

Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр
Российской академии наук»

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 3, 2020

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2020

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. М. КРЫШЕНЬ, д. б. н.; Е. В. КУДРЯШОВА, д. флс. н., проф.; О. Л. КУЗНЕЦОВ, д. б. н.; Н. В. ЛУКИНА, член-корр. РАН, д. б. н., проф.; 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», 2020
© Институт биологии КарНЦ РАН, 2020
© Институт леса КарНЦ РАН, 2020

Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences

TRANSACTIONS

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

No. 3, 2020

EXPERIMENTAL BIOLOGY

Petrozavodsk
2020

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); 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.); N. V. LUKINA, RAS Corr. Fellow, DSc (Biol.), Prof.; 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, 2020

© Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences, 2020

© Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences, 2020

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 57.053:577. 112.7:577.112.8

4. АТФ-СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА ABC (АТФ-BINDING CASSETTE TRANSPORTERS, ABC). НОМЕНКЛАТУРА, СТРУКТУРА, МОЛЕКУЛЯРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ФУНКЦИЯ, УЧАСТИЕ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ (ОБЗОР)

Л. П. Смирнов

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

АТФ-связывающие транспортные белки семейства ABC (ATP-binding cassette transporters, ABC) – мембранные белки, осуществляющие выведение из клеток разнообразных субстратов через клеточные мембраны с помощью энергии, получаемой при гидролизе АТФ. В геноме человека закодировано 48 ABC-транспортеров, принадлежащих к восьми семействам: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG, ABCH. Молекула ABC состоит из двух нуклеотидсвязывающих доменов (NBD) и двух трансмембранных доменов (TMD) (NBD–TMD–NBD–TMD), осуществляющих перенос субстратов, либо существует в виде «полутранспортера», состоящего из одного NBD и одного TMD. Предполагается, что транспортный цикл ABC состоит из четырех стадий. Энергия, получаемая при гидролизе АТФ, расходуется на удаление субстрата из комплекса с молекулой транспортера и возвращение ее в исходное состояние. У млекопитающих ABC обнаружены, помимо раковых клеток, в тканях мозга, надпочечников, почек, легких, семенников, печени, плаценты, кишечника. Субстратами ABC являются широкий круг различных соединений как эндо-, так и экзогенного происхождения. Ряд ABC участвуют в процессах метаболизма ксенобиотиков, активно удаляя как липофильные соединения, которые проходят через плазматические мембраны, так и гидрофильные метаболиты и конъюгаты, которые образовались в I и II фазах биотрансформации. Проведен ряд исследований, в которых показано взаимодействие между ферментом CYP3A4 из группы цитохромов P450 (фаза I биотрансформации) и транспортером ABCB1. Обнаружено, что транспортер ABCG2 из печени и кишечника активно экспортирует метаболиты фазы II биотрансформации.

Ключевые слова: АТФ-связывающие транспортеры; ABC transporters; P-glycoprotein; MDR, BCRP; биотрансформация ксенобиотиков.

L. P. Smirnov. 4. ATP-BINDING CASSETTE TRANSPORTERS (ABC). NOMENCLATURE, STRUCTURE, MOLECULAR DIVERSITY, FUNCTION, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTICS TRANSFORMATION SYSTEM (A REVIEW)

ATP-binding cassette (ABC) transporters are membrane proteins responsible for removing various substrates from cells through cell membranes using the energy derived from ATP hydrolysis. The human genome codes for 48 ABC transporters, which are categorized into eight families: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG, ABCH. An ABC molecule consists of two nucleotide-binding domains (NBD) and two transmembrane domains (TMD) which transport substrates (NBD–TMD–NBD–TMD), or exists as a half-transporter consisting of one NBD and one TMD, which functions as a dimer. It is assumed that the ABC transport cycle is a four-stage one. The energy obtained in the hydrolysis of ATP is utilized to remove the substrate from the complex with the transporter molecule and restore it in its original state. In mammals, ABC were, apart from cancer cells, found in many tissues, such as the brain, adrenal glands, kidneys, lungs, testes, liver, placenta, intestines. ABC substrates encompass a wide range of compounds of both endo- and exogenous origin. Some ABC are involved in metabolizing xenobiotics, actively removing both lipophilic compounds that pass through the plasma membrane, and hydrophilic metabolites and conjugates formed in biotransformation phases I and II. A number of studies have demonstrated the interaction between the CYP3A4 enzyme from the P450 cytochrome group (biotransformation phase I) and the transporter ABCB1. The ABCG2 transporter from the liver and intestines was found to actively export metabolites of biotransformation phase II.

Key words: ATP-binding cassette (ABC) transporters; P-glycoprotein; MDR, BCRP; xenobiotic biotransformation.

Введение

Транспортеры – это мембраносвязанные белки, которые переносят различные соединения через мембраны и являются важным инструментом детоксикации ксенобиотиков. Известны два типа транспортеров. Первые осуществляют трансмембранный перенос молекул внутрь клетки. Это переносчики органических анионов (OATP, OAT) [Смирнов и др., 2017а, б], катионов и цвиттерионов (OCT-OCTN) [Смирнов, 2018]. Второй тип транспортеров осуществляет выведение продуктов метаболизма. В нем участвует семейство белков, объединенных названием АТФ-связывающие кассетные транспортеры (ATP-binding cassette transporters, ABC). ABC – семейство транспортных белков, являющихся одним из самых больших у живых организмов. Эти белки обнаружены во всех клетках всех видов от микроорганизмов до человека [Cvilink et al., 2009; Locher, 2009]. Их особенностью является то, что эти белки используют энергию АТФ для транспорта самых разнообразных соединений от ионов до молекул токсинов большого размера [Oswald et al., 2006]. ABC-транспортеры задействованы в разнообразных физиологических и патологических процессах, например, при развитии множественной лекарственной устойчивости (multidrug resistance, MDR), при онкогенезе, па-

разитарных инвазиях, поражениях патогенными микроорганизмами, в иммунных реакциях, при дифференциации стволовых клеток [Huls et al., 2009], метаболизме липидов, а также при дегенеративных патологиях белкового обмена [Abuznait et al., 2013; Pahnke et al., 2013]. Различные болезни человека, включающие кистозный фиброз, персистирующую гиперинсулинемическую гипогликемию, синдром Даби-на – Джонсона, болезни Штаргарта и Танжера, связаны с мутациями ABC [Gottesman, Ambudkar, 2001].

Сущность системы биотрансформации ксенобиотиков в клетке состоит в превращении чужеродных, часто токсических соединений в безопасные продукты с последующим их удалением. Эту систему условно можно представить как состоящую из четырех фаз. Импорт ксенобиотиков – это фаза 0 (ноль) биотрансформации, поскольку транспортеры (OATP, OAT, OCT-OCTN) непосредственно не участвуют в реакциях, осуществляемых в фазах I (окисление, восстановление или гидролиз) и II (реакции конъюгации с эндогенными молекулами) [Stieger, Meier, 1998]. Выведение продуктов детоксикации, в которой активно участвуют ABC-транспортеры, предложено обозначать как фазу III биотрансформации [Ishikawa, 1992].

В настоящем обзоре будут рассмотрены вопросы систематики, структуры и функции, мо-

лекулярного разнообразия ABC-транспортёров, их участия в функционировании системы биотрансформации у эукариотических организмов.

Номенклатура ABC-транспортёров

ABC-транспортёры – это мембраносвязанные белки, которые осуществляют перенос различных молекул через плазматические мембраны клеточной стенки и внутриклеточные мембраны эндоплазматического ретикулаума, пероксисом и митохондрий [Dean et al., 2001].

Семейство ABC разделено на восемь подсемейств: ABCA, ABCB, ABCC, ABCE, ABCD, ABCF, ABCG и ABCH [Theodoulou, Kerr, 2015]. Транспортёры подсемейства H у млекопитающих не обнаружены. У белков подсемейства ABCE и ABCF отсутствуют трансмембранные домены, поэтому они не являются транспортёрами в классическом понимании. Один из представителей первого подсемейства – ABCA4 – транспортирует производные ретинола и обнаруживается только в фоторецепторах [Oswald et al., 2006].

Консолидированное решение по систематике ABC было принято в 1999 г. [Jones et al., 2009]. Белки обозначают с помощью обычного стиля шрифта, название генов выделяют курсивом. Заглавными буквами обозначаются только гены человека. У других видов гены ABC обозначаются строчными буквами: *Abca*, *Abcb* и т. д. Часто используется оригинальная номенклатура вместе с названием подсемейства. Например, Р-гликопротеин (Pgp, MDR1) носит обозначение ABCB1, как первый изученный представитель подсемейства ABCB.

На основании анализа аминокислотной последовательности ABC-белки были разделены на три класса [Dassa, Bouige, 2001]. Белки классов 1 и 3 являются классическими ABC-транспортёрами и содержат нуклеотидсвязывающие (NBD) и трансмембранные домены (TMD). Представители класса 1 имеют объединённые друг с другом NBD и TMD, в то время как у представителей класса 3 каждый домен закодирован как отдельная полипептидная цепь, поэтому TMD представлен отдельной трансмембранной (TM) структурой. Представители класса 2 (ABCE и ABCF) имеют два NBD, возможны дополнительные домены, но TMD отсутствуют.

ABC-транспортёры классов 1 и 3 разделяются на два подтипа, импортёры и экспортёры, в зависимости от направления переноса субстратов. ABC-импортёры присутствуют только у прокариот и транспортируют субстраты внутрь клетки. ABC-экспортёры, напротив, забирают

субстрат из цитоплазмы или с внутренней поверхности липидного бислоя и удаляют из клетки. Ряд ABC участвуют в процессах метаболизма ксенобиотиков, активно удаляя как липофильные соединения, которые проходят через плазматические мембраны, так и гидрофильные метаболиты и конъюгаты, которые образовались в I и II фазах биотрансформации.

Характеристика подсемейств

Подсемейство ABCA насчитывает 12 «полных» транспортёров, то есть состоящих из четырёх доменов (TMD–NBD–TMD–NBD), в отличие от «полутранспортёров», имеющих двухдоменную структуру (TMD–NBD) (рис. 1). В настоящее время его представители найдены только у позвоночных, а, например, у *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans* не обнаружены. Вероятно, гены этих ABC появились у позвоночных в процессе их эволюционного становления [Dean et al., 2001]. Известно, что ABCA1 принимает участие в транспорте холестерина и биосинтезе липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). ABCA2 найден в олигодендроцитах мозга, а ABCA4 специфичен для фоторецепторов палочек, его мутация приводит к синдрому дегенерации сетчатки (болезнь Штаргардта) [Gottesman, Ambudkar, 2001].

В состав подсемейства ABCB включены четыре «полных» транспортёра и семь «полутранспортёров». Наиболее изученным представителем этого подсемейства является ABCB1 (P-glycoprotein, Pgp, MDR – multidrug resistance). Он экспрессируется главным образом в печени, тканях гематоэнцефального барьера и участвует в защите клеток от широкого набора токсинов [Dean et al., 2001]. ABCB4 и ABCB11 идентифицированы в печени и принимают участие в секреции фосфатидилхолина и желчных кислот. Полутранспортёры подсемейства экспрессируются в лизосомах (ACBСB9) или в митохондриях (ACBСB6, 7, 8 и 10). Ген *ABCB7* расположен на X-хромосоме, его мутация приводит к сцепленной с X-хромосомой сидеробластической анемии и атаксии [Kispal et al., 1997].

Подсемейство ABCC (MRP, multidrug resistance protein) включает 12 «полных» транспортёров, выполняющих функции транспорта ионов, экстрюзии токсинов и передачи сигналов. Из них активное участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков принимают три белка (MRP1, 2, 3). ABCC1 (MRP1) экспортирует глутатионированные токсины, образующиеся в фазе II. ABCC2 и ABCC3 также экскретируют конъюгаты глутатиона и другие органические ионы.

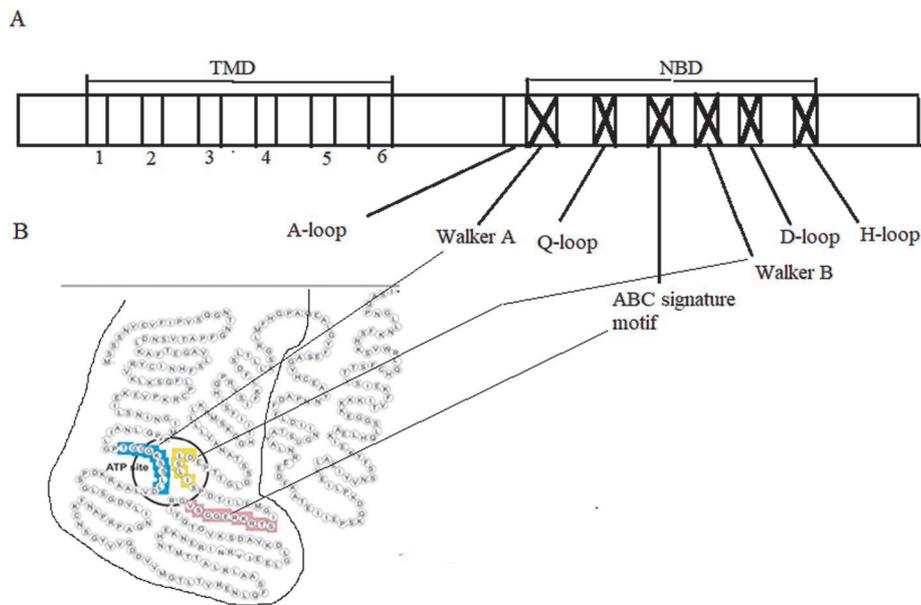


Рис. 1. Схема структуры «полутранспортера» BCRP (A) и его АТФ-связывающего сайта (NBD) (B).

Модификация рисунка из: [Ni et al., 2010]

Fig. 1. The scheme of half transporter BCRP structure (A) and its ATP-binding site (NBD) (B).

Modified from [Ni et al., 2010]

В подсемействе ABCD идентифицированы четыре гена, кодирующие «полутранспортеры», экспрессируемые исключительно в пероксисомах. Стоит отметить, что мутации гена *ABCD1* могут вызывать развитие сцепленной с X-хромосомой адренолейкодистрофии, которая характеризуется развитием нейродегенеративных процессов и может встречаться как у детей, так и у взрослых [Mosser et al., 1993]. Функция белков этого семейства остается невыясненной, но, исходя из сходства аминокислотных последовательностей, предполагается, что они участвуют в метаболизме липидов [Dean et al., 2001].

Количество генов, кодирующих белки подсемейства ABCG, отличается у разных организмов. У человека их пять, у дрозофилы 15, а у дрожжей – 10. Эти белки являются «полутранспортерами», составленными из N-концевого NBD и C-концевого TMD, но функционируют только в димерной форме. Высокий уровень экспрессии ABCG1 отмечен в макрофагах и индуцируется холестерином, а ABCG4 характерен для мозга [Dean et al., 2001]. В состав этого подсемейства входит транспортер ABCG2 (BCRP – breast cancer resistance protein), который экспортирует множество различных ксенобиотиков, включая лекарственные препараты, и вносит существенный вклад в множественную устойчивость раковых опухолей к химиотерапии.

