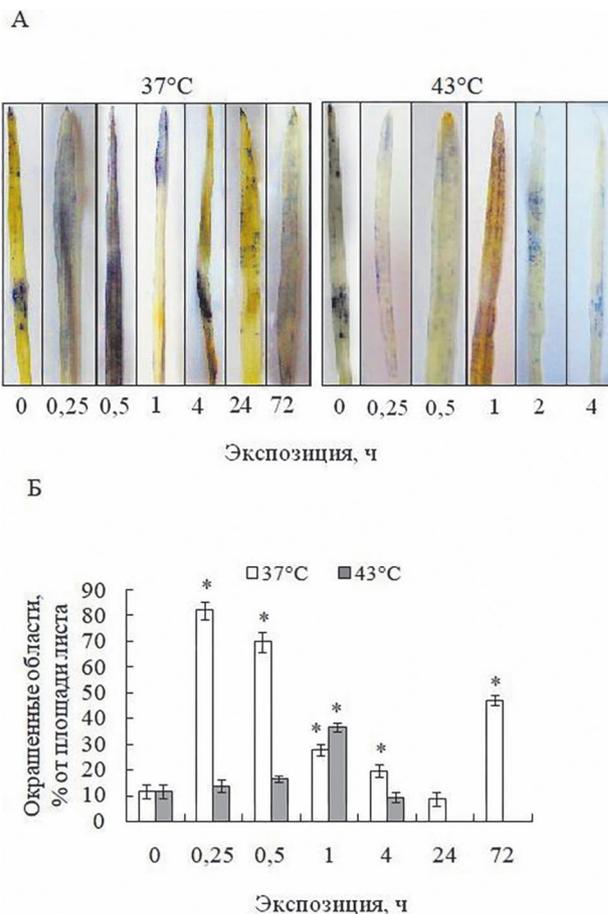


Рис. 1. Влияние температуры 37 и 43 °С на образование супероксид анион-радикала в листьях растений пшеницы с. Московская 39:

А – внешний вид, Б – площадь окрашенных областей листа (% от общей площади). Здесь и далее: * – отличия от исходного уровня статистически значимы при $p < 0,05$

Fig. 1. The effect of temperature of 37 and 43 °С on the formation of superoxide anion radical in the leaves of wheat, v. Moscow 39:

A – appearance, B – stained leaf area (% of the total area). Here and further: * – differences from baseline are statistically significant at $p < 0.05$

ует увеличение на поверхности листьев площади окрашенных областей с преципитатами формазана (рис. 1). Этот процесс развивался более интенсивно под влиянием температуры 37 °С, в то время как при 43 °С активизация накопления супероксид анион-радикала наблюдалась только через 1–2 ч с начала эксперимента. При продолжительном действии указанных температур (4 ч и более) зафиксировано уменьшение площади окрашенных областей. Это может быть связано с активной работой антиоксидантных ферментов [Полесская, 2007; Креславский, 2012; Шарова, 2016].

Ранее усиленное образование супероксид анион-радикала в разных частях и клеточных компартментах растений при действии высо-

ких неблагоприятных температур отмечали и другие авторы [Wang et al., 2014; Zhang et al., 2016; Nahar et al., 2017; Zhao et al., 2018]. Так, температура 40 °С, действующая на проростки пшеницы в течение 4 часов, вызывала повышенные образования такой формы АФК примерно в 4 раза [Zhang et al., 2016]. При этом интенсивность образования супероксид анион-радикала может зависеть не только от величины действующей температуры, но и от режима температурной обработки растений [Wang et al., 2014; Zhao et al., 2018].

Как следует из литературных данных, увеличение генерации супероксид анион-радикала способно индуцировать экспрессию ряда супероксид-чувствительных генов, в частности *WRKY30* [Scarpeci et al., 2008]. Поэтому усиление образования супероксид анион-радикала в начальный момент (15–30 мин) действия температуры 37 °С можно рассматривать как сигнальную составляющую каскада реакций, связанных с активизацией защитно-приспособительных механизмов растений.

Интересно, что в условиях действия температуры 37 °С наблюдалось снижение уровня пероксида водорода в листьях проростков по сравнению с исходным уровнем (рис. 2), что может быть обусловлено активацией ферментов, нейтрализующих пероксид водорода, таких как каталаза и пероксидаза [Полесская, 2007; Mei, Song, 2010]. Воздействие температуры 43 °С приводило к усилению продукции пероксида водорода в листьях растений, особенно явно это было выражено через двое и трое суток эксперимента. По данным литературных источников, содержание пероксида водорода, как правило, повышается в клетках разных тканей растений в ответ на действие высоких температур [Zhang et al., 2016; Nahar et al., 2017; Zhao et al., 2018]. Этот процесс может сопровождаться как усилением активности антиоксидантных ферментов, например каталазы [Zhang et al., 2016], так и ее снижением [Nahar et al., 2017; Zhao et al., 2018]. Вероятно, это может быть связано не только с интенсивностью прогрева, но и с его продолжительностью, а также спецификой ответных реакций растения или сорта.

Несмотря на то что пероксид водорода может выступать в роли сигнальной молекулы, участвующей в регуляции транскрипционной активности ряда генов стрессовых белков, в частности белков теплового шока [Volkov et al., 2006], он также способен оказывать разрушительное действие на все компартменты клетки и приводить к ингибированию роста и развития растений, и даже к их гибели [Gill, Tuteja, 2010;

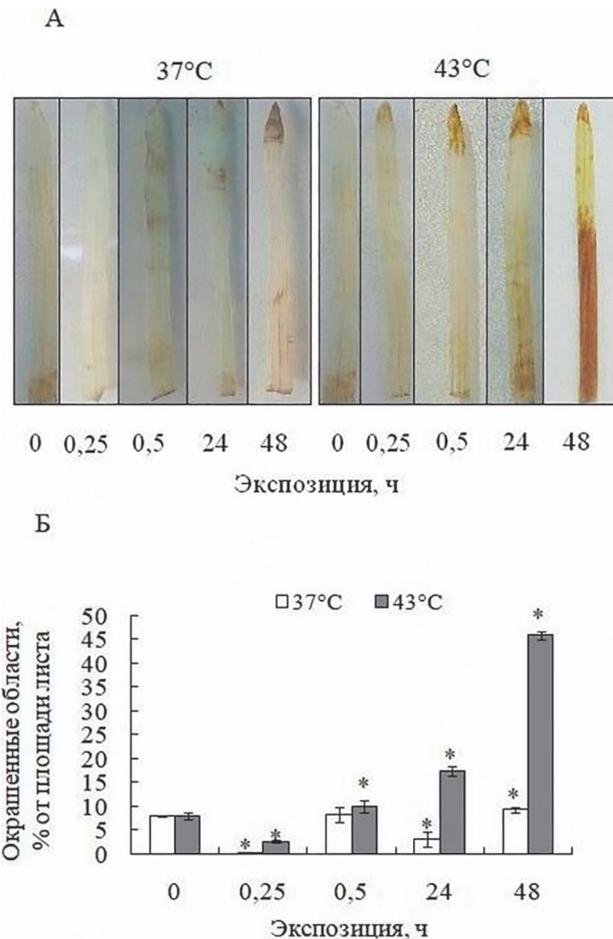


Рис. 2. Влияние температуры 37 и 43 °С на образование пероксида водорода в листьях растений пшеницы с. Московская 39:

А – внешний вид, Б – площадь окрашенных областей листа (% от общей площади)

Fig. 2. Effect of temperature of 37 and 43 °С on the formation of hydrogen peroxide in the leaves of wheat, v. Moscow 39:

A – appearance, B – stained leaf area (% of the total area)

Hossain et al., 2015]. В частности, в результате действия АФК и усиления перекисного окисления липидов происходит повреждение клеточных мембран. Очевидно, следствием этого явилось отмеченное нами увеличение содержания МДА в листьях проростков под влиянием температуры 43 °С, которое было существенно выше, чем при температуре 37 °С (табл.).

Накопление МДА в тканях растений при длительном (более 2 суток) или кратковременном (несколько часов) действии неблагоприятных высоких температур показано во многих работах [Wang et al., 2014; Zhang et al., 2016; Nahar et al., 2017; Zhao et al., 2018]. Важно, что его максимальный уровень повышается с ростом действующей температуры и зависит от сорта растений [Zhao et al., 2018]. Более того,

Влияние температуры 37 и 43 °С на содержание малонового диальдегида (МДА) в листьях растений пшеницы с. Московская 39 (в мкМ/г сырого веса)

The effect of temperature 37 and 43 °С on the content of malondialdehyde (MDA) in the leaves of wheat, v. Moscow 39 (in µm/g wet weight)

Экспозиция, ч Exposure, h	Температура, °С Temperature, °С	
	37	43
0	12,7 ± 1,7	12,7 ± 1,7
0,25	11,6 ± 1,0	12,9 ± 0,1
0,5	12,9 ± 2,0	13,3 ± 1,6
1	12,2 ± 1,2	12,8 ± 1,3
6	13,2 ± 0,1	21,4 ± 1,3
24	19,3 ± 1,7*	42,3 ± 1,9*
48	20,5 ± 0,5*	103,3 ± 8,0*

этот показатель, предположительно, связан с уровнем образования АФК. Например, у сортов риса, которые характеризовались разным уровнем продукции супероксид анион-радикала и перекиси водорода, отмечена существенная разница в содержании МДА [Zhao et al., 2018]. Так, чем выше была продукция АФК, тем больше образовывалось МДА.

Как уже отмечалось, для защиты клеток от АФК у растений функционирует АОС. В наших опытах установлено, что активность СОД в листьях проростков, находящихся при 37 °С, увеличивалась на 2-е и 3-и сут (рис. 3), а при температуре 43 °С она повышалась уже через 15 мин и продолжала возрастать до конца эксперимента (рис. 3).

Отметим, что имеющиеся в литературе данные, касающиеся активности разных антиоксидантных ферментов (включая СОД) у растений, испытывающих влияние высоких температур,

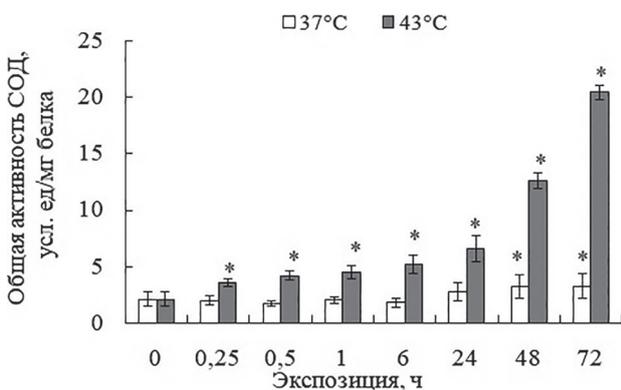


Рис. 3. Влияние температуры 37 и 43 °С на динамику общей активности СОД в листьях растений пшеницы с. Московская 39

Fig. 3. The effect of temperature 37 and 43 °С on the dynamics of the total SOD activity in the leaves of wheat plants, v. Moscow 39

неоднозначны. В зависимости от вида растений и продолжительности температурного воздействия активность ферментов АОС может как повышаться, так и понижаться [Mei, Song, 2010; Chakraborty, Pradhan, 2011]. Но у пшеницы в ответ на действие высоких температур чаще наблюдается повышение активности основных ферментов АОС – СОД, каталазы и пероксидазы [Kumar et al., 2012; Zhang et al., 2016].