Структура ABC-транспортеров

Молекула ABC-транспортера состоит из двух нуклеотидсвязывающих доменов (NBD) и одного или двух трансмембранных доменов (TMD), осуществляющих перенос субстратов (рис. 2). NBD различных ABC-транспортеров демонстрируют высокую степень сходства, главным образом в семи консервативных мотивах, отражающих общность механизмов использования АТФ в качестве источника энергии [Higgins et al., 1986; Kerr, 2002]. NBD имеют L-образную топологию и состоят из трех субдоменов (рис. 1, B). Более крупная доля I основного субдомена является RecA- и F1-АТФазоподобной структурой [Vetter, Wittinghofer, 1999]. В ее составе Walker A (GXXGXGKS [S/T]) и Walker B (hhhhDE) мотивы (где X – любой аминокислотный остаток (ao) и h – гидрофобный ao), общие для многих нуклеотидсвязывающих белков, а также A-, D-, H- и Q-петли. A-петля (25 ароматических ao) расположена на N-конце Walker A мотива. С ее помощью осуществляется позиционирование аденинового кольца АТФ в активном сайте [Ambudkar et al., 2006]. Консервативная D-петля (SALD) расположена сразу за C-концом Walker B мотива. Структурно эта петля соответствует ключевому участку, называемому P-петлей ферментов семейства АТФаз [Oswald et al., 2006]. H-петля образует-

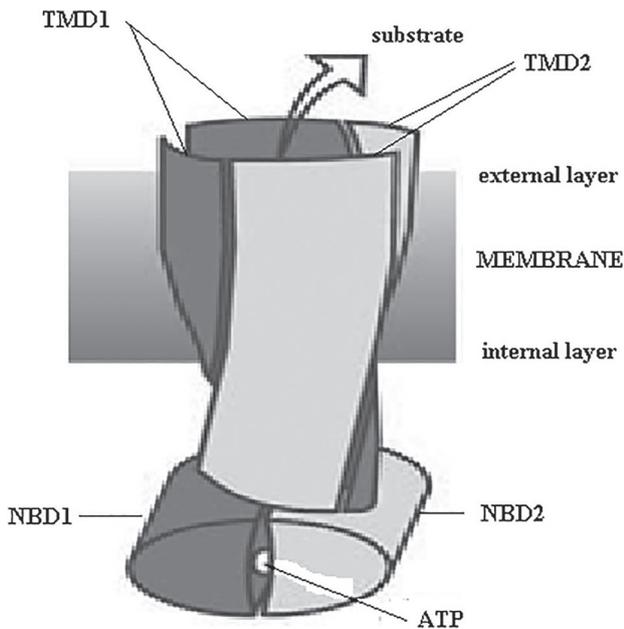


Рис. 2. 3D domain swapping у ABC-транспортеров.

Модификация рисунка из: [Dawson, Locher, 2006]

Fig. 2. 3D domain swapping of ABC transporters.

Modified from [Dawson, Locher, 2006]

ся из β -структуры и α -спирали на С-конце NBD, соединенных остатком гистидина, который выступает в роли шарнира и обеспечивает повышенный уровень гибкости участков этой петли. Гистидин взаимодействует с γ -фосфатной группой АТФ и консервативным остатком глутаминовой кислоты из D-петли. Q-петля состоит из восьми $\alpha\alpha$ с консервативным остатком глутамин на N-конце. Она связывает ядро АТФ с α -субдоменом и формирует часть интерфейса с TMD. Особенностью Q-петли является подвижность остатка глутамин, который в зависимости от фазы каталитического цикла обращен либо внутрь Mg^{2+} -АТФ-связывающего сайта, либо наружу после гидролиза АТФ. Кроме того, доля I содержит ABC β -субдомен, специфичный для ABC и АТФаз, играющий, вероятно, структурную роль [Karpowich et al., 2001]. Доля II, известная как α -спиральный субдомен, имеет специфическую, уникальную для ABC и АТФаз, последовательность (LSGGQ, линкерный пептид или С мотив), являющуюся диагностическим признаком ABC, и формирует несколько водородных связей с АТФ и непосредственно участвует в ее гидролизе. Любые изменения в этой последовательности блокируют гидролиз АТФ. Кроме того, LSGGQ способствуют образованию NBD-NBD димера [Ambudkar et al., 2006].

Мотивы Walker A и Walker B являются базой для формирования АТФ-связывающего «кармана». NBD ассоциированы в димер по типу

«голова к хвосту», два NBD формируют «двусторонний бутерброд» с АТФ, располагающейся вдоль поверхности димера (рис. 2), фланкированного Walker A и B последовательностями одной субъединицы, LSGGQ мотивом и D-петлей другой [Chen et al., 2003; Zaitseva et al., 2006]. В NBD-NBD-интерфейсе присутствуют две молекулы АТФ, два иона Mg^{2+} , а все мотивы вовлечены в координацию, за исключением D-петли, предположительно отвечающей за образование водородных связей между NBD. Каждый нуклеотидсвязывающий «карман» вмещает одну молекулу АТФ. Структура NBD различных ABC-транспортеров показывает, что кольцо аденина АТФ образует π - π связь с Tyr⁴⁰¹ А-петли. Tyr⁴⁰¹ стабилизируется Thr⁴³⁵ Walker A мотива через взаимодействие Ван дер Ваальса (расстояние между ОН группой Tyr⁴⁰¹ и концевым атомом С Thr⁴³⁵ 4,1 Å) [Ambudkar et al., 2006]. Положение Thr⁴³⁵ в Walker A мотиве высококонсервативно не только у Pgp птиц и млекопитающих, но и у ABC-транспортеров других видов. С другой стороны адениновое кольцо АТФ тесно взаимодействует с остатком Gln¹¹⁷⁵ (дистанция 3,8–4,2 Å), который расположен сразу после LSGGQ последовательности NBD2. Gln⁵³⁰ NBD1 и Gln¹¹⁷⁵ NBD2 располагаются над остатком Leu LSGGQ мотива и высококонсервативны у Pgp птиц и млекопитающих [Ambudkar et al., 2006]. Tyr⁴⁰¹ в NBD1 и, соответственно, Tyr¹⁰⁴⁴ в NBD2 также являются высококонсервативными остатками. Обнаружено, что их замена методом сайт-направленного мутагенеза на Ala или Cys приводила к потере способности связывать адениновое кольцо АТФ, в то время как при замене на другие ароматические $\alpha\alpha$ (Trp или Phe) функция сохранялась [Ambudkar et al., 2006]. Ион Mg^{2+} взаимодействует через водородную связь с остатком Asp Walker B мотива, помогая в поддержании геометрии активного сайта.

Основная масса ABC-экспортеров имеет два TMD, состоящих из 6 α -спиралей. В отличие от NBD TMD варьируют по аминокислотному составу, поэтому различными представителями этого семейства может транспортироваться большое число соединений. Большинство ABC-транспортеров высокоспецифичны и опознают очень ограниченное число субстратов, но некоторые, такие как ABCB1 (Pgp), транспортируют множество различных молекул [Higgins, 2007]. α -Спирали TMD примерно на 25 Å погружены в цитозоль для обеспечения контакта с NBD. В трансмембранных доменах ABC формируется кольцо из 12 α -спиралей в форме тора, состоящее из двух «арок» по шесть спиралей в каждой. Стоит отметить специфику постро-

ения трансмембранных доменов. Обнаружен феномен, показанный на многих белках и названный “3D domain swapping” [Liu, Eisenberg, 2002]. В частности, у транспортера Sav1866, как и у других ABC-транспортеров, трансмембранные спирали скручиваются, образуя два выраженных «крыла». Каждое «крыло» состоит из TM1–TM2 одной субъединицы и TM3–TM6 другой субъединицы [Dawson, Locher, 2006]. Обе субъединицы пространственно закручены таким образом, что внутриклеточные петли TMD1 соседствуют с таковыми NBD2 и наоборот. Схематически это представлено на рис. 2.

Транспортеры подсемейства ABCC, например MRP1, имеют дополнительный N-концевой TMD (TMD0), который меньше, чем основные TMD. Его удаление из ABCC1 не оказывало заметного влияния на транспортные функции, тем не менее линкерный участок между TMD0 и TMD1 очень важен для осуществления этим ABC своих функций [Bakos et al., 1998].

Тканевое распределение и субстраты ABC-транспортеров

У млекопитающих ABC-транспортеры обнаружены, не считая раковых клеток, во многих тканях – мозга, надпочечников, почек, легких, семенников, печени, плаценты, кишечника, в моноцитах, лимфоцитах, макрофагах. В гепатоцитах ABC участвуют в регуляции секреции липофильных молекул и удалении ксенобиотиков, попавших в организм [Johnstone et al., 2000a, b; Kusuhara, Sugiyama, 2001]. В частности, в нормальных тканях высокий уровень экспрессии белка резистентности рака молочной железы BCRP (breast cancer resistant protein) наблюдается в апикальных мембранах плацентарных синцитиотрофобластов, кишечном эпителии, гепатоцитах, эндотелиальных клетках капиллярной сети мозга и клетках проксимальных трубочек в почках, ответственных за абсорбцию, распределение, удаление лекарственных препаратов и эндогенных соединений, а также защиту ткани от воздействия ксенобиотиков.

Субстратами ABC-транспортеров являются широкий круг различных соединений (табл. 1). Кроме лекарственных средств эти белки транспортируют конъюгированные органические анионы, в частности, сульфатированные и глюкуронированные, такие как эстрон-3-сульфат, дегидроэпиандростерон и 17 β -эстрадиол 17-(β -D-glucuronide). Органические конъюгаты лекарств, ксенобиотиков и эндогенных соединений могут быть субстратами ABC. В частности, ABCG2 (BCRP) может экспортировать фосфорилированные нуклеозиды и нуклеотиды, главным

образом монофосфаты, такие как азидотимидин-5' – монофосфат; канцерогенный токсикант 2-амино-1-метил-6-фенилимидазопиридин, фототоксическое соединение (протопорфирин IX), фосфолипид фосфатидилсерин, флавоноид генистерин, мочевую кислоту и витамины. Представляется, что сульфатированные субстраты предпочтительнее для этого транспортера, чем глютационированные и глюкуронированные. По субстратной специфичности BCRP имеет «перекрывание» с Pgp и MRP1, хотя и неполное [Mao, Unadkat, 2005; Stacy et al., 2013].

Характеристика наиболее исследованных представителей семейства ABC

ABCB – высококонсервативное мультигенное подсемейство ABC, представленное у большого числа видов. ABCB1 (P-glycoprotein, Pgp, MDR1) – первый ABC, который был описан у человека [Juliano, Ling, 1976]. Белок найден в клетках гемато-энцефального барьера, в печени, кишечнике, почках, плаценте, створочных клетках.

Из набора изоформ Pgp – mdr1, mdr2, mdr3 у мышей, mdr1 и mdr2 у крыс, pgp1, pgp2, pgp3 у хомяков и MDR1, MDR2 у человека только MDR1 задействован во множественной лекарственной устойчивости [Jones, George, 1998].

Pgp человека – это четырехдоменный белок (TMD–NBD–TMD–NBD), который экспрессируется как полипептид (170 kDa), состоящий из 1280 ао и имеющий два домена по 610 ао, соединенных через линкер размером 60 ао [Loo, Clarke, 1999; Jones, George, 2000]. Оба домена имеют сходную структуру. Каждый домен содержит шесть трансмембранных α -спиралей, разделенных гидрофильными петлями. Представляется, что эти шесть мембраносвязанных доменов формируют путь, через который удаляемые молекулы пересекают мембраны, и на них лежит функция формирования субстратной специфичности. Связывание с субстратом осуществляют трансмембранные спирали 4–6 и 10–12. Этот механизм до конца не понят [Jones, George, 2000].

В 1992 г. описан второй ABC-транспортер, названный белком 1, ассоциированный с развитием множественной лекарственной устойчивости (MRP1, multidrug resistance-associated protein 1, ABCC1) [Barrand et al., 1994]. MRP1 у человека кодируется геном *MRP1* и экспрессируется как одиночная полипептидная цепь с Mr 190 kDa и состоящая из 1531 ао. Для этого белка характерна трехдоменная структура – два основных и один дополнительный N-концевой (TMD0), всего 17 трансмембран-

Таблица 1. Основные эндо- и экзогенные субстраты некоторых ABC-транспортеров [Loscher, Potschka, 2005]
 Table 1. Main endogenous and exogenous ABC substrates [Loscher, Potschka, 2005]

Белок Protein	Субстраты Substrates
ABCB1 (Pgp)	Противораковые препараты: доксорубин, даунорубин, винбластин, винкристин, этопозид, тенипозид, паклитаксел, метотрексат Анальгетики: морфин Ингибиторы протеазы ВИЧ: ампренавир, индинавир, саквинавир Цитокины: IL-2, IL-4 Антидиарейные препараты: лоперамид Антигельминтики: ивермектин, абамектин Противорвотные препараты: домперидон, ондасетрон Сердечные гликозиды: дигоксин Флуоресцентные красители: родамин-123 Антидепрессанты: амитриптилин, нортриптилин, доксепин, венлафаксин, пароксетин Антибиотики: эритромицин, валяномицин, тетрациклины, флуорохинолин Средства против подагры: колхицин, гистамин Антагонисты H2-рецептора: циметидин Блокаторы кальциевых каналов: верапамил Противозепилептические препараты: фенитоин, карбамазепин, ламотригин, фенобарбитал, фелбамат, габапентин, топирамат Anticancer drugs: doxorubicine, daunorubicine, vinblastine, vincristine, etoposide, teniposide, paclitaxel, methotrexate Analgesics e. g., morphine HIV protease inhibitors: amprenavir, indinavir, saquinavir Cytokines. g., IL-2, IL-4 Antidiarrheal agents: loperamide Anthelmintic agents: ivermectin, abamectin Antiemetics: domperidone, ondansetron Cardiac glycosides: digoxin Diagnostic (fluorescent) dyes: rhodamine-123 Antidepressants: amitryptiline, nortryptiline, doxepin, venlafaxine, paroxetine Antibiotics: erythromycin, valinomycin, tetracyclines, fluoroquinolone Anti-gout agents: colchicines, histamine H2-receptor antagonists: cimetidine Calcium channel blocker: verapamil Antiepileptic drugs: phenytoin, carbamazepine, lamotrigine, phenobarbital, felbamate, gabapentin, topiramate
ABCC1 (MRP1)	Противораковые препараты: этопозид, тенипозид, винкристин Лейкотриены C4 (LTC4), D4, E4 Различные глутатион-, глюкуронид- и сульфат-конъюгаты, а также неконъюгированные соединения (флуоресцеин) Anticancer drugs: etoposide, teniposide, vincristine Leukotriene C4 (LTC4), D4, E4; Various glutathione, glucuronide, and sulfate conjugates, but also unconjugated compounds (fluorescein)
ABCC2 (MRP2)	Аналогично с MRP1 Similar to MRP1
ABCC3 (MRP3)	Транспортёр органических анионов со значительным сходством субстратной спецификации с MRP1 и MRP2 Organic anion transporter with considerable overlap in drug substrates with MRP1 and MRP2
ABCC4 (MRP4)	Противораковые препараты, такие как метотрексат, 6-меркаптопурин, тиогуанин Anticancer drugs such as methotrexate, 6-mercaptapurine, thioguanine
ABCC5 (MRP5)	цГМФ, цАМФ, 6-меркаптопурин, тиогуанин, флуоресцеин cGMP, cAMP, 6-mercaptapurine, thioguanine, fluorescein
ABCC6 (MRP6)	BQ-123 (анионный циклопентапептид, антагонист рецептора эндотелина) BQ-123 (an anionic cyclopentapeptide and endothelin receptor antagonist)
ABCG2 (BCRP)	Противораковые препараты, значительное субстратное перекрытие с Pgp, MRP1 и MRP2 Антрациклины, митоксантрон, бисантрон, празолин Several anticancer drugs; considerable substrate overlap with Pgp, MRP1, and MRP2. Anthracyclines, mitoxantrone, bisantrene, prazolin

ных α -спиралей, из которых 10, 11 и 16, 17 спирали участвуют в опознавании ксенобиотиков [Cole et al., 1992]. Удаление TMD0 из ABCC1

имеет незначительное влияние на функцию, а линкерный регион между TMD0 и TMD1 важен для функционирования [Bakos et al., 1998].

MRP1, так же как и Pgp, гликозилирован. Обнаружен в легких, семенниках, почках, скелетной и сердечной мускулатуре, плаценте.

Резистентный белок рака молочной железы (BCRP) – второй представитель подсемейства G в семействе ABC и обозначается как ABCG2. В 1998 г. он впервые был идентифицирован в клетках рака молочной железы линии MCF-7/AdrVp, устойчивой к воздействию препаратов [Doyle et al., 1998]. Молекулярная масса BCRP около 75 kDa (655 aa). В отличие от Pgp и MRP1 является «полутранспортером» [Ni et al., 2010; Natarajan et al., 2012]. BCRP функционирует в виде гомодимера. TMD белка содержит 6 TM α -спиралей. Стоит отметить, что имеется только один сайт N-гликозилирования в позиции 596 (Asn⁵⁹⁶), и он расположен на экстрацеллюлярной петле, соединяющей TM5 и TM6 [Wang et al., 2008].

Транспортный цикл ABC-транспортеров

Считается, что транспортный цикл ABC-транспортера включает четыре стадии (рис. 3) [Zolnerciks et al., 2011].

Стадия 1: экспортируемая молекула связывается с внутренней поверхностью высокоаффинного «кармана» TMD и дает начало транспортному циклу. Представляется вероятным, что соединения поступают в ABCB1 непосредственно с внутреннего слоя мембраны. Далее происходит захват молекул АТФ. При отсутствии транспортируемой молекулы TMD по принципу отрицательной обратной связи тормозят захват АТФ доменами NBD, уменьшая вероятность «бесполезной» траты энергии [Orelle et al., 2008]. Вероятно, что конформация TMD–TMD апо-формы ABCB1 в виде «перевернутого» V (рис. 3 (1)) необходима для полного открывания связывающей полости для приема молекул разного размера. Объем полости составляет более чем 6000 куб. Å [Aller et al., 2009]. Для того чтобы достичь этого эффекта, в процессе эволюции TMD возникла вторая связывающая спираль для сохранения прямого контакта с обоими NBD в течение всего транспортного цикла. Предполагается, что связывание экспортируемых молекул с TMD индуцирует конформационные изменения, которые передаются на NBD через связывающие спирали,

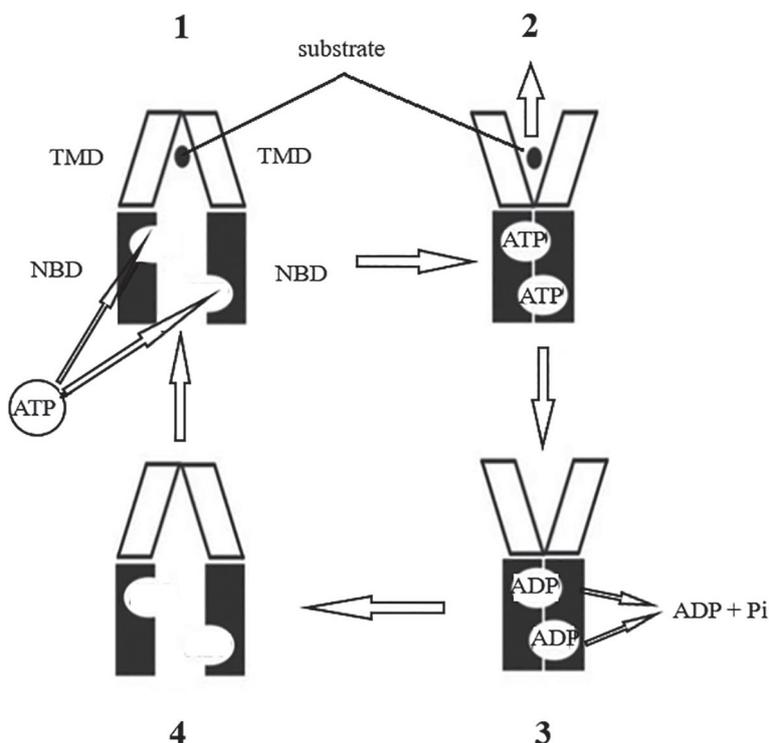


Рис. 3. Стадии транспортного цикла молекулы ABCB1 (Pgp) (описание в тексте).

Модификация рисунка из: [Jones, George, 2014]

Fig. 3. Stages of ABCB1 (Pgp) transport cycle (see the description in the text).

Modified from [Jones, George, 2014]

приводящие к образованию NBD–NBD димера. Расстояние, которое проходят NBD навстречу друг другу, достигает 20 Å [Holland, 2011].

Стадия 2: образование закрытого NBD-димера генерирует образование в TMD «кармана» с низкой аффинностью. Экспортируемая молекула переходит в этот «карман» и затем экспортируется. Далее происходит гидролиз АТФ, который возвращает молекулу транспортера в исходное состояние. Данные по структуре транспортера показывают, что «закрытая» конформация NBD-димера образует «сэндвич» с двумя молекулами АТФ внутри. Мартэн с соавторами [Martin et al., 2000] показали, что связывание негидролизуемого аналога АТФ (adenosine-5'- γ -thio-triphosphate) с ABCB1 снижает сродство к цитостатику винбластину; это подтверждает вывод о важности АТФ для осуществления транспортных функций. Изучение экспортера LmrA из бактерий показало, что высокоаффинный сайт контактирует с внутренним слоем мембраны, а сайт с низкой аффинностью – с наружным [van Veen et al., 2000]. Остается непонятным, как происходит «схлопывание» NBD. Неизвестен еще ряд важных деталей, например, как связывание АТФ с отдельными NBD происходит *in vivo*, когда TMD препятствует димеризации NBD; как стимуляция связывающих спиралей способствует присоединению АТФ к NBD; как происходит аллостерическое взаимодействие с обоими нуклеотидсвязывающими «карманами». Смитом с соавт. [Smith et al., 2002] впервые предложено, а Зайцевой с соавт. [Zaitseva et al., 2006] экспериментально подтверждено на изолированных NBD, что ведущую роль в этом процессе играет Q-петля.

Стадия 3: гидролиз АТФ инициирует формирование NBD–NBD димера. Конформация NBD-димера полного транспортера может представлять собой автокаталитическую единицу транспортного цикла, хотя предполагалось, что удаление транспортируемой молекулы должно выступать в роли триггера конформационных изменений в TMD, которые передаются NBD, что приводит к гидролизу АТФ [Higgins, Linton, 2004]. ABCB1 необходимы оба NBD для катализа, но гидролиз АТФ не происходит одновременно в обоих нуклеотидсвязывающих карманах. Предполагается, но не доказано, что обе молекулы АТФ гидролизуются в транспортном цикле. У некоторых ABC-экспортеров, таких как ABCB2/3 (TAP1/2) и ионный канал CFTR, в каждом цикле гидролизуется одна молекула АТФ [Chen et al., 2004; Zhou et al., 2006]. Простейшим предположением является то, что гидролиз одной или двух молекул АТФ может происходить в зависимо-

сти от количества энергии, требуемой для дестабилизации NBD–NBD димера.

Стадия 4: после гидролиза АТФ первым из NBD высвобождается остаток фосфорной кислоты, затем АДФ, и транспортер возвращается в исходное состояние. Точных сведений, как это происходит, нет, и могут существовать отличия в зависимости от того или иного транспортера. Например, не являющийся транспортером в классическом понимании ABC-белок MutS (задействован в репарации ДНК) удерживает одну молекулу АДФ до тех пор, пока связывание с ДНК не запускает конформационные изменения, приводящие к замещению АДФ на АТФ [Lamer et al., 2003].

Взаимодействие ABC с ферментами I и II фаз биотрансформации

В таблице 2 приведены основные ABC-транспортеры, участвующие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков у человека.

В ряде исследований показано взаимодействие между ферментом фазы I биотрансформации из группы цитохромов P450 (CYP3A4) и транспортером ABCB1 (Pgp) [Benet et al., 2003, 2004; Darwich et al., 2010]. Обнаружено, что существенный рост внутриклеточного содержания К-77 (ингибитор цистеиновых протеиназ) происходил, когда транспортные функции Pgp подавляли специфическим ингибитором (GG918, элакридар) либо циклоспорином – общим субстратом для Pgp и CYP3A. Интересно отметить, что этот эффект выявлен в печени, а в кишечнике он отсутствовал. Вероятно, высокий уровень аффинности Pgp к субстратам CYP3A приводит к ускорению их взаимодействия с ферментом путем увеличения числа повторных циклов, уменьшая тем самым концентрацию метаболитов внутри клетки. Этот процесс препятствует блокировке активности CYP3A из-за избыточного насыщения субстратом [Benet et al., 2004].

Показано, что транспортер ABCG2 (BCRP) из печени и кишечника активно экспортирует глюкуроны и сульфаты (метаболиты фазы II биотрансформации) генистеина и дайдзеина – изофлавонов, обладающих свойствами фитоэстрогенов и найденных в растениях сем. *Leguminosae* [Bircsak, Aleksunes, 2015]. Обнаружено, что экспорт глюко- и сульфоконъюгатов генистеина из клеток линии Caco2 снижался при использовании ингибитора BCRP (Ko143) в дозе 5 μ M [Yang et al., 2012]. Введение в культуру клеток HeLa данного ингибитора приводило к накоплению в них генистеин-глюкуронида [Jiang et al., 2012].

Таблица 2. Ключевые ABC-транспортеры человека, участвующие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков [Szakács et al., 2008]

Table 2. Key human ABC transporters contributing to the functioning of the xenobiotics transformation system [Szakács et al., 2008]

Название белка Protein	Размер белка Protein size	Тканевое распределение Tissue distribution	Топология Topology
ABCB1/Pgp/MDR1	1280 <i>ao</i> (aa) *	Гемато-энцефальный барьер, печень. Кишечник, почки, плацента, стволовые клетки Blood – brain barrier, liver. Intestine, kidney, placenta, stem cells	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCB11/BSEP/SPGP	1321 <i>ao</i> (aa)	Печень Liver	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC1/MRP1	1531 <i>ao</i> (aa)	Легкие, семенники, почки, скелетная и сердечная мускулатура, плацента Lung, testis, kidney, skeletal and cardiac muscle, placenta	TMD0-L0-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC2/MRP2	1545 <i>ao</i> (aa)	Гемато-энцефальный барьер, печень, кишечник, почки, плацента, легкие Blood – brain barrier, liver, intestine, kidney, placenta, lung	TMD0-L0-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC3/MRP3	1527 <i>ao</i> (aa)	Надпочечники, кишечник, поджелудочная железа, желчный пузырь, плацента, печень, почки, простата Adrenal gland, intestine, pancreas, gallbladder, placenta, liver, kidney, prostate	TMD0-L0-TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC4/MRP4	1325 <i>ao</i> (aa)	Яичники, семенники, почки, легкие, простата Ovary, testis, kidney, lung, prostate	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCC5/MRP5	1437 <i>ao</i> (aa)	Печень, семенники, скелетная и сердечная мускулатура, мозг Liver, testis, skeletal and cardiac muscle, brain	TMD1-NBD1-TMD2-NBD2
ABCG2/BCRP	655 <i>ao</i> (aa)	Гемато-энцефальный барьер, плацента, печень, кишечник, молочная железа, стволовые клетки Blood – brain barrier, placenta, liver, intestine, breast, stem cells	NBD-TMD

Примечание. * *ao* (aa) – аминокислотные остатки (amino acids).

Note. * *ao* (aa) – amino acid residue (amino acids).

Заключение

АТФ-зависимые кассетные ABC-транспортеры – одно из самых больших суперсемейств белков, широко представленных у всех живых организмов, от прокариот до человека.

Изучение особенностей их функционирования помимо фундаментальной направленности имеет выраженный медицинский аспект, связанный с устойчивостью опухолей к химиотерапевтическому воздействию по причине высокой активности именно этой группы белков. Полученный к настоящему времени массив данных указывает на важную роль ABC-транспортеров в функционировании системы биотрансформации эндогенных соединений и ксенобиотиков. Однако ряд вопросов, связанных с механизмами экспорта, особенностями взаимодействия с ферментами I и II фаз биотрансформации, остаются нерешенными. Поэтому необходимость продолжения исследований этой чрезвычайно интересной группы транспортных белков не вызывает сомнений.

Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (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»).

Литература

- Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В.
1. Транспортеры органических анионов (ОАТ). Молекулярное разнообразие, структура, функция, участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков у животных (обзор) // Труды КарНЦ РАН. 2017а. № 12. С. 29–42. doi: 10.17076/eb622
 2. Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В. Транспортеры органических анионов (ОАТ). Свойства, структура, участие в процессах биотрансформации ксенобиотиков у животных (обзор) // Труды КарНЦ РАН. 2017б. № 12. С. 43–56. doi: 10.17076/eb629
 3. Смирнов Л. П. Белки-транспортеры органических катионов семейства SLC22 (OCT-OCTN). Моле-

кулярное разнообразие, структура, функция, участие в функционировании системы межорганной коммуникации у животных (обзор) // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 12. С. 3–19. doi: 10.17076/eb866

Abuznait A. H., Qosa H., Busneva B. A., El Sayed K. A., Kaddoumi A. Olive-oil-derived oleocanthal enhances beta-amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies // ACS Chem. Neurosci. 2013. Vol. 4(6). P. 973–982. doi: 10.1021/cn400024q

Aller S. G., Yu J., Ward A., Weng Y., Chittaboina S., Zhuo R., Harrell P. M., Trinh Y. T., Zhang Q., Urbatsch I. L., Chang, G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding // Science. 2009. Vol. 323. P. 1718–1722. doi: 10.1126/science.1168750

Ambudkar S. V., Kim I. W., Xia D., Sauna Z. E. The A-loop, a novel conserved aromatic acid subdomain upstream of the Walker A motif in ABC transporters, is critical for ATP binding // FEBS Lett. 2006. Vol. 580. P. 1049–1055. doi: 10.1016/j.febslet.2005.12.051

Bakos E., Evers R., Szakacs G., Tusnady G. T., Welker E., Szabo K., de Haas M., van Deemter L., Borst P., Varadi A., Sarcadi B. Functional multidrug resistance protein (MRP1) lacking the N-terminal transmembrane domain // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. P. 32167–32175. PMID: 9822694

Barrand M. A., Heppell-Parton A. C., Wright K. A., Rabbitts P. H., Twentyman P. R. A 190-kilodalton protein overexpressed in non-P-glycoprotein-containing multidrug-resistant cells and its relationship to the MRP gene // J. Natl. Cancer Inst. 1994. Vol. 86(2). P. 110–117.

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Transporter-enzyme interactions: implications for predicting drug-drug interactions from in vitro data // Curr. Drug Metab. 2003. Vol. 4(5). P. 393–398. PMID: 14529371.

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes // Int. J. Pharm. 2004. Vol. 277. P. 3–9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2002.12.002

Bircsak K. M., Aleksunes L. M. Interaction of iso-flavones with the BCRP/ABCG2 drug transporter // Curr. Drug Metab. 2015. Vol. 16(2). P. 124–140. PMID: 26179608.

Chen J., Lu G., Lin J., Davidson A. L., Quijcho F. A. A tweezers-like motion of the ATP-binding cassette dimer in an ABC transport cycle // Mol. Cell. 2003. Vol. 12. P. 651–661. PMID: 14527411

Chen M., Abele R., Tampé R. Functional non-equivalence of ATP-binding cassette signature motifs in the transporter associated with antigen processing (TAP) // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279. P. 46073–46081. doi: 10.1074/jbc.M404042200

Cole S. P., Bhardwaj G., Gerlach J. H., Mackie J. E., Grant C. E., Almquist K. C., Stewart A. J., Kurz E. U., Duncan A. M., Deeley R. G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line // Science. 1992. Vol. 258. P. 1650–1654. PMID: 1360704

Cvilink V., Lamka J., Skálová L. Xenobiotic metabolizing enzymes and metabolism of anthelmintics in helminths // Drug Metab. Rev. 2009. Vol. 41(1). P. 8–26. doi: 10.1080/03602530802602880

Darwich A. S., Neuhoff S., Jamei M., Rostami-Hodjegan A. Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: a simulation assessment using the “Advanced Dissolution, Absorption, Metabolism (ADAM)” model // Curr. Drug Metab. 2010. Vol. 11(9). P. 716–729. PMID: 21189140

Dassa E., Bouige P. The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms // Res. Microbiol. 2001. Vol. 152. P. 211–229. PMID: 11421270

Dean M., Rzhetsky A., Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily // Genome Res. 2001. Vol. 11. P. 1156–1166. PMID: 11421270

Doyle L. A., Yang W., Abruzzo L. V., Krogmann T., Gao Y., Rishi A. K., Ross D. D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95(26). P. 15665–15670. PMID: 9861027

Dawson R. J., Locher K. P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter // Nature. 2006. Vol. 443. P. 180–185. doi: 10.1038/nature05155

Gottesman M. M., Ambudkar S. V. Overview: ABC transporters and human disease // J. Bioenerg. Biomembr. 2001. Vol. 33(6). P. 453–458. PMID: 11804186

Higgins C. F. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters // Nature. 2007. Vol. 446. P. 749–757. doi: 10.1038/nature05630

Higgins C. F., Linton K. J. ABC transporters, an introduction and overview // ABC Proteins / I. B. Holland (ed.). London: Academic Press, 2003. P. 317–335.