Как было показано нами ранее [Нилова, Титов, 2014], растения пшеницы по-разному реагируют на прогрев при температуре 37 и 43 °С и в отношении индуцируемой у них теплоустойчивости. В частности, воздействие температуры 37 °С приводит к постепенному и стабильному повышению устойчивости клеток листьев к прогреву. В отличие от этого в условиях температуры 43 °С их теплоустойчивость в течение первых 2–4 часов возрастает, а затем быстро снижается, и в дальнейшем появляются внешние признаки необратимого повреждения проростков (засыхание листьев).

Возникает вопрос, связаны ли особенности формирования теплоустойчивости и, соответственно, защитно-приспособительные возможности растений пшеницы при этих высокотемпературных воздействиях с особенностями генерации АФК и активностью СОД? Поскольку при температуре 37 °С теплоустойчивость растений существенно возрастает, логично думать, что возникающие в этом случае нарушения в структуре мембран и других внутриклеточных компартментов являются обратимыми, так как растения с ними успешно справляются за счет активации защитно-приспособительных механизмов, в том числе и за счет усиления активности СОД.

Можно предположить, что при 43 °С высокая активность СОД в первоначальный момент также способна в определенной степени компенсировать повреждающие эффекты этой температуры, обусловленные усиленной генерацией супероксид анион-радикала. Но при ее более продолжительном действии (6 ч и более) защитные механизмы, в том числе и связанные с активацией компонентов АОС, видимо, уже не справляются с накапливаемыми нарушениями и/или повреждениями, и, как следствие, происходит необратимое повреждение клеток и тканей растения.

Таким образом, полученные нами результаты позволили выявить как количественные, так и качественные различия в генерации АФК и активности СОД в листьях растений пшеницы, подвергнутых воздействию температур 37 и 43 °С. Образование супероксид анион-радикала было более выражено при температуре 37,

чем при 43 °С, тогда как накопление пероксида водорода, напротив, шло активнее при 43 °С. Содержание МДА и активность фермента СОД также оказались значительно выше при 43 °С. На основании этих данных можно заключить, что при субповреждающих (закаливающих) температурах, вызывающих рост теплоустойчивости и не вызывающих у растений серьезных структурно-функциональных нарушений и/или повреждений (в нашем случае это температура 37 °С), АФК могут рассматриваться не только как факторы повреждения биологических структур, но и как посредники в процессе активации приспособительных механизмов. В отличие от этого при температурах, приводящих к необратимым повреждениям клеток и тканей (в нашем случае при 43 °С в течение 6 ч и более), интенсивное образование АФК, очевидно, является одной из главных причин повреждения и гибели растений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0074).

Литература

- Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48, № 6. С. 465–474.
- Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов. Киев: Основа, 2010. 350 с.
- Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов Вл. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физ. раст. 2012. Т. 59, № 2. С. 163–178.
- Нилова И. А., Титов А. Ф. Динамика теплоустойчивости проростков пшеницы в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 214–217.
- Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: учеб. пособие для студентов-биологов. М.: КДУ, 2007. 137 с.
- Прадедова Е. В., Ишеева О. Д., Салаяев Р. К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей клеток корнеплодов столовой свеклы // Физ. раст. 2011. Т. 58. С. 40–48.
- Шарова Е. И. Антиоксиданты растений: учеб. пособие. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2016. 140 с.
- Almeselmani M., Deshmukh P. S., Sairam R. K. High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defense enzymes // Acta Agro. Hung. 2009. Vol. 57(1). P. 1–14. doi: 10.1556/AAgr. 57.2009.1.1
- Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction // Annu. Rev. Plant Biol. 2004. Vol. 55. P. 373–399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
- Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide
- gels // Anal. Biochem. 1971. Vol. 44(1). P. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72(1–2). P. 248–254. doi: 10.1006/abio.1976.9999
- Chakraborty U., Pradhan D. High temperature-induced oxidative stress in *Lens culinaris*, role of antioxidants and amelioration of stress by chemical pre-treatments // J. Plant Interactions. 2011. Vol. 6, no. 1. P. 43–52. doi: 10.1080/17429145.2010.513484
- Gill S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. Biochem. 2010. Vol. 48. P. 909–930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Hossain M. A., Bhattacharjee S., Armin S.-M., Qian P., Xin W., Li H.-Y., Burritt D. J., Fujita M., Tran L.-S. P. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging // Front Plant Sci. 2015. Vol. 6. Art. 420. doi: 10.3389/fpls.2015.00420
- Jabs T., Dietrich R. A., Dangl J. L. Initiation of runaway cell death in an Arabidopsis mutant by extracellular superoxide // Science. 1996. Vol. 273. P. 1853–1856. doi: 10.1126/science.273.5283.1853
- Khan N. A., Khan S., Naz N., Shah M., Irfanullah, Ahmad S., Sher H., Khan A. Effect of heat stress on growth, physiological and biochemical activities of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Int. J. Biosci. 2017. Vol. 11(4). P. 173–183. doi: 10.12692/ijb/11.4.173-183
- Kolupaev Yu. Ye., Karpets Yu. V., Kosakivska I. V. The importance of reactive oxygen species in the induction of plant resistance to heat stress // Gen. Appl. Plant Physiol. 2008. Sp. Iss. 34(3–4). P. 251–266.
- Kong W., Liu F., Zhang Ch., Zhang J., Feng H. Non-destructive determination of malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging // Sci. Rep. 2016. Vol. 6: 35393. doi: 10.1039/srep35393
- Kumar R. R., Goswami S., Sharma S. K., Singh K., Gadpayle K. A., Kumar N., Rai G. K., Singh M., Rai R. D. Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein // IJPPB. 2012. Vol. 4(4). P. 83–91. doi: 10.5897/IJPPB12.008
- Mansoor S., Naqvi F. N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L) seedlings // AJB. 2013. Vol. 12(21). P. 3196–3203. doi: 10.5897/AJB12.2808
- Mei Y., Song S. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination // J. Zhejiang Univ. Sci. 2010. Vol. 11, no. 12. P. 965–972. doi: 10.1631/jzus.B1000147
- Nahar K., Hasanuzzaman M., Alam Md. M., Rahman A., Mahmud J.-A., Suzuki T., Fujita M. Insights into spermine-induced combined high temperature and drought tolerance in mung bean: osmoregulation and roles of antioxidant and glyoxalase system // Protoplasma. 2017. Vol. 254. P. 445–460. doi: 10.1007/s00709-016-0965-z

Scarpeci E. T., Zanor M. I., Valle E. M. Investigation the role of plant heat shock proteins during oxidative stress // *Plant Signal Behav.* 2008. Vol. 3. P. 856–857. doi: 10.4161/psb.3.10.6021

Stewart R. R. C., Bewley J. D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 245–248. doi: 10.1104/pp.65.2.245

Thordal-Christensen H., Zhang Z., Wei Y., Collinge D. B. Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction // *Plant J.* 1997. Vol. 11. P. 1187–1194. doi: 10.1046/j.1365-3113.1997.11061187.x

Volkov R. A., Panchuk I. I., Mullineaux Ph. M., Schoff F. Heat stress-induced H₂O₂ is require for effective expression of heat gene in Arabidopsis // *Plant Mol. Biol.* 2006. Vol. 61. P. 733–746. doi: 10.1007/s11103-006-0045-4

References

Baranenko V. V. Superoksidismutaza v kletkakh rastenii [Superoxide dismutase in plant cells]. *Tsitologiya* [Cell and Tissue Biol.]. 2006. Vol. 48, no. 6. P. 465–474.

Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V. Formirovanie adaptivnykh reaktsii rastenii na deistvie abioticheskikh stressov [Formation of adaptive reactions to abiotic stress]. Kiev: Osnova, 2010. 350 p.

Kreslavskii V. D., Los' D. A., Allakhverdiev S. I., Kuznetsov V. I. Signal'naya rol' aktivnykh form kisloroda pri stresse u rastenii [Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress]. *Fiz. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2012. Vol. 59, no. 2. P. 163–178.

Nilova I. A., Titov A. F. Dinamika teploustoichivosti prorstokov 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. KaRC RAS]. 2014. No. 5. P. 214–217.

Polesskaya O. G. Rastitel'naya kletka i aktivnye formy kisloroda: ucheb. posobie dlya studentov-biologov [Plant cell and reactive oxygen species: a study guide for biology students]. Moscow: KDU, 2007. 137 p.

Pradedova E. V., Isheeva O. D., Salyaev R. K. Fermenty antioksidantnoi zashchity vakuolei kletok korneplodov stolovoi svekly [Antioxidant defense enzymes in cell vacuoles of red beet roots]. *Fiz. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2011. No. 58. P. 40–48.

Sharova E. I. Antioksidanty rastenii: ucheb. posobie [Antioxidants of plants: a study guide]. St. Petersburg: SPbGU, 2016. 140 p.

Almeselmani M., Deshmukh P. S., Sairam R. K. High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defense enzymes. *Acta Agro. Hung.* 2009. Vol. 57(1). P. 1–14. doi: 10.1556/AAgr. 57.2009.1.1

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2004. Vol. 55. P. 373–399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701

Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide

Wang X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Wallenweber B., Jiang D. Multiple heat priming enhances thermo-tolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings // *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 74. P. 185–192. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.11.014

Zhang X., Zhou Q., Wang X., Cai J., Dai T., Cao W., Jiang D. Physiological and transcriptional analyses of induced post-anthesis thermo-tolerance by heat-shock pretreatment on germinating seeds of winter wheat // *Environ. Exp. Bot.* 2016. Vol. 131. P. 181–189. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.08.002

Zhao Q., Zhou L., Liu J., Cao Z., Du X., Huang F., Pan G., Cheng F. Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility // *Plant Cell Reports.* 2018. Vol. 37. P. 741–757. doi: 10.1007/s00299-018-2264-y

Поступила в редакцию 15.07.2019

gels. Anal. Biochem. 1971. Vol. 44(1). P. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72(1-2). P. 248–254. doi: 10.1006/abio.1976.9999

Chakraborty U., Pradhan D. High temperature-induced oxidative stress in *Lens culinaris*, role of antioxidants and amelioration of stress by chemical pre-treatments. *J. Plant Interact.* 2011. Vol. 6, no. 1. P. 43–52. doi: 10.1080/17429145.2010.513484

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

Hossain M. A., Bhattacharjee S., Armin S.-M., Qian P., Xin W., Li H.-Y., Burritt D. J., Fujita M., Tran L.-S. P. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. *Front Plant Sci.* 2015. Vol. 6. Art. 420. doi: 10.3389/fpls.2015.00420

Jabs T., Dietrich R. A., Dangl J. L. Initiation of runaway cell death in an Arabidopsis mutant by extracellular superoxide. *Science.* 1996. Vol. 273. P. 1853–1856. doi: 10.1126/science.273.5283.1853

Khan N. A., Khan S., Naz N., Shah M., Irfanullah, Ahmad S., Sher H., Khan A. Effect of heat stress on growth, physiological and biochemical activities of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int. J. Biosci.* 2017. Vol. 11(4). P. 173–183. doi: 10.12692/ijb/11.4.173-183

Kolupaev Yu. Ye., Karpets Yu. V., Kosakivska I. V. The importance of reactive oxygen species in the induction of plant resistance to heat stress. *Gen. Appl. Plant Physiology.* 2008. Special Iss. 34(3–4). P. 251–266.

Kong W., Liu F., Zhang Ch., Zhang J., Feng H. Non-destructive determination of malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6: 35393. doi: 10.1039/srep35393

Kumar R. R., Goswami S., Sharma S. K., Singh K., Gadpayle K. A., Kumar N., Rai G. K., Singh M., Rai R. D.

Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein. *IJPPB*. 2012. Vol. 4(4). P. 83–91. doi: 10.5897/IJPPB12.008

Mansoor S., Naqvi F. N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings. *AJB*. 2013. Vol. 12(21). P. 3196–3203. doi: 10.5897/AJB12.2808

Mei Y., Song S. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 2010. Vol. 11, no. 2. P. 965–972. doi: 10.1631/jzus.B1000147

Nahar K., Hasanuzzaman M., Alam Md. M., Rahman A., Mahmud J.-A., Suzuki T., Fujita M. Insights into spermine-induced combined high temperature and drought tolerance in mung bean: osmoregulation and roles of antioxidant and glyoxalase system. *Protoplasma*. 2017. Vol. 254. P. 445–460. doi: 10.1007/s00709-016-0965-z

Scarpeci E. T., Zanor M. I., Valle E. M. Investigation the role of plant heat shock proteins during oxidative stress. *Plant Signal Behav.* 2008. Vol. 3. P. 856–857. doi: 10.4161/psb.3.10.6021

Stewart R. R. C., Bewley J. D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 245–248. doi: 10.1104/pp.65.2.245

Thordal-Christensen H., Zhang Z., Wei Y., Collinge D. B. Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂

accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J.* 1997. Vol. 11. P. 1187–1194. doi: 10.1046/j.1365-313X.1997.11061187.x

Volkov R. A., Panchuk I. I., Mullineaux Ph. M., Schoff F. Heat stress-induced H₂O₂ is require for effective expression of heat gene in Arabidopsis. *Plant Mol. Biol.* 2006. Vol. 61. P. 733–746. doi: 10.1007/s11103-006-0045-4

Wang X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Wallenweber B., Jiang D. Multiple heat priming enhances thermo-tolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 74. P. 185–192. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.11.014

Zhang X., Zhou Q., Wang X., Cai J., Dai T., Cao W., Jang D. Physiological and transcriptional analyses of induced post-anthesis thermo-tolerance by heat-shock pretreatment on germinating seeds of winter wheat. *Environ. Exp. Bot.* 2016. Vol. 131. P. 181–189. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.08.002

Zhao Q., Zhou L., Liu J., Cao Z., Du X., Huang F., Pan G., Cheng F. Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility. *Plant Cell Reports*. 2018. Vol. 37. P. 741–757. doi: 10.1007/s00299-018-2264-y

Received July 15, 2019

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

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

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

CONTRIBUTORS:

Nilova, Irina

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

Topchieva, Lyudmila

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

Titov, Alexander

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

ЮБИЛЕИ И ДАТЫ

АЛЕКСАНДР ФЕДОРОВИЧ ТИТОВ (к 70-летию со дня рождения)



В 2019 году исполняется 70 лет Александру Федоровичу Титову – одному из ведущих ученых-исследователей Российской Федерации в области экологической физиологии растений.

Александр Федорович родился 22 декабря 1949 года в г. Петрозаводске. В 1967 году окончил 30-ю среднюю школу и поступил на биологический факультет Петрозаводского государ-

ственного университета. Свои первые научные исследования он начал в лаборатории генетики Института биологии КарНЦ РАН (в то время Карельский филиал АН СССР) под руководством д. б. н. Г. С. Олимпиенко (тогда к. б. н.), где были выполнены курсовые и дипломная работы. В 1972 году А. Ф. Титов с отличием окончил ПетрГУ и поступил в очную аспирантуру КарНЦ РАН по специальности «физиология растений» (научные руководители д. б. н. С. Н. Дроздов и д. б. н. Г. С. Олимпиенко). Учеба в аспирантуре завершилась в конце 1975 года, а в мае 1976 года он успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему «Морфофизиологический контроль в селекции овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.) на заморозкоустойчивость». С 1975 года Александр Федорович работает в лаборатории экологической физиологии растений Института биологии сначала в должности младшего научного сотрудника, затем (с 1978 г.) старшего научного сотрудника, а с 1986 года и по настоящее время возглавляет ее.

На протяжении всего периода научной деятельности (это 50 лет с учетом научной работы в студенческий период) основные научные интересы А. Ф. Титова связаны с изучением устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды, прежде всего к низким и высоким температурам, где он предложил интересные и важные гипотезы, не утратившие свое значение до настоящего времени. Так, в 1974 году им совместно с д. б. н. С. Н. Дроздовым и д. б. н. В. К. Курцом (тогда к. б. н.) была выдвинута «зональная гипотеза» влияния температуры на устойчивость активно вегетирующих растений, в со-

ответствии с которой весь диапазон температур, действующих на вегетирующие растения, предлагалось разделить на пять зон – фоновую, две субповреждающие (закаливающие) и две повреждающие, в которых температуры качественно по-разному влияют на устойчивость и ряд других физиолого-биохимических показателей и процессов. Данная гипотеза не только выявляла важнейшие закономерности варьирования устойчивости растений в зависимости от температуры окружающей среды, но и стала надежной методологической основой для планирования многих экспериментов в этой области, а также для трактовки получаемых результатов. В дальнейшем особое внимание Александра Федоровича было сфокусировано на изучении роли белоксинтезирующей системы в механизмах термоустойчивости растений, что позволило ему сформулировать в 1978 году молекулярно-генетическую гипотезу устойчивости, объясняющую основные принципы адаптивного ответа растений на действие неблагоприятных температур. Затем начались многолетние исследования, направленные на проверку данной гипотезы, а полученные экспериментальные данные были обобщены в форме докторской диссертации на тему «Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: закономерности варьирования и механизмы», успешно защищенной в 1989 году в диссертационном совете при Институте физиологии растений им. К. А. Тимирязева (г. Москва).

Уже тогда, в 1980-е годы, в процессе работы над докторской диссертацией А. Ф. Титов активно разрабатывал новые методические подходы. Например, использование комбинированного воздействия холодовых и тепловых закалок позволило доказать функциональную автономность генетических систем, контролирующих рост холодостойкости и теплоустойчивости при холодовом и тепловом закаливании растений (совместно с д. б. н. В. В. Талановой и к. б. н. С. П. Критенко). Разработка же нового методического подхода для изучения локального воздействия неблагоприятных температур на растения (совместно с к. б. н. Т. В. Акимовой, к. б. н. Н. И. Балагуровой и Н. И. Хилковым) дала возможность установить факт передачи сигнала о температурном воздействии из одних органов (частей) растения в другие. Использование метода наложения краткосрочных (секундных) закалок на длительное воздействие закаливающих температур на растения, а также опыты с применением ингибиторов белкового синтеза позволили доказать существование разных механизмов повыше-

ния устойчивости растений в первом и втором случае (совместно с д. б. н. В. В. Талановой и к. б. н. Т. В. Акимовой). Применение современных молекулярно-биологических методов исследований, в том числе метода ПЦР-РВ, позволило исследовать механизмы устойчивости растений к неблагоприятным температурам на молекулярно-генетическом уровне. В результате сотрудники лаборатории под руководством А. Ф. Титова (д. б. н. В. В. Таланова, к. б. н. Л. В. Топчиева, к. б. н. Н. С. Репкина, к. б. н. И. А. Нилова, к. б. н. А. А. Игнатенко) выявили целый ряд генов, повышение уровня экспрессии которых напрямую коррелирует с увеличением холодо- и теплоустойчивости, свидетельствуя об их непосредственном участии в холодовой и тепловой адаптации растений.

В последние годы А. Ф. Титов возглавляет также исследования физиолого-биохимических механизмов адаптации растений к ежесуточным кратковременным понижениям температуры (так называемым ДРОП-воздействиям), в результате которых сотрудники лаборатории (д. б. н. Т. Г. Шибаева, к. б. н. Е. Г. Шерудило, к. б. н. Е. Н. Икконен) доказали, что реакция растений на этот вид температурного воздействия является выработанным в процессе эволюции ответом на колебания температуры в суточном цикле в естественных условиях, который характеризуется отчетливо выраженной спецификой. В рамках исследований, посвященных воздействию на растения длительных фотопериодов, А. Ф. Титовым, совместно с д. б. н. Т. Г. Шибаевой, высказана гипотеза о возможных причинах появления у некоторых видов растений в условиях круглосуточного освещения хлороза листьев, который, в частности, может быть обусловлен наличием светочувствительного гена(-ов), появившегося вследствие мутаций, который в обычных условиях находится в супрессированном состоянии, но под влиянием непрерывного света в результате дерепрессии активируется.

С середины 90-х годов под руководством А. Ф. Титова проводятся исследования влияния, помимо температурного фактора, тяжелых металлов на растения. В результате сотрудниками лаборатории экологической физиологии растений (д. б. н. Н. М. Казниной, к. б. н. Г. Ф. Лайдинен, к. б. н. Ю. В. Батовой) обнаружен целый ряд механизмов устойчивости растений к повышенным концентрациям этих химических элементов в корнеобитаемой среде, а также выявлены виды растений местной флоры, способные произрастать при высоком уровне загрязнения ими окружающей среды, которые были рекомендованы для

фитостабилизации загрязненных тяжелыми металлами почв таежной зоны. Исследования отдельного и совместного действия низкой температуры и тяжелых металлов (совместно с д. б. н. В. В. Талановой и к. б. н. Н. С. Репкиной) позволили установить наличие у растений как общих (неспецифических), так и специфических реакций в ответ на действие стресс-факторов разной природы.

На протяжении многих лет не ослабевает интерес А. Ф. Титова к изучению роли в адаптации растений к неблагоприятным факторам внешней среды фитогормонов (ауксина, цитокининов, абсцизовой кислоты). В частности, на основании исследований, проведенных совместно с д. б. н. В. В. Талановой, к. б. н. Т. В. Акимовой и к. б. н. Л. В. Топчиевой, было высказано предположение, получившее затем экспериментальное подтверждение, что накопление в растительной клетке абсцизовой кислоты, которую в настоящее время называют гормоном стресса, при воздействии низких и высоких температур, засоления и тяжелых металлов может выступать в качестве одного из триггерных (пусковых) механизмов процесса формирования их устойчивости.

Работа сотрудников лаборатории высоко оценена коллегами, и в 1996 году ее коллектив был официально признан ведущей научной школой России по экологической физиологии растений, руководителем которой уже многие годы является А. Ф. Титов.

Совместно с сотрудниками лаборатории генетики ИБ КарНЦ РАН (к. б. н. О. Н. Лебедевой, к. б. н. Т. С. Николаевской, к. б. н. О. М. Федоренко) продолжают работы, начатые еще в 1970-е годы под руководством д. б. н. Г. С. Олимпиевко, по исследованию механизмов жизнеспособности и выживаемости популяций растений с температурозависимой депигментацией, направленные на определение роли супрессорных мутаций в поддержании адаптивного потенциала растений, сохраняющих высокий уровень естественного генетического груза. Обнаружено, что действие супрессорной системы сопровождается определенными компенсаторными и адаптивными эффектами, распространяющимися на большой спектр морфологических и физиологических признаков на разных этапах онтогенеза растений. При этом ген-супрессор лишь частично подавляет действие мутантного гена, что существенно отражается на уровне приспособленности растений с супрессированной хлорофиллдефектностью к неблагоприятным факторам внешней среды.