Higgins C. F., Hiles I. D., Salmond G. P., Gill D. R., Downie J. A., Evans I. J., Holland I. B., Gray L., Buckel S. D., Bell A. W. A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria // Nature. 1986. Vol. 323. P. 448–450. doi: 10.1038/323448a0

Holland I. B. ABC transporters, mechanisms and biology: an overview // Essays Biochem. 2011. Vol. 50. P. 1–17. doi: 10.1042/BSE0500001

Huls M., Russel F. G., Masereeuw R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2009. Vol. 328(1). P. 3–9. doi: 10.1124/jpet.107.132225

Ishikawa T. The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump // Trends Biochem. Sci. 1992. Vol. 17, no. 11. P. 463–468. PMID: 1455517

Jiang W., Xu B., Wu B., Yu R., Hu M. UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A9-overexpressing HeLa cells is an appropriate tool to delineate the kinetic interplay between breast cancer resistance protein (BRCP) and UGT and to rapidly identify the glucuronide substrates of BCRP // Drug Metab. Dispos. 2012. Vol. 40. P. 336–345. PMID: 22071170

Jones P. M., George A. M. A new structural model for P-glycoprotein // J. Gen. Membr. Biol. 1998. Vol. 166. P. 133–147. PMID: 9841738

Jones P. M., George A. M. Symmetry and structure in P-glycoprotein and ABC transporters what goes around comes around // Eur. J. Biochem. 2000. Vol. 267. P. 5298–5305. PMID: 10951188

Jones P. M., O'Mara M. L., George A. M. ABC transporters: a riddle wrapped in mystery inside an enigma // Trends Biochem. Sci. 2009. Vol. 34. P. 520–531. PMID: 10951188

Jones P. M., George A. M. A reciprocating twin-channel model for ABC transporters // Q Rev. Biophys. 2014. Vol. 47(3). P. 189–220. doi: 10.1017/S0033583514000031

Johnstone R. W., Ruefli A. A., Tainton K. M., Smyth M. J. A role for P-glycoprotein in regulating cell death // Leukemia Lymphoma. 2000a. Vol. 38. P. 1–11. doi: 10.3109/10428190009060314

Johnstone R. W., Ruefli A. A., Smyth M. J. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? // Trends Biochem. Sci. 2000b. Vol. 25. P. 1–6.

Juliano R. L., Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants // Biochim. Biophys. Acta. 1976. Vol. 455. P. 152–162. PMID: 990323

Karpowich N., Martsinkevich O., Millen L., Yuan Y. R., Dai P. L., MacVey K., Thomas P. J., Hunt J. F. Crystal structures of the MJ1267 ATP binding cassette reveal an induced-fit effect at the ATPase active site of an ABC transporter // Structure. 2001. Vol. 9. P. 571–586.

Kerr I. D. Structure and association of ATP-binding cassette transporter nucleotide-binding domains // Biochim. Biophys. Acta. 2002. Vol. 1561. P. 47–64. PMID: 11988180

Kispal G., Csere P., Guiard B., Lill R. The ABC transporter Atm1p is required for mitochondrial iron homeostasis // FEBS Lett. 1997. Vol. 418. P. 346–350. PMID: 9428742

Kusuhara H., Sugiyama Y. Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier (Part 1) // Drug Disc. Today. 2001. Vol. 6. P. 150–156. PMID: 11165188

Mosser J., Douar A. M., Sarde C. O., Kioschis P., Feil R., Moser H., Poustka A. M., Mandel J. L., Aubourg P. Putative X-lined adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters // Nature. 1993. Vol. 361. P. 726–730. doi: 10.1038/361726a0

Lamer M. H., Winterwerp H. H., Sixma T. K. The alternating ATPase domains of MutS control DNA mismatch repair // EMBO J. 2003. Vol. 22. P. 746–756. doi: 10.1093/emboj/cdg064

Liu Y., Eisenberg D. 3D domain swapping: as domains continue to swap // Protein Sci. 2002. Vol. 11(6). P. 1285–1299. doi: 10.1110/ps.0201402

Löscher W., Potschka H. Blood-Brain Barrier Active Efflux Transporters: ATP-Binding Cassette Gene Family // NeuroRx. 2005. Vol. 2. P. 86–98. doi: 10.1602/neurorx.2.1.86

Locher K. P. Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci. 2009. Vol. 364(1514). P. 239–245.

Loo T. W., Clarke D. M. Molecular dissection of the human multidrug resistance P-glycoprotein // Biochem. Cell Biol. 1999. Vol. 77. P. 11–23. PMID: 10426282

Mao Q., Unadkat J. D. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport // AAPS J. 2005. Vol. 7. P. E118–133. doi: 10.1208/aapsj070112

Martin C., Berridge G., Mistry P., Higgins C., Charlton P., Callaghan R. Drug binding sites on P-glycoprotein are altered by ATP binding prior to nucleotide hydrolysis // Biochemistry. 2000. Vol. 39. P. 11901–11906. PMID: 11009602

Natarajan K., Xie Y., Baer M. R., Ross D. D. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance // Biochem. Pharmacol. 2012. Vol. 83. P. 1084–1093. doi: 10.1016/j.bcp.2012.01.002

Ni Z., Bikadi Z., Rosenberg M. F., Mao Q. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) // Curr. Drug Metab. 2010. Vol. 11. P. 603–617. PMID: 20812902

Orelle C., Ayvaz T., Everly R. M., Klu C. S., Davidson A. L. Both maltose-binding protein and ATP are required for nucleotide-binding domain closure in the intact maltose ABC transporter // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105. P. 12837–12842. doi: 10.1073/pnas.0803799105

Oswald C., Holland I. B., Schmitt L. The motor domains of ABC-transporters. What can structures tell us // Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol. 2006. Vol. 372. P. 385–399. doi: 10.1007/s00210-005-0031-4

Pahnke J., Fröhlich C., Krohn M., Schumacher T., Paarmann K. Impaired mitochondrial energy production and ABC transporter function-A crucial interconnection in dementing proteopathies of the brain // Mech Ageing Dev. 2013. Vol. 134(10). P. 506–515. doi: 10.1016/j.mad.2013.08.001

Smith P. C., Karpowich N., Millen L., Moody J. E., Rosen J., Thomas P. J., Hunt J. F. ATP binding to the motor domain from an ABC transporter drives formation of a nucleotide sandwich dimer // Mol. Cell. 2002. Vol. 10. P. 139–149.

Stacy A. E., Jansson P. J., Richardson D. R. Molecular pharmacology of ABCG2 and its role in chemoresistance // Mol. Pharmacol. 2013. Vol. 84. P. 655–669. doi: 10.1124/mol.113.088609

Stieger B., Meier P. J. Bile acid and xenobiotic transporters in liver // Curr. Opin. Cell Biol. 1998. Vol. 10. P. 462–467. PMID: 9719866

Szakács G., Váradi A., Özvegy-Laczka C., Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox) // Drug Discovery Today. Vol. 13, no. 9/10. P. 279–393. doi: 10.1016/j.drudis.2007.12.010

Theodoulou F. L., Kerr I. D. ABC transporter research: going strong 40 years on // Biochem. Soc. Trans. 2015. Vol. 43. P. 1033–1040. doi: 10.1042/BST20150139

van Veen H. W., Margolles A., Muller M., Higgins C. F., Konings W. N. The homodimeric ATP-binding cassette transporter LmrA mediates multidrug transport by an alternating two-site (two-cylinder engine) mechanism // EMBO J. 2000. Vol. 19. P. 2503–2514. doi: 10.1093/emboj/19.11.2503

Vetter I. R., Wittinghofer A. Nucleoside triphosphate-binding proteins: different scaffolds to achieve phosphoryl transfer // Q. Rev. Biophys. 1999. Vol. 32. P. 1–56.

Wang H., Lee E. W., Cai X., Ni Z., Zhou L., Mao Q. Membrane topology of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) determined by epitope insertion and immunofluorescence // Biochemistry. 2008. Vol. 47. P. 13778–13787. doi: 10.1021/bi801644v

Yang Z., Zhu W., Gao S., Yin T., Jiang W., Hu M. Breast cancer resistance protein (ABCG2) determines distribution of genistein phase II metabolites: reevaluation of the roles of ABCG2 in the disposition of genistein // *Drug Metab. Dispos.* 2012. Vol. 40. P. 1883–1893. doi: 10.1124/dmd.111.043901

Zaitseva J., Oswald C., Jumpertz T., Jenewein S., Wiedenmann A., Holland I. B., Schmitt L. A structural analysis of asymmetry required for catalytic activity of an ABC-ATPase domain dimer // *EMBO J.* 2006. Vol. 25. P. 3432–3443. doi: 10.1038/sj.emboj.7601208

Zhou Z., Wang X., Liu H. Y., Zou X., Li M., Hwang T. C. The two ATP binding sites of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) play distinct roles in gating kinetics and energetic // *J. Gen. Physiol.* 2006. Vol. 128. P. 413–422. doi: 10.1085/jgp.200609622

Zolnerciks J. K., Andress E. J., Nicolaou M., Linton K. J. Structure of ABC transporters // *Essays Biochem.* 2011. Vol. 50. P. 43–61. doi: 10.1042/BSE0500043

Поступила в редакцию 02.04.2019

References

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

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V. 2. Transportery organicheskikh anionov (OATR). Svoistva, struktura, uchastie v protsessakh biotransformatsii ksenobiotikov u zhivotnykh (obzor) [2. Organic anion transporters of the SLCO Family. Properties, structure, contribution to the functioning of the xenobiotic biotransformation system in animals (a review)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2017b. No. 12. P. 43–56. doi: 10.17076/eb629

Smirnov L. P. 3. Belki-transportery organicheskikh kationov semeistva SLC22 (OCT-OCTN). Molekulyarnoe raznoobrazie, struktura, funktsiya, uchastie v funkcionirovanii sistemy mezhorgannoi kommunikatsii u zhivotnykh (obzor) [3. Organic cation transporters of the SLC22 family. Molecular diversity, structure, function, partnership in the functioning of the interorgan communication system of animals (a review)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 12. P. 3–19. doi: 10.17076/eb866

Abuznait A. H., Qosa H., Busneva B. A., El Sayed K. A., Kaddoumi A. Olive-oil-derived oleocanthal enhances beta-amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies. *ACS Chem. Neurosci.* 2013. Vol. 4(6). P. 973–982. doi: 10.1021/cn400024q

Aller S. G., Yu J., Ward A., Weng Y., Chittaboina S., Zhuo R., Harrell P. M., Trinh Y. T., Zhang Q., Urbatsch I. L., Chang G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science.* 2009. Vol. 323. P. 1718–1722. doi: 10.1126/science.1168750

Ambudkar S. V., Kim I. W., Xia D., Sauna Z. E. The A-loop, a novel conserved aromatic acid subdomain upstream of the WalkerA motif in ABC transporters, is critical for ATP binding. *FEBS Lett.* 2006. Vol. 580. P. 1049–1055. doi: 10.1016/j.febslet.2005.12.051

Bakos E., Evers R., Szakacs G., Tusnady G. T., Welker E., Szabo K., de Haas M., van Deemter L., Borst P., Varadi A., Sarcadi B. Functional multidrug resistance protein (MRP1) lacking the N-terminal transmembrane

domain. *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 32167–32175. PMID: 9822694

Barrand M. A., Heppell-Parton A. C., Wright K. A., Rabbitts P. H., Twentyman P. R. A 190-kilodalton protein overexpressed in non-P-glycoprotein-containing multidrug-resistant cells and its relationship to the MRP gene. *J. Natl. Cancer Inst.* 1994. Vol. 86(2). P. 110–117.

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Transporter-enzyme interactions: implications for predicting drug-drug interactions from in vitro data. *Curr. Drug Metab.* 2003. Vol. 4(5). P. 393–398. PMID: 14529371

Benet L. Z., Cummins C. L., Wu C. Y. Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes. *Int. J. Pharm.* 2004. Vol. 277. P. 3–9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2002.12.002

Bircsak K. M., Aleksunes L. M. Interaction of isoflavones with the BCRP/ABCG2 drug transporter. *Curr. Drug Metab.* 2015. Vol. 16(2). P. 124–140. PMID: 26179608

Chen J., Lu G., Lin J., Davidson A. L., Quijcho F. A. A tweezers-like motion of the ATP-binding cassette dimer in an ABC transport cycle. *Mol. Cell.* 2003. Vol. 12. P. 651–661. PMID: 14527411

Chen M., Abele R., Tampé R. Functional non-equivalence of ATP-binding cassette signature motifs in the transporter associated with antigen processing (TAP). *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 46073–46081. doi: 10.1074/jbc.M404042200

Cole S. P., Bhardwaj G., Gerlach J. H., Mackie J. E., Grant C. E., Almquist K. C., Stewart A. J., Kurz E. U., Duncan A. M., Deeley R. G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science.* 1992. Vol. 258. P. 1650–1654. PMID: 1360704

Cvilink V., Lamka J., Skálová L. Xenobiotic metabolizing enzymes and metabolism of anthelmintics in helminthes. *Drug Metabol. Rev.* 2009. Vol. 41(1). P. 8–26. doi: 10.1080/03602530802602880

Darwich A. S., Neuhoff S., Jamei M., Rostami-Hodjegan A. Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: a simulation assessment using the “Advanced Dissolution, Absorption, Metabolism (ADAM)” model. *Curr. Drug Metab.* 2010. Vol. 11(9). P. 716–729. PMID: 21189140

Dassa E., Bouige P. The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms. *Res. Microbiol.* 2001. Vol. 152. P. 211–229. PMID: 11421270