Многие годы продолжается сотрудничество А. Ф. Титова с коллегами из Института леса

КарНЦ РАН. В рамках этой работы совместно с д. б. н. Л. В. Ветчинниковой сформулирована эколого-генетическая гипотеза происхождения карельской березы, по-новому рассмотрен вопрос о границах ее ареала, проведена оценка состояния ресурсов карельской березы, высказана собственная позиция по дискуссионному вопросу, касающемуся таксономического статуса этого уникального представителя лесной дендрофлоры.

В целом по материалам исследований А. Ф. Титовым (самостоятельно и в соавторстве) опубликовано более 750 научных работ, в том числе 3 книги, 10 монографий, 6 учебных пособий, созданы и зарегистрированы 3 базы данных. Многочисленные статьи (около 400) Александра Федоровича опубликованы более чем в 40 российских и зарубежных журналах, среди которых такие авторитетные, как «Успехи современной биологии», «Успехи современной генетики», «Журнал общей биологии», «Известия РАН», «Доклады Академии наук», «Доклады РАСХН», «Физиология растений», «Генетика», «Цитология», «Онтогенез», «Экология», «Ботанический журнал», «Растительные ресурсы», «Сельскохозяйственная биология», «Journal of Experimental Botany», «Biologia Plantarum», «Acta Physiologiae Plantarum», «Biochemie and Physiologie der Pflanzen» и др.

В разные годы исследования, выполненные под руководством Александра Федоровича, поддерживались грантами международных и российских научных фондов (INTAS, РФФИ, РГНФ, Минобрнауки РФ), входили в программы фундаментальных научных исследований Президиума РАН и Отделения биологических наук РАН. Дважды (в 1994–1996 и 2000–2003 гг.) он удостоивался Государственной научной стипендии для выдающихся ученых России. Признанием научных заслуг А. Ф. Титова стало его избрание в 2003 г. членом-корреспондентом РАН по специальности «экологическая физиология растений» (по Отделению биологических наук РАН). В настоящее время он является вице-президентом Общества физиологов растений России и председателем Карельского отделения этого общества.

Многие годы А. Ф. Титов является редактором различных монографий, сборников научных статей и трудов научных конференций разного уровня. Он также бессменный главный редактор журнала «Труды Карельского научного центра РАН» (в организации которого принимал самое деятельное участие) и член редакционных советов журналов «Физиология растений», «Ученые записки Петрозаводского государственного университета» и «Известия

Коми научного центра Уральского отделения РАН».

Наряду с активной научно-исследовательской работой А. Ф. Титов уделяет большое внимание преподавательской деятельности и подготовке кадров высшей квалификации. Более 20 лет он возглавлял кафедру ботаники и методики преподавания биологии в Карельском государственном педагогическом институте (затем КГПА, КГПУ и сейчас ПетрГУ), где ежегодно читает лекции по курсу «физиология растений» и спецкурсу «экологическая физиология растений»; многие годы является членом Государственной аттестационной комиссии. В течение ряда лет Александр Федорович был председателем диссертационного совета по защите кандидатских диссертаций по специальности «физиология и биохимия растений» при Институте биологии КарНЦ РАН, а в период с 2003 по 2013 гг. – членом диссертационного совета по защите кандидатских и докторских диссертаций при КГПА по научным специальностям «биохимия» и «физиология». Под его руководством выполнены и успешно защищены 17 диссертаций (4 докторские и 13 кандидатских).

Научную и педагогическую работу А. Ф. Титов многие годы успешно сочетает с большой научно-организационной деятельностью. На протяжении 26 лет (с 1991 по 2017 гг.) он возглавлял Карельский научный центр РАН и внес большой вклад в его развитие. В этот период получили поддержку со стороны руководства Центра и активно развились многие важные научные направления: изучение ресурсного потенциала территорий нашей республики, разработка методов неистощительного природопользования, исследование биологического разнообразия, экологический мониторинг, изучение истории и культуры коренного населения Карелии, вопросы региональной экономики, а также проблемы международной и межрегиональной интеграции. Он является одним из организаторов региональных конкурсов РФФИ и РГНФ, которые на протяжении многих лет проводятся в Республике Карелия.

Как руководитель КарНЦ РАН А. Ф. Титов всегда уделял пристальное внимание вопросам развития и совершенствования научно-организационной структуры Центра. При его активном участии на базе соответствующих научных отделов созданы Институт экономики и Институт прикладных математических исследований. Значительно улучшены условия работы и материально-техническая база многих научных и научно-вспомогательных подразделений Центра (научной библиотеки, научного архива, редакционно-издательского отдела, автохозяйства и др.).

Будучи председателем КарНЦ РАН, Александр Федорович всегда уделял особое внимание развитию международного научного сотрудничества, прежде всего с научными организациями и университетами Финляндии, со многими из которых заключались и успешно реализовывались договоры о сотрудничестве; являлся инициатором и активным участником многих международных программ и проектов, научных мероприятий по вопросам природопользования, проблемам охраны окружающей среды и другим актуальным для нашего региона направлениям. В начале 1990-х годов он вместе с российскими и финскими коллегами (д. б. н. Е. П. Иешко, Р. Pelkonen, Т. Hokkanen, J. Aho) предложил концепцию создания Зеленого пояса Фенноскандии (ЗПФ) за счет объединения особо охраняемых природных территорий, расположенных в районах, прилегающих к российско-финляндской и российско-норвежской границам. Позднее был сформулирован экосистемный подход для установления границ ЗПФ (совместно с д. б. н. А. М. Крышенем, д. с.-х. н. А. Н. Громцевым, д. б. н. О. Л. Кузнецовым и др.). Концепция ЗПФ получила широкое признание среди ученых и специалистов и в настоящее время официально признана и закреплена в целом ряде международных и российских документов, связанных с вопросами экологии и охраны природы. В течение ряда лет А. Ф. Титов являлся членом Российско-Финляндской рабочей группы по охране природы при Министерстве природы и экологии России.

Многие годы в фокусе внимания А. Ф. Титова находятся вопросы популяризации науки, пропаганды ее достижений и повышения роли науки в жизни общества. Он постоянно выступает по этим вопросам в СМИ (это десятки статей и интервью), а также по вопросам истории науки в Карелии. В частности, он является инициатором и одним из авторов таких книг, как «Академическая наука в Карелии: 1946–2006 гг.» (в 2-х томах), «Карельский научный центр Российской академии наук: история и современность», «Карельский научный центр Российской академии наук: 1946–2016 гг.».

В течение длительного времени А. Ф. Титов, являясь внештатным советником Главы Республики Карелия по вопросам науки, стратегического развития и инновациям (1998–2010 и 2012–2017 гг.), принимал активное участие в подготовке документов, определяющих стратегию развития республики. В частности, он был одним из руководителей и активных участников группы разработчиков таких документов,

как «Доктрина развития Северо-Запада России», «Концепция социально-экономического развития Республики Карелия», «Стратегический план развития г. Петрозаводска». Вместе с д. э. н. Ю. В. Савельевым им предложена новая модель экономического развития северных регионов России. В разные годы Александр Федорович был заместителем председателя Межведомственного Северо-Западного координационного совета при РАН по фундаментальным и прикладным исследованиям, членом Совета по координации деятельности региональных отделений и региональных научных центров РАН, членом Научного совета РАН по вопросам регионального развития, Совета ректоров Республики Карелия, ряда ученых советов и коллегий министерств Республики Карелия, различных научно-экспертных советов и комиссий, принимая деятельное участие в работе этих органов. В настоящее время он – член Совета при Главе Республики Карелия по содействию развитию гражданского общества и правам человека, член Комиссии при Главе Республики Карелия по государственным наградам, член Совета ректоров Республики Карелия, член ряда ученых советов и коллегий министерств Республики Карелия, различных научно-экспертных советов, постоянных и временных комиссий и рабочих групп при республиканских органах власти.

В 2005 году А. Ф. Титов был избран в Общественную палату Российской Федерации (1-го созыва) от Северо-Западного федерального округа и в течение 2006–2007 гг. работал в ней в составе Комиссии по вопросам глобализма и национальной стратегии развития. В 2010–2014 гг. возглавлял Комиссию по образованию и науке в Общественной палате Республики Карелия. В 2017–2018 гг. он – руководитель Общественной палаты Республики Карелия. В 2017 г. Александр Федорович во второй раз избран в Общественную палату Российской Федерации 6-го созыва (2017–2020 гг.), где входит в состав Комиссии по развитию образования и науки. Помимо этого он также является Председателем Общественного совета при Министерстве экономического развития и промышленности Республики Карелия.

Активная научная, педагогическая, научно-организационная и общественная деятельность А. Ф. Титова была неоднократно отмечена наградами различного уровня, в том числе государственными: орденом Почета и орденом Дружбы. Он также удостоен почетных званий «Заслуженный деятель науки Республики Карелия», «Заслуженный деятель науки Российской Федерации», «Почетный работник высшего

профессионального образования Российской Федерации». Награжден Почетными грамотами Администрации Президента Российской Федерации, РАН, РАН и Профсоюза работников РАН, Республики Карелия, Законодательного Собрания Республики Карелия, Администрации г. Петрозаводска и многими другими.

Авторы и коллеги поздравляют Александра Федоровича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, неиссякаемой энергии, творческих успехов и реализации всех намеченных планов!

Н. М. Казнина, В. В. Таланова

СПИСОК ОСНОВНЫХ НАУЧНЫХ ТРУДОВ А. Ф. ТИТОВА

Справочные издания

- 2007.** Карелия: Энциклопедия в 3-х т. Петрозаводск: ПетроПресс. Т. 1, А – Й. 400 с. (Гл. ред.)
- 2009.** Карелия: Энциклопедия в 3-х т. Петрозаводск: ПетроПресс. Т. 2, К – П. 462 с. (Гл. ред.)
- 2011.** Карелия: Энциклопедия в 3-х т. Петрозаводск: ПетроПресс. Т. 3, Р – Я. 384 с. (Гл. ред.)
- 2012.** Ученые Карельского научного центра Российской академии наук: Биографический словарь. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 420 с. (Гл. ред.)
- 2015.** Ведущие ученые Карельского научного центра Российской академии наук: доктора наук. Краткий справочник. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 124 с. (Авт.-сост. совместно с Ю. А. Савватеевым.)

История науки

- 1997.** Академическая наука в Карелии. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 49 с. (Совместно с Ю. А. Савватеевым.)
- 2006.** Академическая наука в Карелии: 1946–2006: в 2-х т. М.: Наука. Т. 1. 175 с.; т. 2. 327 с. (Отв. ред.)
- Карельский научный центр Российской академии наук: история и современность (краткий исторический очерк). Петрозаводск: КарНЦ РАН. 158 с. (Совместно с Ю. А. Савватеевым.)
- 2016.** Карельский научный центр Российской академии наук: 1946–2016 гг. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 249 с. (Совместно с Ю. А. Савватеевым.)
- 2019.** Лаборатория экологической физиологии растений: 60 лет поисков и находок. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 55 с. (Совместно с Н. М. Казниной.)
- Кафедра ботаники КГПА: дорога длиною в жизнь. Петрозаводск: ПетрГУ. 53 с. (Совместно с Т. Г. Вороновой.)

Монографии

- 1982.** Генетические эффекты отбора у многолетних трав. Л.: Наука, 112 с. (Совместно с Г. С. Олимпиевко, Т. С. Николаевской.)
- 1984.** Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука, 168 с. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. К. Курцом.)

2006. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 143 с. (Совместно с Т. В. Акимовой, В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

2007. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 172 с. (Совместно с В. В. Талановой, Н. М. Казниной, Г. Ф. Лайдинен.)