- Dean M., Rzhetsky A., Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res.* 2001. Vol. 11. P. 1156–1166. PMID: 11421270
- Doyle L. A., Yang W., Abruzzo L. V., Krogmann T., Gao Y., Rishi A. K., Ross D. D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95(26). P. 15665–15670. PMID: 9861027
- Dawson R. J., Locher K. P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter. *Nature.* 2006. Vol. 443. P. 180–185. doi: 10.1038/nature05155
- Gottesman M. M., Ambudkar S. V. Overview: ABC transporters and human disease. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2001. Vol. 33(6). P. 453–458. PMID: 11804186
- Higgins C. F. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters. *Nature.* 2007. Vol. 446. P. 749–757. doi: 10.1038/nature05630
- Higgins C. F., Linton K. J. ABC transporters, an introduction and overview. *ABC Proteins.* I. B. Holland (ed.). London: Academic Press, 2003. P. 317–335.
- Higgins C. F., Hiles I. D., Salmond G. P., Gill D. R., Downie J. A., Evans I. J., Holland I. B., Gray L., Buckel S. D., Bell A. W. A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria. *Nature.* 1986. Vol. 323. P. 448–450. doi: 10.1038/323448a0
- Holland I. B. ABC transporters, mechanisms and biology: an overview. *Essays Biochem.* 2011. Vol. 50. P. 1–17. doi: 10.1042/BSE0500001
- Huls M., Russel F. G., Masereeuw R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009. Vol. 328(1). P. 3–9. doi: 10.1124/jpet.107.132225
- Ishikawa T. The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump. *Trends Biochem. Sci.* 1992. Vol. 17, no. 11. P. 463–468. PMID: 1455517
- Jiang W., Xu B., Wu B., Yu R., Hu M. UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A9-overexpressing HeLa cells is an appropriate tool to delineate the kinetic interplay between breast cancer resistance protein (BCRP) and UGT and to rapidly identify the glucuronide substrates of BCRP. *Drug Metab. Dispos.* 2012. Vol. 40. P. 336–345. PMID: 22071170
- Jones P. M., George A. M. A new structural model for P-glycoprotein. *J. Membr. Biol.* 1998. Vol. 166. P. 133–147. PMID: 9841738
- Jones P. M., George A. M. Symmetry and structure in P-glycoprotein and ABC transporters what goes around comes around. *Eur. J. Biochem.* 2000. Vol. 267. P. 5298–5305. PMID: 10951188
- Jones P. M., O'Mara M. L., George A. M. ABC transporters: a riddle wrapped in mystery inside an enigma. *Trends Biochem. Sci.* 2009. Vol. 34. P. 520–531. PMID: 10951188
- Jones P. M., George A. M. A reciprocating twin-channel model for ABC transporters. *Q. Rev. Biophys.* 2014. Vol. 47(3). P. 189–220. doi: 10.1017/S0033583514000031
- Johnstone R. W., Ruefli A. A., Tainton K. M., Smyth M. J. A role for P-glycoprotein in regulating cell death. *Leukemia Lymphoma.* 2000a. Vol. 38. P. 1–11. doi: 10.3109/10428190009060314
- Johnstone R. W., Ruefli A. A., Smyth M. J. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem. Sci.* 2000b. Vol. 25. P. 1–6.
- Juliano R. L., Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta.* 1976. Vol. 455. P. 152–162. PMID: 990323
- Kerr I. D. Structure and association of ATP-binding cassette transporter nucleotide-binding domains. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1561. P. 47–64. PMID: 11988180
- Kispal G., Csere P., Guiard B., Lill R. The ABC transporter Atm1p is required for mitochondrial iron homeostasis. *FEBS Lett.* 1997. Vol. 418. P. 346–350. PMID: 9428742
- Kusuhara H., Sugiyama Y. Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier (Part 1). *Drug Disc. Today.* 2001. Vol. 6. P. 150–156. PMID: 11165188
- Mosser J., Douar A. M., Sarde C. O., Kioschis P., Feil R., Moser H., Poustka A. M., Mandel J. L., Aubourg P. Putative X-lined adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature.* 1993. Vol. 361. P. 726–730. doi: 10.1038/361726a0
- Lamer M. H., Winterwerp H. H., Sixma T. K. The alternating ATPase domains of MutS control DNA mismatch repair. *EMBO J.* 2003. Vol. 22. P. 746–756. doi: 10.1093/emboj/cdg064
- Liu Y., Eisenberg D. 3D domain swapping: as domains continue to swap. *Protein Sci.* 2002. Vol. 11. P. 1285–1299.
- Liu Y., Eisenberg D. 3D domain swapping: as domains continue to swap. *Protein Sci.* 2002. Vol. 11(6). P. 1285–1299. doi: 10.1110/ps.0201402
- Löscher W., Potschka H. Blood-Brain Barrier Active Efflux Transporters: ATP-Binding Cassette Gene Family. *NeuroRx.* 2005. Vol. 2. P. 86–98. doi: 10.1602/neurorx.2.1.86
- Locher K. P. Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 2009. Vol. 364(1514). P. 239–245.
- Loo T. W., Clarke D. M. Molecular dissection of the human multidrug resistance P-glycoprotein. *Biochem. Cell Biol.* 1999. Vol. 77. P. 11–23. PMID: 10426282
- Mao Q., Unadkat J. D. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J.* 2005. Vol. 7. P. E118–133. doi: 10.1208/aapsj070112
- Martin C., Berridge G., Mistry P., Higgins C., Charlton P., Callaghan R. Drug binding sites on P-glycoprotein are altered by ATP binding prior to nucleotide hydrolysis. *Biochemistry.* 2000. Vol. 39. P. 11901–11906. PMID: 11009602
- Natarajan K., Xie Y., Baer M. R., Ross D. D. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance. *Biochem. Pharmacol.* 2012. Vol. 83. P. 1084–1103. doi: 10.1016/j.bcp.2012.01.002
- Ni Z., Bikadi Z., Rosenberg M. F., Mao Q. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Curr. Drug Metab.* 2010. Vol. 11. P. 603–617. PMID: 20812902
- Orelle C., Ayyaz T., Everly R. M., Klu C. S., Davidson A. L. Both maltose-binding protein and ATP are required for nucleotide-binding domain closure

in the intact maltose ABC transporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. Vol. 105. P. 12837–12842. doi: 10.1073/pnas.0803799105

Oswald C., Holland I. B., Schmitt L. The motor domains of ABC-transporters. What can structures tell us. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol*. 2006. Vol. 372. P. 385–399. doi: 10.1007/s00210-005-0031-4

Pahnke J., Fröhlich C., Krohn M., Schumacher T., Paarmann K. Impaired mitochondrial energy production and ABC transporter function-A crucial interconnection in dementing proteopathies of the brain. *Mech. Ageing Dev*. 2013. Vol. 134(10). P. 506–515. doi: 10.1016/j.mad

Smith P. C., Karpowich N., Millen L., Moody J. E., Rosen J., Thomas P. J., Hunt J. F. ATP binding to the motor domain from an ABC transporter drives formation of a nucleotide sandwich dimer. *Mol. Cell*. 2002. Vol. 10. P. 139–149.

Stacy A. E., Jansson P. J., Richardson D. R. Molecular pharmacology of ABCG2 and its role in chemoresistance. *Mol. Pharmacol*. 2013. Vol. 84. P. 655–669. doi: 10.1124/mol.113.088609

Stieger B., Meier P. J. Bile acid and xenobiotic transporters in liver. *Curr. Opin. Cell Biol*. 1998. Vol. 10. P. 462–467. PMID: 9719866

Szakács G., Váradi A., Özvegy-Laczka C., Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discovery Today*. Vol. 13, no. 9/10. P. 279–393. doi: 10.1016/j.drudis.2007.12.010

Theodoulou F. L., Kerr I. D. ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochem. Soc. Trans*. 2015. Vol. 43. P. 1033–1040. doi: 10.1042/BST20150139

van Veen H. W., Margolles A., Muller M., Higgins C. F., Konings W. N. The homodimeric ATP-binding cassette transporter LmrA mediates multidrug transport by an alternating two-site (two-cylinder engine) mechanism. *EMBO J*. 2000. Vol. 19. P. 2503–2514. doi: 10.1093/emboj/19.11.2503

Wang H., Lee E. W., Cai X., Ni Z., Zhou L., Mao Q. Membrane topology of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) determined by epitope insertion and immunofluorescence. *Biochemistry*. 2008. Vol. 47. P. 13778–13787. doi: 10.1021/bi801644v

Yang Z., Zhu W., Gao S., Yin T., Jiang W., Hu M. Breast cancer resistance protein (ABCG2) determines distribution of genistein phase II metabolites: reevaluation of the roles of ABCG2 in the disposition of genistein. *Drug Metab. Dispos*. 2012. Vol. 40. P. 1883–1893. doi: 10.1124/dmd.111.043901

Zaitseva J., Oswald C., Jumpertz T., Jenewein S., Wiedenmann A., Holland I. B., Schmitt L. A structural analysis of asymmetry required for catalytic activity of an ABC-ATPase domain dimer. *EMBO J*. 2006. Vol. 25. P. 3432–3443. doi: 10.1038/sj.emboj.7601208

Zhou Z., Wang X., Liu H. Y., Zou X., Li M., Hwang T. C. The two ATP binding sites of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) play distinct roles in gating kinetics and energetic. *J. Gen. Physiol*. 2006. Vol. 128. P. 413–422. doi: 10.1085/jgp.200609622

Zolnerciks J. K., Andress E. J., Nicolaou M., Linton K. J. Structure of ABC transporters. *Essays Biochem*. 2011. Vol. 50. P. 43–61. doi: 10.1042/BSE0500043

Received April 02, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии
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

CONTRIBUTOR:

Smirnov, Lev

Institute of Biology, Karelian Research Centre
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: levps@rambler.ru
tel.: +79212263211

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 582.632:581.132:581.52

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ПОЧВЫ И ВОЗДУХА НА РОСТ И CO₂-ГАЗООБМЕН САЖЕНЦЕВ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ

В. К. Болондинский, Л. М. Виликайнен, В. Б. Придача, Т. А. Сазонова

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

В ходе вегетации изучали CO₂-газообмен и рост побегов у двух групп 3-летних саженцев березы повислой (*Betula pendula* Roth), произраставших в 10-литровых вегетационных сосудах с разной температурой почвы. При более высокой температуре почвы на первоначальном этапе наблюдалась активизация ростовых процессов и увеличение CO₂-газообмена по сравнению с саженцами на холодной почве. Зафиксировано также увеличение устьичной проводимости и более высокое содержание пигментов. По мере роста температуры воздуха и почвы у саженцев на холодных почвах наблюдали последовательное увеличение CO₂-газообмена и темнового дыхания. Суммарная площадь их листьев перед началом интенсивного роста была примерно в три раза меньше, чем у саженцев с повышенной температурой почвы. Температура воздуха до июля была недостаточно высока для запуска процессов интенсивного роста, поэтому значительная часть ассимилятов у саженцев с более теплой почвой откладывалась в запас. Отсутствие мощных аттрагирующих центров, характерных для фазы интенсивного роста, приводило к избытку ассимилятов и ограничению фотосинтеза. Обнаружена достоверная разница в величинах CO₂-газообмена и устьичной проводимости в начальный период вегетации у двух групп саженцев. В дальнейшем у саженцев с повышенной температурой почвы на фоне увеличения температуры воздуха рост CO₂-газообмена был незначительным. По мере прогрева почвы у саженцев, росших в условиях более низкой температуры, разница в величинах фотосинтеза нивелировалась. В период интенсивного роста в июле CO₂-газообмен у свободно растущих саженцев березы повислой был выше, чем у саженцев в вегетационных сосудах. Высказано предположение, что увеличение температуры почвы в ранние сроки вегетации приводит к росту концентрации сахарозы во флоэмном экссудате и способствует увеличению толщины коры. Этот процесс наиболее выражен у экологической формы березы повислой – карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti).

Ключевые слова: *Betula pendula* Roth; *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti; CO₂-газообмен; рост; температура воздуха и почвы; хлорофилл.

**V. K. Bolondinskii, L. M. Vilikainen, V. B. Pridacha, T. A. Sasonova.
EFFECT OF THE SOIL TEMPERATURE AND AIR TEMPERATURE ON THE
GROWTH OF SILVER BIRCH SEEDLINGS AND THEIR GASEOUS CO₂
EXCHANGE**

Gaseous CO₂ exchange and shoot growth over a growing season were studied in 3-year-old seedlings of silver birch (*Betula pendula* Roth) growing in 10-litre pots with different soil temperatures. Initially, activation of growth and an increase of CO₂ exchange were observed in seedlings experiencing higher soil temperatures compared to seedlings growing in colder soil. Also, an increase in stomatal conductance and a higher pigment content were detected. In the seedlings growing in cold soil, a consistent rise of CO₂ exchange and dark respiration was observed as the air temperature and soil temperature were growing. In the period before intensive growth, the total leaf area in seedlings rooted in warmer soil was more than three times higher than that of seedlings in cold soil. Until July, air temperatures were not high enough to initiate intensive growth. Therefore, a great deal of assimilates in the seedlings growing under higher soil temperature were largely being deposited, particularly in roots and bark. In the absence of powerful attracting points, assimilates were in excess, and photosynthesis was inhibited. A significant difference in CO₂ exchange and stomatal conductance between the two groups of seedlings was seen at the beginning of the growing season. Later on, as the air temperature was rising, CO₂ exchange increased insignificantly in seedlings growing in soil of higher temperature. Warming up of the soil smoothed down the difference in CO₂ exchange between the two groups of seedlings. In the period of intensive growth in July, CO₂ exchange in seedlings growing naturally in the field was higher than in pot-grown seedlings. We suppose that the increase in soil temperature early in the growing season results in a rise in the concentration of sucrose in the phloem exudate, and promotes bark thickening. This process is quite pronounced in Karelian (curly) birch – an ecological form of silver birch (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti).

Key words: *Betula pendula* Roth; *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti; gaseous CO₂ exchange; growth; soil temperature; air temperature; chlorophyll.

Введение

Температура почвы, как и температура воздуха, является одним из важнейших факторов, определяющих скорость роста растений. Температура почвы оказывает большое влияние на развитие корневой системы, активность почвенных микроорганизмов и усвоение фосфатов и нитратов растениями из почвы [Kozłowski, Pallardy, 1997]. В глубине почва прогревается позднее, чем на поверхности, причем запаздывание прямо пропорционально расстоянию от поверхности. Оптимальная температура для роста корневых систем ниже, чем для надземных органов. Практически у всех древесных видов оптимум для роста выше, чем для фотосинтеза [Larcher, 1995].

Изучать влияние температуры почвы на рост и фотосинтез деревьев в полевых условиях сложно, так как действие этого фактора трудно отделить от влияния температуры воздуха и фотопериода [Aphalo et al., 2006]. Отчасти этот факт объясняет небольшое количество работ о влиянии температуры почвы, выполненных для древесных растений в естественных условиях произрастания. Вместе с тем в боль-

шинстве работ, прогнозирующих поведение растений в условиях меняющегося климата, основным фактором является температура воздуха. Температуру почвы часто игнорируют, хотя она может оказывать влияние как на распределение видов, так и на их распространение [Karlsson, Nordell, 1996].

Низкая температура почвы может тормозить рост корней и, следовательно, формирование микоризы [Kozłowski, Pallardy, 1997], тем самым снижая площадь поверхности корней для поглощения воды и питательных веществ. Влияние на рост она может оказывать через несколько различных механизмов. Низкая температура снижает проницаемость корней для воды [Lambert et al., 1998] и увеличивает вязкость воды, замедляя ее движение как через почву, так и через корни [Kozłowski, Pallardy, 1997]. Липиды и протеины в плазматических мембранах клеток корней меняются под воздействием низкой температуры [Karlsson, Nordell, 1996], что влияет на транспортные свойства плазматических мембран [Isvari, Palta, 1989]. Результирующее снижение скорости поглощения воды может вызвать частичное закрывание устьиц и снижение фотосинтеза [Farquhar et al., 1989].

Основной целью нашей работы было комплексное исследование влияния температуры почвы и воздуха на рост и CO_2 -газообмен саженцев березы повислой, а также выявление эколого-физиологических механизмов, участвующих при действии этих факторов.

Материалы и методы

Исследования проводили в течение нескольких вегетационных периодов (май–июль) 2009–2019 гг. на экспериментальных участках Агробиологической станции Карельского научного центра РАН в окрестностях города Петрозаводска (N61°45', E34°20'). Объектами исследований были растения березы повислой (*Betula pendula* Roth).

Эксперимент осуществлялся в основном на саженцах в вегетационных сосудах с мая по июль 2010 г. Однако последние 10 лет проводились дополнительные измерения роста побегов и листьев у двух групп саженцев берез, произраставших в естественных условиях на двух площадях с разным уровнем грунтовых вод. В мае и июне температура почвы на них в корневой зоне различалась соответственно на 6–8 и 3–5 градусов Цельсия.

В 2009 г. двухлетние сеянцы березы повислой в июле были пересажены в 10-литровые вегетационные сосуды высотой 27 см, где с ними в 2009–2010 гг. проводились различные эксперименты [Болондинский и др., 2010, Болондинский, Виликайнен, 2011]. Состав набивки: 0–4 см – галька, 3–10 см – мелкозернистый песок, 10–25 см – почва с пахотного слоя (~ 80 %), перемешанная с почвой с дернового горизонта (~ 20 %). Следует отметить, что среди саженцев обычной березы повислой имелось несколько экземпляров ее экологической формы – карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti). Поскольку для сравнения этих форм материала было недостаточно, за исключением редких случаев внутривидового разделения не проводили. Чтобы избежать повреждения морозами корневой системы саженцев березы зимой, в конце октября вегетационные сосуды с растениями закопали в почву на глубину 30–35 см. В середине мая следующего года 7 сосудов (группа 1) были выкопаны и помещены на подстил, а остальные 5 сосудов (группа 2) остались в почве.