2008. Стратегическое планирование развития периферийных территорий. Петрозаводск: Скандинавия. 160 с. (Совместно с Ю. В. Савельевым, И. Н. Шевчуком, А. А. Шишкиным.)

2009. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 206 с. (Совместно с В. В. Талановой.)

2011. Локальное действие высоких и низких температур на растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 166 с. (Совместно с В. В. Талановой.)

2012. Биологические особенности северных популяций многолетних злаков. Генетический груз и выживаемость. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 261 с. (Совместно с О. Н. Лебедевой, Т. С. Николаевской, О. Н. Федоренко.)

2013. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 312 с. (Совместно с Л. В. Ветчинниковой.)

2014. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 196 с. (Совместно с Н. М. Казниной, В. В. Талановой.)

Учебные и учебно-методические пособия

2011. Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам: учебно-методическое пособие. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 77 с. (Совместно с В. В. Талановой, Н. М. Казниной.)

2012. Устойчивость растений к кадмию (на примере семейства злаков): учебное пособие. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 55 с. (Совместно с Н. М. Казниной, В. В. Талановой.)

2013. Применение фиторегуляторов нового поколения в растениеводстве Северо-Запада России (на примере Карелии): Научно-методическое пособие. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 78 с. (Совместно с Н. П. Будыкиной.)

Практикум по курсу «Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам»: Учебно-методическое пособие. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 63 с. (Совместно с В. В. Талановой, Н. М. Казниной.)

Брассиностероиды: Учебное пособие. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 58 с. (Совместно с Т. Г. Шибаевой.)

2018. Карельская береза: биологические особенности и способы размножения: Учебно-методическое пособие. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 51 с. (Совместно с Л. В. Ветчинниковой, Т. Ю. Кузнецовой.)

Статьи в ведущих российских журналах

1975. Изопероксидазы растений // Успехи современной биологии. Т. 80, № 1.

1978. Генетика растительных изоферментов // Там же. Т. 85, № 3.

О возможной селективной ценности температурочувствительных хлорофильных мутаций у овсяницы луговой // Журнал общей биологии. Т. 39, № 4. (Совместно с Г. С. Олимпиевко, Н. А. Павловой.)

Полиморфизм ферментных систем и устойчивость растений к экстремальным (низким) температурам // Успехи современной биологии. Т. 85, № 1.

1979. Температурочувствительные хлорофильные мутации у высших растений // Там же. Т. 87, № 1.

1980. О зависимости между уровнем индуцированной холодоустойчивости и функциональной активностью 70S рибосом у овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.) // Журнал общей биологии. Т. 41, № 3. (Совместно с З. Ф. Сычевой, С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, В. А. Васюковой.)

О методах оценки холодоустойчивости растений огурца // Физиология растений. Т. 27, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, С. П. Критенко.)

1981. Влияние специфических ингибиторов транскрипции и трансляции на способность проростков огурца к холодовому и тепловому закаливанию // Там же. Т. 28, № 4. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко.)

Количественная оценка эффектов хлорамфеникола на экспрессию некоторых морфофизиологических признаков у проростков огурца // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 13, № 3. (Совместно с В. В. Талановой.)

О терморезистентности проростков огурца и градации температурной шкалы // Физиология растений. Т. 28, № 6. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, С. П. Критенко.)

1982. Влияние специфических ингибиторов транскрипции и трансляции на холодовое и тепловое закаливание растений томата // Там же. Т. 29, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым.)

Дыхательный газообмен листьев огурцов и томатов в зависимости от температуры // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 14, № 6. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой, В. В. Талановой.)

К вопросу о функциональной автономности систем, контролирующей закаливание теплолюбивых растений к холоду и теплу // Доклады АН СССР. Т. 263, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, С. П. Критенко.)

1983. Влияние хлорамфеникола на холодо- и теплоустойчивость растений на свету и в темноте // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 15, № 3. (Совместно с С. П. Критенко.)

О роли специфических и неспецифических реакций в процессах термоадаптации активно вегетирующих растений // Физиология растений. Т. 30, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко, В. В. Талановой.)

Энергетические реакции хлоропластов при холодом закаливании пшеницы и ингибировании белкового синтеза // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 15, № 4. (Совместно с В. Л. Шмелевой, С. П. Критенко.)

1984. Физиологическая адаптация огурцов и томатов к холоду и повышенным температурам // Там

же. Т. 16, № 6. (Совместно с Т. В. Акимовой, В. В. Талановой, С. П. Критенко.)

1985. Влияние абсцизовой кислоты на устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам // Физиология растений. Т. 32, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, С. П. Критенко.)

Влияние хлорамфеникола и циклогексимида на холодоустойчивость растений и активность эндогенных ауксинов и ингибиторов роста // Там же. Т. 32, № 6. (Совместно с Р. И. Волковой, С. П. Критенко.)

Влияние цитокинина на устойчивость растений к низким и высоким температурам // Там же. Т. 32, № 4. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой.)

Динамика РНК-полимеразной активности при адаптации растений к низким и высоким температурам и их реадaptации // Там же. (Совместно с С. П. Критенко, Г. В. Новиковой, О. Н. Кулаевой.)

1986. Влияние цитокининов на холодо- и теплоустойчивость активно вегетирующих растений // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 18, № 1. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко, В. В. Талановой, Е. Г. Шерудило.)

Реакция теплолюбивых растений на действие повышенных температур: динамика тепло- и холодоустойчивости // Журнал общей биологии. Т. 47, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой, В. В. Талановой.)

1987. Влияние актиномицина Д и циклогексимида на процесс адаптации сои к высокой температуре // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 19, № 2. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

Исследование реакции растений сои на действие температуры. Границы температурных зон // Физиология растений. Т. 34, № 2. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой, В. В. Талановой.)

О механизмах повышения теплоустойчивости растений при краткосрочном и длительном действии высоких температур // Там же. Т. 34, № 1. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

1988. Изменения теплоустойчивости проростков томата при комбинировании краткосрочных и длительных закалок // Там же. Т. 35, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

1989. Влияние циклогексимида и хлорамфеникола на активность эндогенных ауксинов и ингибиторов роста при тепловой закалке растений // Там же. Т. 36, № 2. (Совместно с Р. И. Волковой, С. П. Критенко.)

Действие экзогенных гормонов и ингибиторов синтеза белка при повреждающих растениях томатов низких и высоких температурах // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 21, № 1 (Совместно с В. В. Талановой.)

Особенности начального периода холодовой и тепловой адаптации растений (феноменологический аспект) // Физиология растений. Т. 36, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, И. В. Крупновой.)

1990. Влияние абсцизовой кислоты и цитокинина на биосинтез белка при холодовой и тепловой

адаптации растений // Там же. Т. 37, № 1. (Совместно с С. П. Критенко.)

Динамика содержания абсцизовой и индолилуксусной кислот в листьях огурца при тепловой адаптации // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 22, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, Г. Р. Кудояровой.)

Степень подавления процессов тепловой и холодовой адаптации растений ингибиторами синтеза РНК и белка при различных закалывающих температурах // Там же. Т. 22, № 4. (Совместно с Е. Г. Шерудило.)

1991. Возможность передачи «сигнала» тепловой закалки в растении // Физиология растений. Т. 38, № 6. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

Изменения в системе ауксинов в начальный период теплового и холодового закалывания вегетирующих растений // Там же. Т. 38, № 3. (Совместно с Р. И. Волковой, В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым.)

Изменение уровня эндогенной абсцизовой кислоты в листьях растений под влиянием холодовой и тепловой закалки // Там же. Т. 38, № 5. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

1992. Влияние экзогенного ауксина на динамику холодоустойчивости вегетирующих растений в начальный период холодовой адаптации // Там же. Т. 39, № 5. (Совместно с Р. И. Волковой.)

Формирование устойчивости в начальный период закалывания растений при действии ингибиторов белкового синтеза и цитокинина // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 24, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, И. В. Крупновой.)

1993. Раздельное и комбинированное действие засоления и закалывающих температур на растения // Физиология растений. Т. 40, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, С. В. Минаевой, С. Е. Солдатовым.)

1994. Влияние локального прогрева на теплоустойчивость клеток листа и корня проростков пшеницы // Там же. Т. 41, № 5. (Совместно с Н. И. Балагуровой, Т. В. Акимовой.)

Сравнительное изучение реакции растений на действие высоких закалывающих и повреждающих температур // Там же. Т. 41, № 3. (Совместно с Т. В. Акимовой, Л. В. Топчиевой.)

1995. Влияние ионов свинца на рост проростков пшеницы, ячменя и огурца // Там же. Т. 42, № 3. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой, С. В. Минаевой, С. Е. Солдатовым.)

Динамика содержания абсцизовой кислоты в листьях проростков огурца и ячменя при высоких закалывающих и повреждающих температурах // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 27, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

1998. Последствие локального прогрева побегов или корней на теплоустойчивость клеток листа и корня у проростков озимой пшеницы // Физиология растений. Т. 45, № 5. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

1999. Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина и АБК в проростках огурца

// Там же. Т. 46, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

Влияние локального прогрева на тепло-, холодо- и солеустойчивость клеток листа и корня растений // Там же. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

2000. Динамика холодоустойчивости клеток листа и корня проростков пшеницы и огурца при общем и локальном охлаждении // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 32, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

2001. Влияние возрастающих концентраций тяжелых металлов на рост проростков ячменя и пшеницы // Физиология растений. Т. 48, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

Влияние ионов свинца на рост и морфофизиологические показатели растений ячменя и овса // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 33, № 5. (Совместно с Г. Ф. Лайдинен, Н. М. Казниной.)

Влияние локального охлаждения проростков огурца и пшеницы на различные виды устойчивости листа и корня // Физиология растений. Т. 48, № 1. (Совместно с Н. И. Балагуровой, Т. В. Акимовой.)

Влияние свинца и кадмия на проростки ячменя // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 33, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

Повышение теплоустойчивости листьев при локальном прогреве проростков // Физиология растений. Т. 48, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой, Е. А. Мешковой.)

2003. Динамика содержания АБК в листьях и корнях проростков огурца и их теплоустойчивости под влиянием общего и локального прогрева // Там же. Т. 50, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

Динамика холодо- и теплоустойчивости растений при действии различных стресс-факторов на их корневую систему // Там же. Т. 50, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

2005. Влияние свинца на фотосинтетический аппарат однолетних злаков // Известия РАН. Серия биологическая. № 2. (Совместно с Н. М. Казниной, Г. Ф. Лайдинен, А. В. Талановым.)

2006. Влияние абсцизовой кислоты на устойчивость проростков огурца к комбинированному действию высокой температуры и хлоридного засоления // Там же. № 6. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

2007. Влияние прогрева корней на устойчивость клеток листьев ячменя и ультраструктуру хлоропластов и митохондрий // Доклады Академии наук. Т. 415, № 6. (Совместно с Т. В. Акимовой, Ю. В. Венжик.)

2008. Активность протеолитических ферментов и ингибиторов трипсина в листьях пшеницы в начальный период действия и в последствии низкой закалывающей температуры // Известия РАН. Серия биологическая. № 5. (Совместно с С. А. Фроловой.)

Влияние кадмия на состав жирных кислот липидов в побегах карельской березы *in vitro* // Физиология растений. Т. 55, № 5. (Совместно с Т. Ю. Кузнецовой, Л. В. Ветчинниковой, М. К. Ильиной.)

Влияние стресс-факторов на экспрессию гена транскрипционного фактора CBF у растения огурца // Доклады Академии наук. Т. 423, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой.)