Кроме саженцев в сосудах рост и CO_2 -газообмен исследовался на 4-летних саженцах, растущих на плодородной почве на хорошо освещенной возвышенности небольшого склона (группа 3). В начале мая 2010 г. высота саженцев в сосудах (группы 1 и 2) и свободно

растущих саженцев составляла соответственно 30–40 и 150–180 см. В весенний период грунтовые воды поднимались до дна закопанных сосудов с саженцами, что было связано с залеганием после 30–40-см торфяной подстилки мощного слоя глины, не пропускавшего талые воды. Хотя в сухую летнюю погоду уровень грунтовых вод находился на уровне 4–5 метров, весной, а также в дождливую погоду вода задерживалась на поверхности.

Измерение показателей CO_2 -газообмена берез проводили с конца 3-й декады мая с 11 до 16 часов в солнечную погоду на неотделенных листьях с помощью портативных фотосинтетических систем Li-Cor 6200 и Li-Cor 6400XT (фирма Li-Cor, США). Сравнение результатов определения показателей CO_2 -газообмена листа с помощью приборов старого и нового поколения показало хорошую сходимость. Температура листа и воздуха, фотосинтетически активная радиация ($\Phi_{\text{АР}}$) и другие параметры измерялись датчиками Li-Cor. В ряде экспериментов проводили оценку устьичной проводимости листа. Портативная система LI 6400XTP (Li-Cor, США) использовалась с середины июля 2010 г. Метеорологические параметры регистрировали с помощью системы Li-Cor 6200 и Li-Cor 6400XT.

В ходе эксперимента растения не испытывали недостатка почвенной влаги. Содержание влаги в сосудах контролировали их взвешиванием. Для определения площади листьев побег с листьями фотографировали и после обработки с помощью компьютерных программ определяли как площадь отдельных листьев, так и суммарную площадь на ветвях и дереве. Температуру воздуха контролировали с помощью термогигрометра серии ИВТМ-7, а также стандартным термографом. Температуру почвы определяли на глубине 20 см. Использовали почвенный термометр АМ-6 и специальные термометры для определения минимальной и максимальной температуры.

Содержание хлорофиллов и суммы каротиноидов в ацетоновой вытяжке определяли на спектрофотометре СФ-2000 (ЛОМО, Россия) согласно общепринятым методикам [Гавриленко, Жигалова, 2003]. Расчет пигментов проводили по формулам Lichtenthaler [1987]. Расчет содержания пигментов производили в мг на грамм сырого веса листа. Аналитическая повторяемость трехкратная.

Проверку статистических гипотез и оценку существенных различий между средними величинами осуществляли с помощью критерия Стьюдента при 5%-м уровне значимости. Измерения фотосинтеза проводили в 3-кратной

биологической повторности. Данные на графиках и в таблицах представляют средние значения из трех биологических повторностей.

Результаты и обсуждение

Сокодвижение у берез в 2010 году началось в конце апреля. У саженцев в сосудах, находившихся в это время в почве (группа 2), оно запоздало на 2–3 дня по сравнению с саженцами группы 3. В первую очередь это было связано с более низкой температурой почвы экспериментального участка. Температура почвы на дне сосудов была близка к нулю, в то время как у саженцев группы 3 на глубине 20 см она составляла 2–3 °С (табл. 1).

Рост побегов начался во вторую декаду мая, когда среднесуточная температура воздуха превысила 10 °С, а максимальные дневные температуры воздуха доходили до 20 °С. Несмотря на то что в конце декады температура воздуха в дневное время иногда превышала 20 °С, рост побегов и листьев происходил крайне медленно. Наиболее заметен был рост брахистов, а также первых двух листьев ауксистовет, которые к концу второй декады имели площадь 3–4 см². Площадь остальных листьев не превышала 2 см². В третью декаду мая, когда сосуды с саженцами были уже разделены на две группы, максимальная длина ауксистовет берез в сосудах оставалась меньше 5 см (табл. 2). Длина побегов группы 3 составляла 6–7 см. Несмотря на то что температура почвы в выкопанных сосудах (группа 1) достигала 13 °С и превышала температуру почвы закопанных сосудов (группа 2) на 6–7 °С, в первые

дни после помещения их на настил это мало сказалось на приросте и увеличении площади листьев (табл. 2). Лишь в первую декаду июня, когда рост побегов активизировался, изменения стали заметны. Средняя температура воздуха в это время была на 3–4° ниже, чем в предыдущие декады мая. В этот период наименьший прирост наблюдался у саженцев группы 2. Хотя разница температур почвы в группах 1 и 2 не превышала 5 °С, прирост в группе 1 был выше, чем в группе 2, а площадь листьев на генеральном побеге была почти в два раза выше (табл. 2). Различия ростовой активности саженцев березы в вегетационных сосудах двух опытных групп начали сглаживаться лишь в первую декаду июля при существенном росте температуры воздуха, когда сосуды группы 2 находились рядом с сосудами группы 1. Таким образом, некоторое отставание в росте побегов и листьев саженцев группы 2, которое наблюдалось в первую декаду июля, нивелировалось во вторую декаду. Средние максимальные температуры воздуха в июле существенно превышали среднегодовые значения, температура почвы на глубине 20 см в сосудах достигала 23 °С, а в группе 3 – 20 °С (табл. 1).

Вместе с тем саженцы группы 3 имели более высокий прирост по сравнению с таковыми в группе 2 до конца второй декады июля (соответственно 45 и 39 см), хотя температура почвы в сосудах у последних в этот период превышала температуру почвы у группы 3. Такая тенденция сохранялась до середины августа. Если первоначально прирост саженцев в группе 1 был выше, чем у свободно растущих саженцев (группа 3), то начиная со второй декады июля

Таблица 1. Температурный режим воздуха и почвы у исследуемых деревьев

Table 1. The air and soil temperature conditions of the trees under study

Даты Date	Температура воздуха The air temperature			Температура почвы The soil temperature					
	°С			группа 1 group 1		группа 2 group 2		группа 3 group 3	
	T _m	T _{min}	T _{max}	T _m	T _{max}	T _m	T _{max}	T _m	T _{max}
01–10.05	6,8 ± 1,3	3,2	10,8	-	-	1,2 ± 0,5	3,5	2,1 ± 0,3	4,1
11–20.05	15,3 ± 2,8	10,8	19,8	12,1 ± 2,1	15,2	3,3 ± 0,6	5,5	5,3 ± 0,6	7,2
21–31.05	12 ± 2,3	8,3	15,2	11,7 ± 1,9	13,1	5,7 ± 0,8	7,4	7,2 ± 0,8	9,5
01.10.06	10,7 ± 2,1	6,3	13,9	9,8 ± 1,8	12,3	6,1 ± 0,9	7,6	8,5 ± 1,1	11
11–20.06	12,7 ± 2,5	9,2	15,9	12 ± 2,0	14	9,5 ± 1,1	11,1	10 ± 1,2	12,1
21–30.06	16,3 ± 2,9	11,4	19,9	15,3 ± 2,6	17,4	11 ± 1,3	14,3	12 ± 1,3	15
01.10.07	21,6 ± 3,5	16,7	25,5	20,6 ± 2,9	24	-	-	18 ± 1,8	20,2
11–20.07	23,2 ± 3,6	18,2	27,5	23,1 ± 3,0	25,9	-	-	20 ± 1,9	22
21–31.07	22,1 ± 3,1	17,9	25,9	22,5 ± 2,8	25,1	-	-	21 ± 1,7	23,3

Примечание. T_m, T_{min} и T_{max} – соответственно средняя, минимальная и максимальная температура за декаду.

Note. T_m, T_{min} and T_{max} – respectively, mean temperature, minimum temperature, and maximum temperature per ten-day periods.

Таблица 2. Показатели роста лидирующих побегов саженцев
Table 2. Growth parameters of the leading shoots of the seedlings

Даты Date	группа 1 group 1		группа 2 group 2		группа 3 group 3	
	L, см cm	S, см ² cm ²	L, см cm	S, см ² cm ²	L, см cm	S, см ² cm ²
31.05	5.1 ± 1,2	20,5 ± 1,5	3,4 ± 0,9	12,3 ± 1,1	4,8 ± 1,0	16,7 ± 1,2
10.06	10.2 ± 2,4	26 ± 1,7	8,5 ± 1,8	13,2 ± 1,3	9,7 ± 2,1	19,5 ± 1,4
18.06	17.1 ± 2,9	29,2 ± 1,8	13,6 ± 2,2	15,1 ± 1,2	14,1 ± 2,4	25,9 ± 1,7
24.06	20.2 ± 3,1	34,3 ± 2,3	16,2 ± 2,7	18,7 ± 1,5	18,8 ± 2,7	29,2 ± 1,7
8.07	34,6 ± 4,3	88 ± 3,6	27,1 ± 3,1	62,4 ± 2,9	29 ± 3,5	69,4 ± 2,8
14.07	42,3 ± 4,7	126 ± 5,8	38,6 ± 4,1	99,5 ± 3,8	45 ± 6,3	117 ± 5,1
22.07	55,2 ± 4,9	178 ± 9,7	49,0 ± 4,3	165 ± 7,4	61 ± 4,6	189 ± 10,6

Примечание. L, S – средняя величина соответственно длины побегов и площади листьев на них.
Note. L, S – respectively, mean length and foliage area of the shoots.

ситуация изменилась и лидировали саженцы группы 3 – 61 и 55 см соответственно (табл. 2).

Увеличение суммарной площади листьев в середине июля на главных побегах большинства исследуемых растений достигало 30 см² в сутки, что было больше, чем за весь первый месяц вегетации. Наибольшие по площади листья (до 55 см²) наблюдались у саженцев группы 1, однако общая площадь листьев на генеральных побегах в конце июля была на 30–40 % выше у группы 3. Этот факт, вероятно, обусловлен тем, что с середины июля наряду с сильным повышением температуры воздуха значительно повысилась и температура почвы в вегетационных сосудах, что вызывало быстрое иссушение верхнего почвенного слоя. Кроме того, корневые системы саженцев берез в сосудах находились в ограниченном пространстве. В начальный период вегетации при хорошем поливе это не вносило существенной погрешности в эксперимент. Однако уже во вторую половину июня невозможность нормального развития корней оказывала влияние как на рост побегов, так и на фотосинтез. В конце июля – начале августа наблюдалось значительное замедление роста главного побега саженцев в сосудах по сравнению с группой 3 (соответственно 64 и 85 см).

Интенсивный рост побегов начинался, когда средние температуры воздуха устойчиво превышали 18 °С, а температура почвы на глубине 20 см – 15 °С. Обычно это происходило в начале июля. Однако наблюдения за ростом 3–5-летних саженцев пробных площадей Агробиологической станции на протяжении 2009–2019 гг. показали, что в некоторые сезоны интенсивный рост мог начаться и в середине июня, когда температурные показатели были близки к этим величинам. Так, во время длительного

потепления (16–24 июня 2019 г.), когда средние температуры воздуха превысили 18 °С, а максимальные достигали 27 °С, начался интенсивный рост саженцев березы практически на всех опытных участках. Листья, выросшие в этот период, имели среднюю величину площади 40–45 см², а на одном из саженцев – до 60 см². Затем наступило похолодание – средняя температура воздуха с 27 июня по 3 июля не превышала 12 °С, а ночью температура опускалась до 8–10 °С. Рост как побегов, так и листьев сильно замедлился. Вторичное сильное похолодание (7–15 июля) с ночными температурами до 3 °С привело к тому, что рост побегов прекратился. Немногочисленные листья, выросшие во время этого похолодания, имели конечную величину площади от 7,5 до 9 см². Средние значения температуры почвы составляли при этом 8–12 °С. Затем с повышением температуры (17–28 июля) интенсивный рост возобновился, и площадь новых листьев снова достигла значительных величин (35–40 см²). Наибольшие прирост и площадь листьев наблюдались у саженцев, растущих на участках с хорошо прогреваемой почвой. Сроки наступления почти всех фенофаз отставали на 3–5 дней у саженцев, растущих на более холодных почвах (с высоким уровнем грунтовых вод в весенний период).

Исследования CO₂-газообмена проводили на саженцах в сосудах начиная с 3-й декады мая, а в группе 3 – с середины июня. CO₂-газообмен в основном измеряли на первых двух листьях ауксисластов, достигших размера 7–9 см². Площадь остальных листьев не превышала 4 см². При измерении фотосинтеза на побегах длиной до 7 см, когда в ассимиляционную камеру помещали 4–5 листьев меньшей площади, получали более низкие значения

фотосинтеза, чем на первых двух листьях. Сопоставление величин CO_2 -газообмена листьев саженцев берез опытных групп показало, что в первую декаду июня низкая температура почвы у саженцев группы 2 уменьшала поглощение углекислоты на 30–40 % по сравнению с наблюдаемым у групп 1 и 3. Отмеченная тенденция сохранялась на протяжении первой декады июня (рис.). Вместе с тем между группами 1 и 3 в июне значимых различий CO_2 -газообмена выявлено не было ($p > 0,05$). Некоторое ограничение CO_2 -газообмена в этот период происходило и из-за сравнительно низкой температуры воздуха (9–11 °C). Так, например, даже у саженцев группы 1 с более высокой температурой почвы в сосудах по сравнению с таковой у двух других экспериментальных групп максимальные величины фотосинтеза не превышали $13 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$.

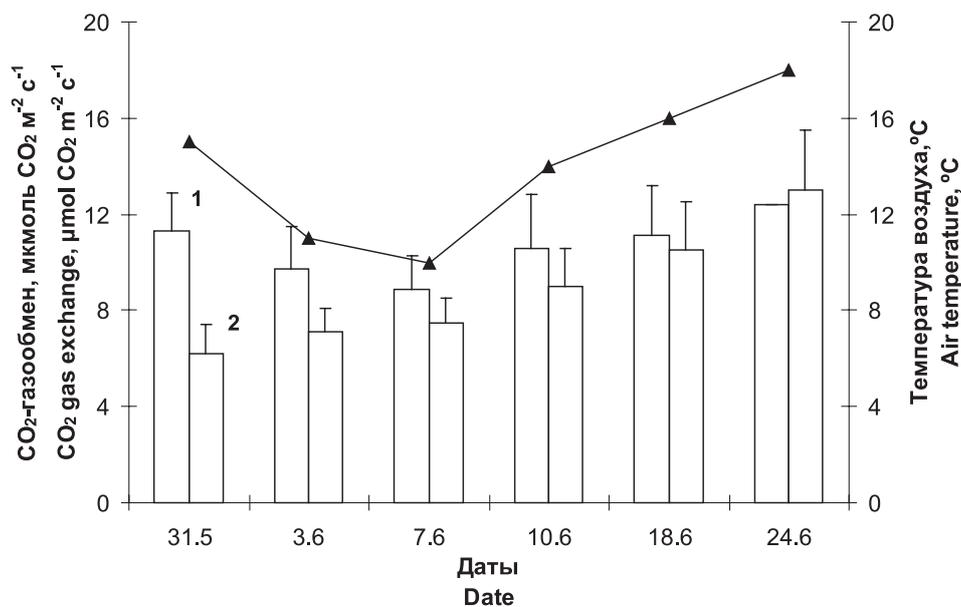
В отдельные дни повышение температуры воздуха приводило к увеличению CO_2 -газообмена у саженцев группы 1 и 3 и практически не сказывалось на группе 2. Температура почвы в диапазоне 5–10 °C ограничивала CO_2 -газообмен, что, вероятно, было связано с малой проводимостью устьиц, которая при возрастании температуры воздуха в полуденные часы может в таких ситуациях уменьшаться [Larcher, 1995].

Аналогичное явление ранее нами было отмечено у сосны обыкновенной [Сазонова и др., 2011], когда во вторую декаду мая значительное

повышение температуры воздуха, до 25 °C днем и 19 °C ночью, активизировало ростовые процессы и привело к увеличению CO_2 -газообмена в первый день, а затем к его снижению в последующие дни. Этот факт обусловлен 3-кратным снижением устьичной проводимости для ограничения транспирационных расходов влаги и уменьшения интенсивности дегидратации ксилемы ствола [Сазонова и др., 2017]. Сильного снижения CO_2 -газообмена частично удалось избежать за счет увеличения мезофильной проводимости [Болондинский, 2012], вследствие чего произошла кратковременная активизация роста побегов, прекратившаяся из-за последующего понижения температуры.

Темновое дыхание листьев в течение всего июня у растений группы 2 было ниже, чем у остальных групп саженцев. У саженцев группы 1 темновое дыхание в июне при температуре воздуха 12–15 °C и почвы 10–13 °C было сравнимо с дыханием закончивших рост листьев в июльский период (1,2–1,5 $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$). Однако у быстро растущих листьев саженцев в сосудах в июле оно достигало максимальных за сезон величин – до 6 $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$. В середине июня максимум дыхания приходился на первые листья медленно растущих ауксисластов – 3,5 $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$. Величина темнового дыхания зависела от скорости роста листа в большей степени, чем от температуры почвы и воздуха.

Содержание зеленых пигментов, в частности их суммы $X_l (a+b)$, составляло в первую декаду



Средние величины температуры воздуха и CO_2 -газообмена листьев саженцев групп 1 и 2

Mean values of the air temperature and CO_2 gas exchange of the leaves in groups 1 and 2

июня у листьев первого поколения в 1 и 2 группе саженцев соответственно 1,26 и 1,01 мг/г, а в конце третьей декады – 1,47 и 1,39 мг/г. Второе измерение хлорофилла проводили, когда сосуды группы 2 были выкопаны из почвы, при примерно одинаковой температуре почвы в сосудах группы 1 и 2. Сравнительно невысокие значения CO_2 -газообмена у саженцев группы 2 отчасти могут быть обусловлены более низким содержанием пигментов в первых двух листьях ауксисластов по сравнению с таковым у саженцев группы 1. В группе 3 содержание пигментов было на 10–15 % ниже, чем в группе 1.

После повышения температуры почвы у саженцев группы 1 в середине мая активизировался рост ауксисластов. К концу мая наблюдались достоверные различия в длине побегов ($p = 0,046$) и площади листьев ($p = 0,047$) саженцев групп 1 и 2 (табл. 2). Это привело к более быстрому росту побегов и листьев. В результате во вторую и третью декаду июня общая площадь листьев превышала на 30–40 % площадь листьев саженцев, находившихся в холодной почве (табл. 2). Несмотря на достаточно высокую температуру почвы с середины июня у саженцев группы 1 (табл. 1), интенсивный рост не наступал из-за низкой температуры воздуха (12–14 °C). Поэтому можно предположить, что у них в определенные моменты наблюдался избыток ассимилятов, часть которых откладывалась в запас. Подобное явление наблюдалось у сосны обыкновенной в последние недели перед фазой интенсивного роста [Кайбияйнен, Софронова, 2003]. Избыток концентрации сахарозы мог привести к репрессивному воздействию на фотосинтетический аппарат, что вызывало ограничение поглощения углекислоты [Мокроносов, 1981].

В первую декаду июня, когда температура почвы у саженцев группы 1 на 5–8 °C превышала температуру почвы у группы 2, средняя величина поглощения углекислоты у них составляла соответственно 11,6 и 5,9 $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ($p = 0,023$). В последующие дни, хотя ростовые процессы у саженцев группы 1 носили более интенсивный характер, чем в группе 2, поглощение углекислоты у них практически не увеличивалось (рис.). В то же время у саженцев группы 2 наблюдался непрерывный рост фотосинтеза на протяжении всего июня, и в конечном счете величина CO_2 -газообмена у них превысила величину, наблюдаемую у саженцев группы 1. Хотя достоверные различия были зафиксированы только для первых измерений в начале июня, в дальнейшем наблюдалась тенденция уменьшения поглощения углекислоты у саженцев группы 1 и, напротив, его увеличение у са-

женцев группы 2 по мере прогревания почвы. У саженцев группы 3 в середине июня поглощение углекислоты было меньше, чем в группе 1 (10,1 и 11,6 $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ соответственно), однако с конца первой декады июля оно превысило величины, наблюдаемые у саженцев в сосудах.

Устьичная проводимость, измеренная в начале июня, составила у саженцев групп 1 и 2 соответственно 0,081 и 0,052 $\text{моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ($p = 0,046$), что являлось, вероятно, основной причиной повышенных значений фотосинтеза в группе 1 и более активного роста ауксисластов. Устьичная проводимость, измеренная во вторую декаду июня у саженцев групп 1 и 2, составила соответственно 0,076 и 0,084 $\text{моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ($p = 0,058$). К этому времени разница температуры почвы в сосудах двух групп не превышала 3 °C и приросты площади листьев практически сравнялись. Вплоть до середины июля площадь листьев на лидирующих побегах группы 1 была больше по сравнению с группой 2 (табл. 2), а значит, и отток ассимилятов был выше. Близкие значения устьичной проводимости на саженцах березы повислой при температуре почвы 5 и 10 °C приводят финские исследователи [Aphalo et al., 2006]. При 20 °C на 70-й день после пересадки саженцев (середина июля) она достигала 0,39 $\text{моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$.

Причина отсутствия роста CO_2 -газообмена во вторую декаду июня у саженцев группы 1 связана, вероятнее всего, с ограничениями устьичной проводимости. В то же время в работе [Aphalo et al., 2006] установлено, что C_i (внутриклеточная концентрация CO_2) заметно не снижалась. Это говорит о том, что фотосинтез подавлялся только частично устьичным закрыванием, а частично через некоторые другие механизмы, такие как влияние температуры на гормональную регуляцию или на доступность питательных веществ почвы. DeLucia с соавт. [1991] высказали предположение на основании поведения семян *Pinus sylvestris*, что гормональный сигнал из корневой системы может вызывать устьичное закрывание при низких температурах почвы.

Хотя ростовые процессы в группе 1 носили более активный характер, чем в группах 2 и 3, они были во много раз меньше, чем в период интенсивного роста в июле. В это время максимальные температуры воздуха не превышали 15 °C, а средние колебались в диапазоне 10–12 °C. Начало интенсивного роста у растений контролируется как температурой воздуха, так и температурой почвы [Larcher, 1995]. Сравнительно небольшая интенсивность роста и незначительная мощность аттрагирующих

центров могла приводить к избытку ассимилятов у саженцев группы 1, следствием чего было уменьшение устьичной проводимости и фотосинтеза.

Вариабельность значений CO_2 -газообмена в группе 1 была значительно выше, чем в группах 2 и 3. В группе 2 наряду с саженцами березы повислой имелись два дерева карельской березы. Каких-либо заметных отличий между двумя формами как в ростовых, так и газометрических параметрах выявить не удалось. В группе 1 присутствовали три карельские березы. Ростовые показатели у них были примерно такие же, как у березы повислой. Однако со второй декады июня значения фотосинтеза у двух саженцев карельской березы почти в 1,4 раза превосходили величины фотосинтеза березы повислой ($13,7$ и $9,6$ $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$). Это приводило к увеличению стандартного отклонения, снижению достоверности различий групп 1 и 2, а также завышало среднюю величину поглощения углекислоты у саженцев группы 1.

Как показали наши исследования [Болондинский, Виликайнен, 2018], у карельской березы, несмотря на более высокие концентрации сахарозы во флоэмном экссудате, фотосинтез сохраняется практически на таком же уровне, как у березы повислой. Один из способов утилизации сахаров связан с запасанием питательных веществ в коре и с увеличением ее размеров [Новицкая, 2008]. И оптимизацию процесса поглощения углекислоты, и утолщение коры можно рассматривать как адаптационную стратегию карельской березы, позволяющую ей выживать в сложных условиях с ограниченной освещенностью. Не исключено, что увеличение температуры почвы в период перед фазой интенсивного роста может приводить к усиленному росту коры у карельской березы. Доказательства увеличения за две декады толщины коры у карельской березы по сравнению с березой повислой получить не удалось. Эти предположения требуют дополнительной проверки. В июле, когда начался интенсивный рост побегов, существенных различий в фотосинтезе карельской березы и березы повислой зафиксировано не было.

В ходе интенсивного роста побегов к середине июля разница в метрических показателях двух групп стала несущественной. Максимальные величины фотосинтеза составили соответственно у первой и второй групп $21,1$ и $20,1$ $\text{моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$, а устьичная проводимость для паров воды – $0,65$ и $0,52$ $\text{моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$. Высокие значения поглощения углекислоты приходились на дневные часы, когда температу-

ра воздуха доходила до $28\text{--}30$ $^{\circ}\text{C}$, почвы – до 26 $^{\circ}\text{C}$, а ФАР на горизонтальную поверхность составляла $1400\text{--}1500$ $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$. Это приводило к очень высоким ростовым показателям. Суммарная площадь листьев на главных побегах саженцев за одни сутки увеличивалась на $36\text{--}41$ см^2 , в то время как за целый месяц начала вегетации (20 мая – 24 июня) она достигла у саженцев с повышенной температурой почвы $32\text{--}35$ см^2 , а на холодной почве не превышала 20 см^2 (табл. 2).

Если в начальный период интенсивного роста площадь листьев у саженцев в сосудах увеличивалась быстрее, чем у саженцев группы 3, то начиная с середины июля рост побегов свободно растущих саженцев опережал таковой у саженцев в сосудах. В одной из редких отечественных работ, в которой изучалось влияние температуры почвы на фотосинтез двухлетних интактных сеянцев березы повислой [Холопцева и др., 2012], в регулируемых условиях среды наибольший потенциальный максимум нетто-фотосинтеза ($4,3$ $\text{мг CO}_2/\text{г}\cdot\text{ч}$) у сеянцев березы повислой наблюдался при температуре почвы $15,0$ $^{\circ}\text{C}$, воздуха $20,6$ $^{\circ}\text{C}$ и освещенности $34,6$ клк. Нужно учесть, что наши большие величины ($20\text{--}22$ $\text{мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$) получены в период интенсивного роста, когда растения испытывали значительную потребность в ассимилятах. Устьица были максимально открыты, что обеспечивало значительный приток углекислоты к реакционным центрам. Перед началом интенсивного роста (3 декада июня) мы получали показатели, близкие к приводимым в указанной статье. Это еще раз подтверждает, что в исследованиях нужно учитывать фазу развития растения.

Заключение

Рост первых двух листьев ауксипластов начинался при температуре воздуха $10\text{--}12$ $^{\circ}\text{C}$ и низкой температуре почвы (до 5 $^{\circ}\text{C}$) за счет запасов прошлого года. На этой стадии их рост контролировался температурой и при низкой температуре мог растягиваться во времени. Далее, если температура воздуха повышалась, как это часто наблюдалось в мае, а температура почвы росла очень медленно, рост листьев второго поколения происходил с низкой скоростью.

У саженцев с более высокой температурой почвы в начальный период вегетации зафиксировано достоверное увеличение CO_2 -газообмена, устьичной проводимости и содержания хлорофилла у первых двух листьев ауксипластов. Более активный рост побегов

и листьев в конце мая – начале июня способствовал увеличению площади листовой, поглощающей на 50–60 % углекислоты больше, чем у саженцев на холодной почве. Это обеспечивало значительный поток сахаров во флоэмном экссудате, который из-за сравнительно низкой температуры воздуха не мог полностью использоваться на рост побегов и листьев. В результате у саженцев на более теплой почве происходило снижение интенсивности фотосинтеза вплоть до третьей декады июня. И далее, несмотря на потепление, он рос очень медленно вплоть до фазы интенсивного роста.

Предполагаем, что избыток ассимилятов, который, возможно, имел место у саженцев с более теплой почвой, уходил в запас, прежде всего в корни и кору. Данное обстоятельство могло стимулировать рост коры у этой группы саженцев. Поскольку поглощение углекислоты у карельской березы ограничивалось в меньшей степени, чем у березы повислой, нарастание коры у данной экологической формы могло быть более значительным, чем у березы повислой.

По мере прогрева почвы разница в значениях CO_2 -газообмена у саженцев всех исследуемых групп сглаживалась. Максимальные величины фотосинтеза у саженцев в сосудах составляли $21,1 \text{ моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$. Столь значительным показателем способствовала высокая устьичная проводимость (до $0,65 \text{ моль м}^{-2}\text{с}^{-1}$). Максимальные значения поглощения углекислоты приходились на дневные часы, когда температура воздуха доходила до $28\text{--}30^\circ\text{C}$, а почвы – до 26°C . Это приводило к очень высоким ростовым показателям.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0220-2014-0010) и при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

Литература

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

Болондинский В. К., Придача В. Б., Позднякова С. В., Виликайнен Л. М. Исследование газообмена у листьев карельской березы и березы повислой в аномально жаркое лето 2010 г. // Растение и стресс: Тез. докл. Всерос. симпозиума. М., 2010. С. 66–67.

Болондинский В. К. Регуляция CO_2 -газообмена у сосны обыкновенной в период интенсивного роста

побегов // Экологические проблемы северных регионов и пути их решения. Апатиты: КНЦ РАН, 2012. С. 35–39.

Болондинский В. К., Виликайнен Л. М. Исследование CO_2 -газообмена растений березы повислой, выращиваемых в условиях разной обеспеченности элементами азотного питания // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 12. С. 99–109. doi: 10.17076/eb885

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

Кайбияйнен Л. К., Софронова Г. И. Роль транспортной системы в регуляции донорно-акцепторных отношений у *Pinus sylvestris* L. // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 1. С. 136–143.

Мокроносов А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.

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

Сазонова Т. А., Болондинский В. К., Придача В. Б. Влияние водного дефицита хвои сосны обыкновенной на фотосинтез в условиях достаточного почвенного увлажнения // Лесоведение. № 4. 2017. С. 311–318. doi: 10.7868/S0024114817040076

Сазонова Т. А., Болондинский В. К., Придача В. Б. Эколого-физиологическая характеристика сосны обыкновенной. Петрозаводск: Verso, 2011. 210 с.

Холопцева Е. С., Болондинский В. К. Особенности регуляции газообмена древесных растений в период интенсивного роста // Современное состояние, тенденции развития, рациональное использование и сохранение биологического разнообразия растительного мира: Матер. междунар. науч. конф. (Минск – Нарочь, 23–26 сент. 2014 г.). Минск: Эксперспектива, 2014. С. 271–275.

Холопцева Е. С., Дроздов С. Н., Сазонова Т. А., Хилков Н. И. Влияние температуры почвы и других факторов среды на фотосинтез сеянцев березы // Уч. зап. ПетрГУ. Сер. Естественные и технические науки. 2012. № 8(129). С. 28–32.

Aphalo P. J., Lahti M., Lehto T., Repo T., Rummukainen A., Mannerkoski H., Finér L. Responses of silver birch saplings to low soil temperature // *Silva Fennica*. 2006. Vol. 40(3). P. 429–442.

Clarkson D. T., Earnshaw M. J., White P. J., Cooper H. D. Temperature dependent factors influencing nutrient uptake: an analysis of response at different levels of organization // Long S. P., Woodward F. I. (eds.). *Plants and temperature*. The Company of Biologists, Cambridge. 1988. Vol. 42. P. 281–309.

DeLucia E. H., Day T. A., Oquist G. The potential for photoinhibition of *Pinus sylvestris* L. seedlings exposed to high light and low soil temperature // *J. Exp. Bot.* 1991. Vol. 42. P. 611–617.

Farquhar G. D., Wong S. C., Evans J. R., Hubick K. T. Photosynthesis and gas exchange // H. G. Jones, T. J. Flowers, M. B. Jones (eds.). *Plants under stress*. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. Vol. 39, ch. 4. P. 47–69.

Iswari S., Palta J. P. Plasma membrane H^+ -ATPase as a site of functional alteration during cold acclimation and freezing injury // P. H. Li (ed.). *Low tempera-*

ture stress physiology in crops. Boca Raton: CRC Press, 1989. P. 123–137.

Karlsson P. S., Nordell K. O. Effects of soil temperature on the nitrogen economy and growth of mountain birch seedlings near its presumed low temperature distribution limit // *Ecoscience*. 1996. Vol. 3. P. 183–189.

Kozłowski T. T., Pallardy S. G. Physiology of woody plants. 2nd edn. San Diego: Academic Press, 1997. 478 p.

Kramer P. J. Water relations of plants. New York: Academic Press, 1983. 462 p.

References

Bolondinskii V. K., Vilikainen L. M. Issledovanie CO₂-gazoobmena list'ev berezy povisloi i karel'skoi berezy v usloviyakh zasukhi 2010 g. [Investigation of CO₂ exchange in leaves of silver birch and Karelian birch during drought]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2011. No. 3. P. 12–15.