Роль пигментов в формировании фотопротекторных свойств растений // Успехи современной биологии. Т. 128, № 4. (Совместно с О. Н. Лебедевой, Е. Б. Стафеевой, Т. С. Николаевской.)

Экспрессия генов транскрипционного фактора WRKY и белков холодового шока у растений пшеницы при холодовой адаптации // Доклады Академии наук. Т. 423, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Ю. В. Венжик, С. А. Фроловой.)

2009. Влияние охлаждения корней на устойчивость клеток листьев и активность фотосинтетического аппарата пшеницы // Там же. Т. 427, № 3. (Совместно с Ю. В. Венжик, В. В. Талановой, Е. А. Назаркиной.)

Устойчивость щетинника зеленого к повышенным концентрациям цинка // Известия РАН. Серия биологическая. № 6. (Совместно с Н. М. Казниной, Г. Ф. Лайдинен, А. В. Талановым.)

Экспрессия генов транскрипционного фактора WRKY и стрессовых белков у растений пшеницы при холодом закаливании и действии АБК // Физиология растений. Т. 56, № 5. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Ю. В. Венжик, С. А. Фроловой.)

2010. Дифференциальная экспрессия генов в клетках листьев проростков огурца в условиях действия различных стресс-факторов // Доклады Академии наук. Т. 431, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой.)

Экспрессия генов в клетках листьев пшеницы при локальном действии низкой температуры на корневую систему растений // Там же. Т. 435, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Ю. В. Венжик, Е. А. Назаркиной.)

2011. Влияние низкотемпературного закалывания на активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в листьях проростков пшеницы и огурца // Физиология растений. Т. 58, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, С. А. Фроловой.)

Влияние пониженной температуры на устойчивость и функциональную активность фотосинтетического аппарата // Известия РАН. Серия биологическая. № 2. (Совместно с Ю. В. Венжик, В. В. Талановой, С. А. Фроловой, А. В. Талановым, Е. А. Назаркиной.)

Особенности экспрессии АБК-зависимых и АБК-независимых генов при холодовой адаптации растений пшеницы // Физиология растений. Т. 58, № 6. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, Н. С. Репкиной.)

Особенности экспрессии АБК-зависимых генов при холодовой адаптации растений яровой пшеницы // Доклады Академии наук. Т. 438, № 3. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

2012. Влияние абсцизовой кислоты на экспрессию генов цистеиновой протеиназы и ее ингибитора при холодовой адаптации растений пшеницы // Фи-

зиология растений. Т. 59, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, С. А. Фроловой.)

Влияние возрастных различий на устойчивость растений ячменя к кадмию // Там же. Т. 59, № 1. (Совместно с Н. М. Казниной, Л. В. Топчиевой, Г. Ф. Лайдинен, Ю. В. Батовой.)

Воздействие низкой температуры на корни вызывает быстрые изменения в ультраструктурной организации хлоропластов листьев пшеницы // Доклады Академии наук. Т. 445, № 1. (Совместно с Ю. В. Венжик, Н. К. Котеевой, Е. А. Мирославовым, В. В. Талановой.)

2013. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства *Poaceae* // Успехи современной биологии. Т. 133, № 6. (Совместно с Н. М. Казниной.)

Гены холодового ответа *COR/LEA* участвуют в реакции растений пшеницы на действие тяжелых металлов // Доклады Академии наук. Т. 448, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, Н. С. Репкиной, Л. В. Топчиевой.)

Экспрессия генов вакуолярной H^+ -АТФазы в корнях проростков ячменя разного возраста при действии кадмия // Физиология растений. Т. 60, № 1. (Совместно с Н. М. Казниной, Л. В. Топчиевой, Г. Ф. Лайдинен, Ю. В. Батовой.)

2014. Содержание транскриптов генов *HvHMA2* и *HvHMA3* у растений ячменя при действии кадмия // Там же. Т. 61, № 3. (Совместно с Н. М. Казниной, Л. В. Топчиевой, Ю. В. Батовой, Г. Ф. Лайдинен.)

Устойчивость растений *Setaria viridis* (L.) Beauv. к воздействию кадмия // Известия РАН. Серия биологическая. № 5. (Совместно с Н. М. Казниной, Ю. В. Батовой, Г. Ф. Лайдинен.)

2015. О сходстве и различиях в реакции растений пшеницы на действие низкой температуры и кадмия // Там же. № 6. (Совместно с Ю. В. Венжик, В. В. Талановой, Е. С. Холопцевой.)

Реакция фотосинтетического аппарата листа у *Cucumis sativus* L. на кратковременное ежедневное понижение температуры // Физиология растений. Т. 62, № 4. (Совместно с Е. Н. Икконен, Т. Г. Шибаевой.)

2017. Влияние абсцизовой кислоты на экспрессию генов про- и антиапоптотического белков у растений огурца при низких температурах // Доклады Академии наук. Т. 477, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, Н. С. Репкиной, А. А. Игнатенко.)

Динамика содержания транскриптов генов проапоптотических белков в листьях растений пшеницы при действии высоких неблагоприятных температур // Там же. Т. 472, № 1. (Совместно с Л. В. Топчиевой, И. А. Ниловой.)

2018. Влияние кратковременных ежедневных понижений температуры на соотношение дыхания и фотосинтеза у теплолюбивых растений // Физиология растений. Т. 65, № 1. (Совместно с Е. Н. Икконен, Т. Г. Шибаевой.)

Влияние метилжасмоната на экспрессию генов *WCS* и активность антиоксидантных ферментов при холодовой адаптации пшеницы // Доклады Академии наук. Т. 482, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Н. С. Репкиной, А. А. Игнатенко.)

Реакция растений *Cucumis sativus* L. на длительное постоянное и кратковременные ежедневные воздействия низких температур // Физиология растений. Т. 65, № 2. (Совместно с Т. Г. Шибаевой, Е. Г. Шерудило.)

Устойчивость *Phleum pratense* и *Elytrigia repens* к высоким концентрациям цинка // Известия РАН. Серия биологическая. № 5. (Совместно с Г. Ф. Лайдинен, Н. М. Казниной, Ю. В. Батовой.)

2019. Влияние водного фактора на реакцию растений *Cucumis sativus* L. на кратковременное ежедневное понижение температуры // Физиология растений. Т. 66, № 3. (Совместно с Т. Г. Шибаевой, Е. Г. Шерудило, Е. Н. Икконен.)

Влияние дефицита цинка на физиологические процессы и продуктивность злаков // Успехи современной биологии. Т. 139, № 3. (Совместно с Н. М. Казниной.)

Влияние ежедневных кратковременных понижений температуры на теплолюбивые и холодоустойчивые растения // Физиология растений. Т. 66, № 4. (Совместно с Т. Г. Шибаевой, Е. Н. Икконен, Е. Г. Шерудило.)

Влияние избытка цинка и низкой температуры на экспрессию гена *IRT1* в корнях и листьях ячменя // Доклады Академии наук. Т. 487, № 3. (Совместно с Н. М. Казниной, Н. С. Репкиной, Ю. В. Батовой.)

Карельская береза – уникальный биологический объект // Успехи современной биологии. Т. 139, № 5. (Совместно с Л. В. Ветчинниковой.)

Способность проростков озимой пшеницы к низкотемпературной адаптации в условиях избыточного содержания цинка в корнеобитаемой среде // Физиология растений. Т. 66, № 5. (Совместно с Н. М. Казниной, Ю. В. Батовой, Г. Ф. Лайдинен, Е. Г. Шерудило.)

Сравнительное изучение эффектов длительного постоянного и кратковременных ежедневных воздействий низких температур на основные физиологические процессы растений в условиях подавленного биосинтеза белков // Журнал общей биологии. Т. 80, № 1. (Совместно с Е. Г. Шерудило, Т. Г. Шибаевой, Е. Н. Икконен.)

Статьи в иностранных журналах

1983. Effect of temperature on the thermoresistance and respiration of tomato leaves (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Biochemie and Physiologie der Pflanzen. Vol. 178, no. 8. (Совместно с V. V. Talanova, S. N. Drozdov, T. V. Akimova.)

1984. The effect of temperature on cold and heat resistance of growing plants. I. Chilling-sensitive species // Journal of Experimental Botany. Vol. 35, no. 160. (Совместно с S. N. Drozdov, V. V. Talanova, S. P. Kritenko, E. G. Sherudilo, T. V. Akimova.)

The effect of temperature on cold and heat resistance of growing plants. II. Cold resistant species // Journal of Experimental Botany. Vol. 35, no. 160. (Совместно с S. N. Drozdov, N. I. Balagurova, S. P. Kritenko.)

1994. Endogenous abscisic acid content in cucumber leaves under the influence of unfavourable temperatures and salinity // Journal of Experimental Botany. Vol. 45, no. 276. (Совместно с V. V. Talanova.)

1996. Growth responses of barley and wheat seedlings to lead and cadmium // *Biologia Plantarum*. Vol. 38, no. 3. (Совместно с V. V. Talanova, N. P. Boeva.)

2000. Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings // *Biologia plantarum*. Vol. 43, no. 3. (Совместно с V. V. Talanova, N. P. Boeva.)

2008. Effect of cadmium on *Poacea* plants // *Physiologia Plantarum*. Vol. 133, no. 3. (Совместно с N. M. Kaznina, G. F. Laidinen, A. V. Talanov, V. V. Talanova.)

2014. Ultrastructure and functional activity of chloroplasts in wheat leaves under root chilling // *Acta Physiologiae Plantarum*. Vol. 36, no. 2. (Совместно с Yu. V. Venzhik, V. V. Talanova, E. A. Miroslavov.)

2015. Water use efficiency in *Cucumis sativus* L. in response to daily short-term temperature drop // *Journal of Agricultural Science*. Vol. 7, no. 11. (Совместно с E. N. Ikkonen, T. G. Shibaeva.)

2016. The effect of abscisic acid on cold tolerance and chloroplasts ultrastructure in wheat under optimal and cold stress conditions // *Acta Physiologiae Plantarum*. Vol. 38, no. 3. (Совместно с Yu. V. Venzhik, V. V. Talanova.)

Continuous Light Enhances Chilling Tolerance in Chilling-Sensitive Plants // *World Journal of Research*

and Review. Vol. 3, no. 3. (Совместно с T. G. Shibaeva, E. G. Sherudilo.)

2017. Effect of BAP on growth, amino acid content and lipid fatty acid composition of curly birch in vitro shoots // *Acta Horticulturae*. ISHS. Vol. 1155: VI International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants. (Совместно с L. Vetchinikova, T. Kuznetsova.)

2018. Cadmium treatment effects on the growth and antioxidant system in barley plants under optimal and low temperatures // *Acta Agriculturae Slovenica*. Vol. 111, no. 1. (Совместно с N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, N. S. Repkina, G. F. Laidinen.)

Responses of young cucumber plants to a diurnal temperature drop at any different times of day and night // *Acta Agriculturae Slovenica*. Vol. 111, no. 3. (Совместно с T. G. Shibaeva, E. G. Sherudilo, E. N. Ikkonen.)

2019. Exogenous salicylic acid treatment induces cold tolerance in wheat through promotion of antioxidant enzyme activity and proline accumulation // *Acta Physiologiae Plantarum*. Vol. 41, no. 80. (Совместно с A. Ignatenko, V. Talanova, N. Repkina.)

Involvement of proline and non-protein thiols in response to low temperature and cadmium stresses in wheat // *Biologia Plantarum*. Vol. 63, no. 1. (Совместно с N. Repkina, V. Talanova, A. Ignatenko.)

ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА ЛЕБЕДЕВА (к 70-летию со дня рождения)



Ольга Николаевна Лебедева родилась в 1949 году в г. Петрозаводске Карельской АССР. Здесь она окончила среднюю школу и в 1967 году поступила на биологический факультет ПетрГУ им. О. В. Куусинена, который окончила в 1972 году по специальности «биология» с присвоением квалификации «преподаватель биологии и химии». После окончания работала учителем биологии в средней школе далекого северного поселка Реболы. В 1973 году Ольга Николаевна поступила на работу в Институт биологии Карельского научного центра РАН, где в лаборатории генетики (1973–1996 гг.) и частично в лаб. геоботаники и растительных ресурсов (1974–1975 гг.) прошла все должностные ступени формирования научного работника: инженера, ст. инженера, лаборанта, ст. лаборанта, ведущего лаборанта,

мл. научного сотрудника, ст. научного сотрудника. С 1996 года и по настоящее время Ольга Николаевна – заместитель директора Института биологии КарНЦ РАН по научной работе. С 2005 года она осуществляет руководство лабораторией генетики. Общий стаж ее работы составляет более 46 лет, научный – более 32 лет.

Основное направление научной деятельности О. Н. Лебедевой – генетика и селекция растений, и в частности, индуцированный мутагенез, генетика продуктивности панмиктических популяций. Участвуя в исследованиях лаборатории генетики, Ольга Николаевна изучала механизмы формирования генетического груза и выживаемости растений естественных и мутантных популяций многолетних злаков, анализировала эффекты массового отбора и генетические особенности селекционного материала, полученного методом индуцированного мутагенеза перекрестноопыляющихся видов. Результатом явилась диссертация на тему «Морфофизиологический контроль в индуцированном мутационном процессе перекрестноопыляющихся растений на примере *Festuca pratensis* Huds.» с присвоением в 1994 году ученой степени кандидата биологических наук. На базе многолетних исследований ею получены перспективные в практическом отношении мутантные линии многолетних злаков, разработаны и сформулированы принципы мутационной селекции, что позволило вместе с соавторами создать сорт овсяницы луговой «Онежская», включенный в государственный реестр сортов с/х культур и районированный в ряде регионов Российской Федерации. Кроме того, она является соавтором изобретения «Способ оценки посевных качеств семян зерновых и кормовых злаков» (патент 1989 г.). В настоящее время область научных интересов Ольги Николаевны связана с изучением компонентов приспособленности и экологической устойчивости (светоустойчивости) растений

в популяциях, сформированных на мутантной основе и отдаленных от мутагенного воздействия девятью поколениями. Эти мутантные популяции, созданные еще в 1978–1980 гг., культивируются в лаборатории генетики уже почти 40 лет. Исследования Ольги Николаевны, как собственные, так и с соавторами, имеют большое теоретическое значение для понимания механизмов и стратегий выживания растений при действии физических и химических факторов мутагенной природы. Практическая значимость этой работы связана с новыми технологиями в селекции растений, с интродукцией растительных организмов в условиях северных регионов, с проведением мониторинга окружающей среды при радиоактивном и химическом загрязнении, включающего оценку возможных ближайших и отдаленных генетических эффектов и разработку рекомендаций, направленных на снижение генетического груза и давления элиминирующего отбора в популяциях растений. В списке публикаций О. Н. Лебедевой 104 научные работы, в том числе монография «Биологические особенности северных популяций многолетних злаков: генетический груз и выживаемость» (Петрозаводск, 2010). Целый ряд научных статей опубликованы в рецензируемых журналах «Генетика», «Доклады РАСХН», «Успехи современной биологии», «Сельскохозяйственная биология», «Труды КарНЦ РАН» и др.

О. Н. Лебедева осуществляет научное руководство темами НИР, выполняемыми лабораторией генетики в рамках государственного задания, и курирует важное направление междисциплинарных исследований, связанных с использованием молекулярно-генетических методов в оценке вклада генетических и средовых факторов в этиологию сердечно-сосудистых заболеваний населения. Благодаря ей лаборатория имеет современное молекулярно-генетическое оборудование, которым пользуются научные сотрудники института и внешние пользователи, аспиранты, студенты.

Ольга Николаевна постоянно повышает свой теоретический уровень путем активной инновационной деятельности: это курсы повышения квалификации и специализации в области молекулярной биологии (1978), курсы «Технологический менеджмент» (1997, 2001), «Практический семинар по технологиям и инновациям» и курсы в «Высшей школе лидерства» (2015), участие в разработке двух баз данных (2015, 2016).

В разные годы Ольга Николаевна осуществляла активную экспертную деятельность, являясь заместителем председателя Ученого совета ИБ КарНЦ РАН, членом редколлегии серии

«Экспериментальная биология» журнала «Труды КарНЦ РАН», членом Общего собрания РАН и Общего собрания ОБН РАН. Она постоянно проводит экспертизы по запросам различных организаций, по направлениям работы института, экспертизы научных проектов, отчетов и монографий.

Педагогическая деятельность Ольги Николаевны протекала в Петрозаводском государственном университете, где она читала курсы «Общая генетика с основами селекции», «Популяционная генетика», «Микрохимия», проводила лабораторные и практические полевые занятия, руководила курсовыми и дипломными проектами, осуществляла подготовку студентов к государственным экзаменам. С 2000 года осуществляет научно-организационную работу по практике студентов в Эколого-биологическом учебно-научном центре при ИБ КарНЦ РАН.

В должности заместителя директора Института биологии Ольга Николаевна занимается самой разносторонней научно-организационной работой, осуществляя контроль над формированием и выполнением планов НИР, над предоставлением отчетов по темам госзаданий и программам фундаментальных научных исследований Президиума и Отделений РАН, договорам на выполнение НИР, курирует организацию работ в экспериментальных подразделениях института. Она является координатором и исполнителем многих комплексных исследований в рамках ФЦП и РФФИ. Благодаря своим знаниям и научной эрудиции участвует в разработке основных направлений исследований, подготовке программ развития института, подготовке заявок и отчетов по финансированию проектов и основных исследований. Работа по привлечению дополнительного финансирования позволила модернизировать материальную базу Института биологии, оснастить лаборатории современными приборами и оборудованием, проводить на базе института научные мероприятия – конференции, семинары, симпозиумы. Она активно участвует в создании и развитии структур коллективного пользования: Центра коллективного пользования научным оборудованием, информационной телекоммуникационной сети, в организации работы Эколого-биологического учебно-научного центра. Ольга Николаевна хорошо знает и использует в работе методы планирования и финансирования научных исследований, работу с научными кадрами, действующие системы оплаты труда и материального его стимулирования, порядок заключения договоров и контрактов, требования охраны труда и пожарной безопасности.

Одно из важных направлений ее работы – изучение и применение действующего законодательства РФ и нормативных правовых актов, постановлений, распоряжений и приказов вышестоящих организаций, что позволяет ей формировать локально-нормативные акты по всем направлениям деятельности института. Это оказалось особенно актуальным в последние годы и позволяет Институту биологии с достоинством и без потерь выдержать все трудности периода реорганизаций академической науки.

За активную научную и организационную работу Ольга Николаевна Лебедева имеет заслуженные награды: благодарности за участие в организации школ-семинаров молодых ученых (1975, 1977, 1980, 1983); благодарность Общественной палаты Российской Федерации (2007); дипломы участника ВДНХ (1977, 1980); медали «Ветеран труда» и «100 лет профсоюзам России»; Почетные грамоты РАН и Профсоюза работников РАН (1999); Респуб-

лики Карелия (2003); Федерального агентства по науке и инновациям (2006); РАН (2009); КарНЦ РАН (2019). В 2019 году указом Главы Республики Карелия Ольге Николаевне Лебедевой присвоено звание «Заслуженный деятель науки Республики Карелия» в связи с 70-летием и за многолетний плодотворный труд, большой вклад в развитие фундаментальных и прикладных исследований в области генетики и селекции растений в Республике Карелия.

Ольга Николаевна пользуется большим уважением за свои человеческие качества – доброжелательность, высокое чувство ответственности и обширную эрудицию во многих областях знаний. Она прекрасная мать и заботливая бабушка – у нее дочь и двое внуков.

Коллеги поздравляют Ольгу Николаевну с юбилеем, желают ей счастья, здоровья, благополучия, неизменных творческих успехов!

Т. С. Николаевская

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 возможно полное представление о содержании статьи и иметь объем не менее 200 слов. Рукопись с недостаточно раскрывающей содержание аннотацией может быть отклонена.

Отдельной строкой приводится перечень КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (не менее 5). Ключевые слова или словосочетания отделяются друг от друга точкой с запятой, в конце фразы ставится точка. Слова, фигурирующие в заголовке статьи, ключевыми являться не могут.

Раздел «Материалы и методы» должен содержать сведения об объекте исследования с обязательным указанием латинских названий и сводок, по которым они приводятся, авторов классификаций и пр. Транскрипция географических названий должна соответствовать атласу последнего года издания. Единицы физических величин приводятся по Международной системе СИ. Желательна статистическая обработка всех количественных данных. Необходимо возможно точнее обозначать местонахождения (в идеале – с точным указанием географических координат).

Изложение результатов должно заключаться не в пересказе содержания таблиц и графиков, а в выявлении следующих из них закономерностей. Автор должен сравнить полученную им информацию с имеющейся в литературе и показать, в чем заключается ее новизна. Следует ссылаться на табличный и иллюстративный материал так: на рисунки, фотографии и таблицы в тексте (рис. 1, рис. 2, табл. 1, табл. 2 и т. д.), фотографии, помещаемые на вкладышах (рис. I, рис. II). Обсуждение завершается формулировкой в разделе «Заключение» основного вывода, которая должна содержать конкретный ответ на вопрос, поставленный во «Введении». Ссылки на литературу в тексте даются фамилиями, например: Карху, 1990 (один автор); Раменская, Андреева, 1982 (два автора); Крутов и др., 2008 (три автора или более) либо начальным словом описания источника, приведенного в списке литературы, и заключаются в квадратные скобки. При перечислении нескольких источников работы располагаются в хронологическом порядке, например: [Иванов, Топоров, 1965; Успенский, 1982; Erwin et al., 1989; Атлас..., 1994; Longman, 2001].

ТАБЛИЦЫ нумеруются в порядке упоминания их в тексте, каждая таблица имеет свой заголовок. Заголовки таблиц, заголовки и содержание столбцов, строк, а также примечания приводятся на русском и английском языках. На полях бумажного экземпляра рукописи (слева) карандашом указываются места расположения таблиц при первом упоминании их в тексте. Диаграммы и графики не должны дублировать таблицы. Материал таблиц должен быть понятен без дополнительного обращения к тексту. Все сокращения, использованные в таблице, поясняются в Примечании, расположенном под ней. При повторении цифр в столбцах нужно их повторять, при повторении слов – в столбцах ставить кавычки. Таблицы могут быть книжной или альбомной ориентации (при соблюдении вышеуказанных параметров страницы).

РИСУНКИ представляются отдельными файлами с расширением TIF (* .TIF) или JPG. При первичной подаче материала в редакцию рисунки вставляются в общий текстовый файл. При сдаче материала, принятого в печать, все рисунки из текста статьи должны быть убраны и представлены в виде отдельных файлов в вышеуказанном формате. Графические материалы должны быть снабжены распечатками с указа-

* Названия видов приводятся на латинском языке КУРСИВОМ, в скобках указываются высшие таксоны (семейства), к которым относятся объекты исследования.

** Обращаем внимание авторов, что в связи с подготовкой журнала к включению в международные базы данных библиографических описаний и научного цитирования расширенная аннотация на английском языке, двуязычные таблицы и подписи к рисункам, а также транслитерированный в латиницу список использованной литературы приобретают особое значение.

нием желательного размера рисунка, пожеланий и требований к конкретным иллюстрациям. На каждый рисунок должна быть как минимум одна ссылка в тексте. Иллюстрации объектов, исследованных с помощью фотосъемки, микроскопа (оптического, электронного трансмиссионного и сканирующего), должны сопровождаться масштабными линейками, причем в подрисуночных подписях надо указать длину линейки. Приводить данные о кратности увеличения необязательно, поскольку при публикации рисунков размеры изменятся. Крупномасштабные карты желательно приводить с координатной сеткой, обозначениями населенных пунктов и/или названиями физико-географических объектов и разной фактурой для воды и суши. В углу карты желательна врезка с мелкомасштабной картой, где был бы указан участок, увеличенный в крупном масштабе в виде основной карты.

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ приводятся на русском и английском языках, должны содержать достаточно полную информацию, для того чтобы приводимые данные могли быть понятны без обращения к тексту (если эта информация уже не дана в другой иллюстрации). Аббревиации расшифровываются в подрисуночных подписях, детали на рисунках следует обозначать цифрами или буквами, значение которых также приводится в подписях.

ЛАТИНСКИЕ НАЗВАНИЯ. В расширенных латинских названиях таксонов не ставится запятая между фамилией авторов и годом, чтобы была понятна разница между полным названием таксона и ссылкой на публикацию в списке литературы. Названия таксонов рода и вида печатаются курсивом. Вписывать латинские названия в текст от руки недопустимо. Для флористических, фаунистических и таксономических работ при первом упоминании в тексте и таблицах приводится русское название вида (если такое название имеется) и полностью – латинское, с автором и желательно с годом, например: водяной ослик (*Asellus aquaticus* (L. 1758)). В дальнейшем можно употреблять только русское название или сокращенное латинское без фамилии автора и года опубликования, например, для брюхоногого моллюска *Margarites groenlandicis* (Gmelin 1790) – *M. groenlandicus* или для подвида *M. g. umbilicalis*.

СОКРАЩЕНИЯ. Разрешаются лишь общепринятые сокращения – названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа общепотребительных.

БЛАГОДАРНОСТИ. В этой рубрике выражается признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и фондам, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи, а также указываются источники финансирования работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ. Пристатейные ссылки и/или списки пристатейной литературы следует оформлять по ГОСТ Р 7.0.5-2008. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления (http://www.bookchamber.ru/GOST_P_7.0.5.-2008). Список работ представляется в алфавитном порядке. Все ссылки даются на языке оригинала (названия на японском, китайском и других языках, использующих нелатинский шрифт, пишутся в русской транскрипции). Сначала приводится список работ на русском языке и на языках с близким алфавитом (украинский, болгарский и др.), а затем – работы на языках с латинским алфавитом. В списке литературы между инициалами ставится пробел.

ТРАНСЛИТЕРИРОВАННЫЙ СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (REFERENCES). Приводится отдельным списком, повторяя все позиции основного списка литературы. Описания русскоязычных работ указываются в латинской транслитерации, рядом в квадратных скобках помещается их перевод на английский язык. Выходные данные приводятся на английском языке (допускается транслитерация названия издательства). При наличии переводной версии источника можно указать его библиографическое описание вместо транслитерированного. Библиографические описания прочих работ приводятся на языке оригинала. Для составления списка рекомендуется использование 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

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Институт экспериментальной ботаники НАН Республики Беларусь им. В. Ф. Купревича

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; кратковременное снижение температуры; устойчивость.

E. G. Sherudilo, M. I. Sysoeva, G. N. Alekseichuk, E. F. Markovskaya. EFFECTS OF DIFFERENT REGIMES OF SEED HARDENING ON COLD RESISTANCE IN CUCUMBER PLANTS

Аннотация на английском языке

Keywords: *Cucumis sativus* L.; temperature drop; resistance.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ

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

Table 2. Ultrastructure of leaf mesophyll cells after the exposure of wheat seedlings or roots to 10 min of chilling at 2 °C

Показатель Index	Контроль Control	Охлаждение проростков Seedling chilling	Охлаждение корней Root chilling
Площадь среза хлоропласта, мкм ² Chloroplast cross-sectional area, μm ²	10,0 ± 0,7	13,5 ± 1,1	12,7 ± 0,5
Площадь среза митохондрии, мкм ² Mitochondria cross-sectional area, μm ²	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,03	0,6 ± 0,04
Площадь среза пероксисомы, мкм ² Peroxisome cross-sectional area, μm ²	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Число хлоропластов на срезе клетки, шт. Number of chloroplasts in cell cross-section	9 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число митохондрий на срезе клетки, шт. Number of mitochondria in cell cross-section	8 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число пероксисом на срезе клетки, шт. Number of peroxisomes in cell cross-section	2 ± 0,3	2 ± 0,3	3 ± 0,4

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

Note. Here and in Tab. 3 all ultrastructure parameters were measured 24 h after chilling.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ПОДПИСИ К РИСУНКУ

Рис. 1. Северный точильщик (*Hadrobregmus confuses* Kraaz.)

Fig. 1. Woodboring beetle *Hadrobregmus confuses* Kraaz.

Рис. 5. Результаты изучения кристаллитов и демпферных зон в образце кварца из Дульдурги:

(а) – электронная микрофотография кварца; (б) – картина микродифракции, полученная для участка 1 в области кристаллитов; (в) – картина микродифракции, отвечающая участку 2 в области демпферных зон

Fig. 5. Results of the study of crystallites and damping zones in a quartz sample from Duldurga:

(а) – electron microphotograph of the quartz sample; (б) – microdiffraction image of site 1 in the crystallite area; (в) – microdiffraction image corresponding to site 2 in the damping area

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ СПИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

Ссылки на книги

Вольф Г. Н. Дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм в органической химии / Ред. Г. Снатцке. М.: Мир, 1970. С. 348–350.

Патрушев Л. И. Экспрессия генов. М.: Наука, 2000. 830 с.

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques / Eds P. V. Sundaram, F. L. Eckstein. N. Y., San Francisco: Acad. Press, 1978. P. 169–188.

В транслитерированном списке литературы:

Vol'f G. N. Dispersiya opticheskogo vrashheniya i krugovoj dikhroizm v organicheskoy khimii [Optical rotatory dispersion and circular dichroism in Organic Chemistry]. Ed. G. Snattske. Moscow: Mir, 1970. P. 348–350.

Patrushev L. I. Ekspressiya genov [Gene expression]. Moscow: Nauka, 2000. 830 p.

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques. Eds P. V. Sundaram, F. L. Eckstein. N. Y., San Francisco: Acad. Press, 1978. P. 169–188.

Ссылки на статьи

Викторов Г. А. Межвидовая конкуренция и сосуществование экологических гомологов у паразитических перепончатокрылых // Журн. общ. биол. 1970. Т. 31, № 2. С. 247–255.

Grove D. J., Loisesides L., Nott J. Satiation amount, frequency of feeding and emptying rate in *Salmo gairdneri* // J. Fish. Biol. 1978. Vol. 12, no. 4. P. 507–516.

Noctor G., Queval G., Mhamdi A., Chaouch A., Foyer C. H. Glutathione // Arabidopsis Book. American Society of plant Biologists, Rockville, MD. 2011. doi:10.1199/tab.0142

В транслитерированном списке литературы:

Viktorov G. A. Mezhhvidovaya 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.

Transactions of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences

No. 12, 2019

“EXPERIMENTAL BIOLOGY”

TABLE OF CONTENTS

REVIEWS

E. V. Novichonok, N. A. Galibina, B. V. Raevsky, M. A. Ershova. SOMATIC EMBRYOGENESIS IN SCOTS PINE: STATE OF KNOWLEDGE, AND PROSPECTIVE APPLICATIONS IN FORESTRY 5

ORIGINAL PAPERS

E. S. Kholoptseva, A. A. Ignatenko, N. S. Repkina, V. V. Talanova. CHARACTERISTICS OF WHEAT PLANT RESPONSES TO SHORT-TERM AND PROLONGED EXPOSURE TO SALICYLIC ACID UNDER OPTIMAL AND LOW TEMPERATURE 19

L. L. Novitskaya, T. V. Tarelkina, N. N. Nikolaeva, D. S. Ivanova, L. I. Semenova. EFFECT OF EXOGENOUS GIBBERELLIN AND ITS MIXTURE WITH SUCROSE ON XYLEM INCREMENT FORMATION IN SILVER BIRCH 31

T. V. Tarelkina, L. L. Novitskaya. EXOGENOUS SUCROSE EFFECT ON PHLOEM FORMATION IN SILVER BIRCH, GREY ALDER AND ASPEN 43

L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya, E. V. Borvinskaya, D. K. Lajus. THE VARIABILITY OF SOME PARAMETERS OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE MUSCLES AND LIVER OF THE THREE-SPINED STICKLEBACK (*GASTEROSTEUS ACULEATUS*) IN THE WHITE SEA DURING THE SPAWNING PERIOD 55

G. G. Ladnova, A. N. Sobolev, M. G. Kurochitskaya, V. V. Silyutina, L. N. Trofimets, D. Yu. Gavrikova. EFFECT OF THE VITAMIN AND AMINO ACID COMPLEX ON CYTOCHEMICAL INDICATORS IN THE BLOOD OF RATS INTOXICATED BY HEXACHLOROCYCLOHEXANE 67

M. A. Akimenko, T. S. Kolmakova, O. S. Oksenjuk, Yu. A. Kalmykova, O. B. Smirnova. CHANGES IN INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION DUE TO EXPERIMENTAL URINARY TRACT OBSTRUCTION 74

L. L. Shagrov, N. A. Shutskiy, S. L. Kashutin, S. I. Malyavskaya. CHANGES IN HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS AFTER LOCAL COLD DAMAGE 86

A. G. Borisova. AN ASSESSMENT OF THE RESISTANCE OF ERYTHROCYTES TO HEMOLYSIS UNDER THE EFFECT OF DISPERSED SHUNGITIC NANOCARBON 93

Yu. A. Shustov, I. A. Tyrkin. ASSESSMENT OF THE PHYSICAL STRENGTH OF FISH (RESEARCH RESULTS, PROSPECTS) 102

G. V. Fuks. USING OTOLITH GROWTH PATTERN AS A TOOL FOR COMPARATIVE ANALYSIS OF OTOLITH GROWTH IN THE ARCTIC FLOUNDER *LIOPSETTA GLACIALIS* FROM ONEGA BAY OF THE WHITE SEA 109

SHORT COMMUNICATIONS

I. A. Nilova, L. V. Topchieva, A. F. Titov. FORMATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN WHEAT LEAVES UNDER HIGH TEMPERATURES 119

DATES AND ANNIVERSARIES

N. M. Kaznina, V. V. Talanova. Aleksandr F. Titov (on the 70th anniversary) 127

T. S. Nikolaevskaya. Ol'ga N. Lebedeva (on the 70th anniversary) 137

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS 140

Научный журнал

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 12, 2019

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 23.12.2019. Дата выхода 31.12.2019. Формат 60x84¹/₈.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 15,7. Усл. печ. л. 17,2.
Тираж 100 экз. Заказ 593. 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