Bolondinskii V. K., Pridacha V. B., Pozdnyakova S. V., Vilikainen L. M. Issledovanie gazoobmena u list'ev karel'skoi berezy i berezy povisloi v anomal'no zharkoe leto 2010 g. [Study of gas exchange in leaves of Karelian birch and silver birch in abnormally hot summer of 2010]. *Rastenie i stress: Tez. dokl. vseros. simpoziuma* [Plants under stress: Proceed. All-Russ. Symp.]. Moscow, 2010. P. 66–67.

Bolondinskii V. K. Regulyatsiya CO₂-gazoobmena u sosny obyknovЕННОй v period intensivnogo rosta pobegov [Regulation of CO₂-gaseous exchange of *Pinus sylvestris* during intensive growth of shoots]. *Ekol. problemy severnykh regionov i puti ikh resheniya* [Ecol. problems of Northern region and ways of their solution]. Apatity: KNTs RAN, 2012. P. 35–39.

Bolondinskii V. K., Vilikainen L. M. Issledovanie CO₂-gazoobmena rastenii berezy povisloi, vyrashchiyaemykh v usloviyakh raznoi obespechennosti elementami azotnogo pitaniya [CO₂-gaseous exchange in silver birch saplings growing under different levels of nitrogen supply]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 12. P. 99–109. doi: 10.17076/eb885

Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. Bol'shoi praktikum po fotosintezu [Large workshop on photosynthesis]. Moscow: Akademiya, 2003. 256 p.

Kaibiyainen L. K., Sofronova G. I. Rol' transportnoi sistemy v regulyatsii donorno-aktseptornykh otnoshenii u *Pinus sylvestris* L. [The Role of the transport system in the control of the source-sink relations in *Pinus sylvestris* L.]. *Fiziologiya rastenii* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2003. Vol. 50, no. 1. P. 136–143.

Mokronosov A. T. Ontogeneticheskii aspekt fotosintezы [Ontogenetic aspect of photosynthesis]. Moscow: Nauka, 1981. 196 p.

Novitskaya L. L. Karel'skaya bereza: mekhanizmy rosta i razvitiya strukturnykh anomalii [Karelian birch: Mechanisms of growth and development of structural abnormalities]. Petrozavodsk: Verso, 2008. 143 p.

Sazonova T. A., Bolondinskii V. K., Pridacha V. B. Vliyanie vodnogo defitsita khvoi sosny obyknovЕННОй na fotosintez v usloviyakh dostatochnogo pochvennogo uvlazhneniya [The effect of water deficit in needles on photosynthesis of the Scots pine under normal soil

Lambers H., Chapin F. S., Pons T. L. Plant physiological ecology. New York: Springer, 1998. 389 p.

Larcher W. Physiological plant ecology, 3rd edn. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 506 p.

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

Поступила в редакцию 13.09.2019

moistening]. *Lesovedenie* [Forest Sci.]. 2017. No. 4. P. 311–318. doi: 10.7868/S0024114817040076

Sazonova T. A., Bolondinskii V. K., Pridacha V. B. Ekologo-fiziologicheskaya kharakteristika sosny obyknovЕННОй [Ecological and physiological characteristics of Scots pine]. Petrozavodsk: Verso, 2011. 210 p.

Kholoptseva E. S., Bolondinskii V. K. Osobenosti regulyatsii gazoobmena drevesnykh rastenii v period intensivnogo rosta [Features of regulation of gas exchange of woody plants in the period of intensive growth]. *Sovr. sostoyanie, tendentsii razvitiya, ratsional'noe ispol'zovanie i sokhranenie biol. raznoobraziya rastitel'nogo mira: Mater. mezhdunar. nauch. konf. (Minsk – Naroch', 23–26 sent. 2014 g.)* [Current state, growth tendency, rational use and conservation of biol. diversity of plants: Proceed. int. conf. (Minsk-Naroch, Sept. 23–26, 2014)]. Minsk: Ekoperspektiva, 2014. P. 271–275.

Kholoptseva E. S., Drozdov S. N., Sazonova T. A., Khilkov N. I. Vliyanie temperatury pochvy i drugikh faktorov sredy na fotosintez seyantsev berezy [Effect of soil temperature on light-thermal characteristics of birch seedlings *Betula pendula*]. *Uch. zap. PetrGU Ser. Estestvennye i tehnicheckie nauki* [Proceed. Petrozavodsk St. Univ. Nat. and Tech. Sci.]. 2012. No. 8(129). P. 28–32.

Aphalo P. J., Lahti M., Lehto T., Repo T., Rummukainen A., Mannerkoski H., Finér L. Responses of silver birch saplings to low soil temperature. *Silva Fennica*. 2006. Vol. 40(3). P. 429–442.

Clarkson D. T., Earnshaw M. J., White P. J., Cooper H. D. Temperature dependent factors influencing nutrient uptake: an analysis of response at different levels of organization. *Long S. P., Woodward F. I. (eds.). Plants and temperature. The Company of Biologists*, Cambridge. 1988. Vol. 42. P. 281–309.

DeLucia E. H., Day T. A., Oquist G. The potential for photoinhibition of *Pinus sylvestris* L. seedlings exposed to high light and low soil temperature. *J. Exp. Bot.* 1991. Vol. 42. P. 611–617.

Farquhar G. D., Wong S. C., Evans J. R., Hubick K. T. Photosynthesis and gas exchange. *Jones H. G., Flowers T. J., Jones M. B. (eds.). Plants under stress*. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. Vol. 39, ch. 4. P. 47–69.

Iswari S., Palta J. P. Plasma membrane H⁺-ATPase as a site of functional alteration during cold acclimation and freezing injury. *P. H. Li (ed.). Low temperature stress physiology in crops*. Boca Raton: CRC Press, 1989. P. 123–137.

Karlsson P. S., Nordell K. O. Effects of soil temperature on the nitrogen economy and growth of mountain birch seedlings near its presumed low temperature distribution limit. *Ecoscience*. 1996. Vol. 3. P. 183–189.

Kozłowski T. T., Pallardy S. G. Physiology of woody plants. 2nd edn. San Diego: Academic Press, 1997. 478 p.

Kramer P. J. Water relations of plants. New York: Academic Press, 1983. 462 p.

Lambers H., Chapin F. S., Pons T. L. Plant physiological ecology. New York: Springer, 1998. 389 p.

Larcher W. Physiological plant ecology, 3rd edn. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 506 p.

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

Received September 13, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Болондинский Виктор Константинович

научный сотрудник, к. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: bolond@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Виликайнен Людмила Матвеевна

физик
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vilikainen@mail.ru
тел.: (8142) 768160

Придача Владислава Борисовна

заведующая 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: pridacha@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Сазонова Татьяна Аркадьевна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sazonova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

CONTRIBUTORS:

Bolondinskii, Viktor

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

Vilikainen, Ludmila

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

Pridacha, Vladislava

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

Sazonova, Tatiana

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

УДК 631.421.2:631.847.212:631.89

ВЛИЯНИЕ БИОУГЛЯ И УДОБРЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ И АГРОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ В ВЕГЕТАЦИОННОМ ОПЫТЕ

И. А. Дубровина, М. Г. Юркевич, В. А. Сидорова

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

В краткосрочном вегетационном опыте изучали отдельное и совместное влияние биоугля и удобрений на песчаной и тяжелосуглинистой дерново-подзолистых почвах на их основные агрохимические свойства, а также рост и развитие ячменя ярового (*Hordeum vulgare* L.) сорта Яромир. В опыте использовали древесный биоуголь фракций 3–5 и ≤ 2 мм в 5% дозировке (от массы почвы). В качестве удобрений применяли азофоску марки NPK 16:16:16 и препарат азотовит, содержащий живые клетки и споры бактерий *Azotobacter chroococcum*. Исследования показали, что добавление древесного биоугля к дерново-подзолистой песчаной почве вызывает увеличение рН, подвижного калия и фосфора, нитратного азота, а также усиливает линейный рост, повышает продуктивность надземной биомассы ячменя и содержание протеина в зеленой массе. Выраженное синергетическое влияние практически на все параметры оказала фракция биоугля ≤ 2 мм совместно с азофоской. Фракция биоугля 3–5 мм совместно с азотовитом вызывала увеличение содержания нитратного азота в почве и сырого протеина в надземной биомассе ячменя. Применение биоугля на дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почве, несмотря на рост рН и подвижного калия и фосфора, вело к сокращению содержания нитратного азота, замедлению роста и развития растений ячменя, а также уменьшению содержания в них протеина. По-видимому, применение биоугля на тяжелых почвах может приводить к созданию условий, способствующих денитрификации. В целом по опыту отмечено увеличение содержания минерального азота в вариантах с биоуглем и азофоской, следовательно, биоуголь в присутствии дополнительного источника азота подвергается усиленной минерализации.

Ключевые слова: биоуголь; азофоска; *Azotobacter chroococcum*; почвенная кислотность; аммонийный и нитратный азот; подвижный фосфор и калий; продуктивность биомассы; сырой протеин.

I. A. Dubrovina, M. G. Yurkevich, V. A. Sidorova. EFFECT OF BIOCHAR AND FERTILIZERS ON THE DEVELOPMENT OF BARLEY PLANTS AND AGROCHEMICAL INDICES OF SODDY-PODZOLIC SOILS IN A POT EXPERIMENT

The separate and combined effects of biochar and fertilizers in soddy-podzolic sandy and clay loam soils on their basic agrochemical properties, as well as on the growth and development of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) v. Yaromir were studied in a short-term pot experiment. Wood biochar fractions 3–5 and ≤ 2 mm in 5% dosage (by weight of soil) were used in the experiment. The fertilizers were NPK 16:16:16 and Azotovit, containing living cells and spores of *Azotobacter chroococcum* bacteria. Studies have shown

that the addition of wood biochar to soddy-podzolic sandy soil causes an increase in pH, available potassium and phosphorus, nitrate nitrogen, as well as enhances barley length growth, increases the aboveground biomass and protein content in it. The ≤ 2 mm biochar applied together with NPK pronounced a synergistic effect on almost all parameters. The biochar fraction 3–5 mm together with *Azotobacter* caused an increase of nitrate nitrogen in the soil and raw protein in barley aboveground biomass. Application of biochar to soddy-podzolic clay loam soil, despite an increase in pH and available potassium and phosphorus, led to a reduction in nitrate nitrogen content, slowed down the growth and development of barley plants, and reduced protein content in them. Apparently, the use of biochar on fine textured soils can create the conditions conducive to denitrification. In the experiment in general, we observed an increase in the content of mineral nitrogen in the treatments with biochar and NPK. Hence, in the presence of an additional source of nitrogen, biochar undergoes intensified mineralization.

Key words: biochar; NPK fertilizer; *Azotobacter chroococcum*; soil acidity; ammonium and nitrate nitrogen; available phosphorus and potassium; biomass productivity; raw protein.

Введение

Одним из глобальных вызовов современности является рост потребности в продовольствии при ограниченных площадях плодородных земель. В связи с этим в условиях возрастающей деградации почв ведется поиск новых методов и инструментов управления почвенным плодородием. Так, в последнее десятилетие большое внимание уделяется изучению биоугля, который является перспективным материалом для поддержания устойчивого сельского хозяйства [Singh et al., 2015].

Биоуголь – продукт с высоким содержанием углерода, получаемый путем пиролиза органического сырья без доступа кислорода. Данный процесс преобразует органические материалы в поликонденсированные ароматические и гетероциклические структуры углеродного каркаса, состоящего из крупных и мелких пор [Tan et al., 2017].

Благодаря своим физико-химическим свойствам биоуголь обладает потенциалом для повышения продуктивности и устойчивости агроэкосистем. Его применение вызывает комплексные изменения почвенных свойств, обеспечивающих среду и базу развития растений. Обладая высокой пористостью и низкой насыпной плотностью, биоуголь значительно влияет на водно-физические свойства почв, а также на их агрегатное состояние [Głab et al., 2016; Ajayi, Horn, 2017; Дубровина и др., 2018]. Имея высокую емкость катионного обмена и значительное содержание обменных катионов (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+), биоуголь повышает pH среды и снижает актуальную и обменную кислотность, нейтрализуя токсическое влияние на растения Al^{3+} [Zhao et al., 2015; Raboin et al., 2016; Li-li et al., 2017]. Большинство видов биоугля обогаща-

ют почву доступным для растений калием [Liu et al., 2012; Li-li et al., 2017], а также изменяют подвижность почвенных фосфатов [Chintala et al., 2014; Xu et al., 2014; Jiang et al., 2015]. Применение биоугля приводит к изменениям физико-химических показателей почв, что способствует значительному влиянию на бактериальное сообщество, в том числе на бактерии, участвующие в почвенном цикле азота [Gul, Whalen, 2016].

Влияние биоугля на систему «почва – растение» широко варьируется в зависимости от вида и дозировки угля, типа почвы, видов сельскохозяйственных культур, а также климатических условий. Так, значительное увеличение плодородия почвы, роста растений и их урожайности в основном наблюдались при применении биоугля в тропических и субтропических регионах [Mulcahy et al., 2013; Liu et al., 2014; Raboin et al., 2016]. До последнего времени недостаточно изучено влияние биоугля на свойства и продуктивность почв умеренного пояса. Подзолы и дерново-подзолистые почвы бореальной зоны характеризуются кислой реакцией среды, слабой микробиологической активностью и низким естественным плодородием. Теоретически применение биоугля на таких почвах должно способствовать повышению агрохимического фона и улучшению условий для роста и развития растений. Однако различный гранулометрический и химический состав почв может вызывать разные эффекты при применении биоугля. Широко распространенным и доступным вариантом биоугля в лесной зоне является древесный уголь. Так как биоуголь из лигноцеллюлозного сырья характеризуется высокой ароматичностью [Novak et al., 2013], целесообразно его применять в смеси с различными удобрениями,

как традиционными, так и относительно новыми. Например, интерес вызывает применение биоугля совместно с препаратами PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) [Saxena et al., 2013].

В связи с этим целью работы было исследование отдельного и совместного влияния различных фракций древесного биоугля и удобрений на контрастных по гранулометрическому составу и плодородию дерново-подзолистых почвах на их основные агрохимические свойства, а также на рост и развитие ячменя ярового.

Материалы и методы

Объектами исследования служили почво-смеси с биоуглем разных фракций (фактор А) и удобрениями (фактор В). Для опыта использовали почвы зоны дерново-подзолистых почв (подзона средней тайги) с двух участков, вовлеченных в сельскохозяйственное использование. Песчаная почва (агрозем альфегумусовый, Корзинский научный стационар): 4,1 % физической глины; pH_{KCl} – 4,5; $C_{общ}$ – 1,5 %; $N_{общ}$ – 0,12 %; $N-NH_4$ – 8 мг/кг; $N-NO_3$ – 24 мг/кг; P_2O_5 (по Кирсанову) – 144 мг/кг; K^+ (обменный) – 0,2 смоль экв/кг; сумма обменных оснований – 2,0 смоль экв/кг. Тяжелосуглинистая почва (агрозем текстурно-дифференцированный, Агробиологическая станция): 42,6 % физической глины; pH_{KCl} – 5,1; $C_{общ}$ – 2,5 %; $N_{общ}$ – 0,19 %; $N-NH_4$ – 12 мг/кг; $N-NO_3$ – 29 мг/кг; P_2O_5 (по Кирсанову) – 317 мг/кг; K^+ (обменный) – 0,4 смоль экв/кг; сумма обменных оснований – 7,8 смоль экв/кг.

Почву отбирали из верхнего пахотного горизонта 0–20 см, высушивали до воздушно-сухого состояния, растирали и просеивали через сито 5 мм. В вариантах с биоуглем применяли уголь древесный (ГОСТ 7657–84), марка А. Биоуголь имеет следующие характеристики: плотность – 0,37 г/см³; pH_{H_2O} – 9,3; pH_{KCl} – 7,9; содержание (% в. с. н.): золы – 2,8; С – 81; N – 0,35; K – 0,24; P – 0,026; Ca – 0,83; Mg – 0,20. Уголь размалывали до фракций 3–5 мм и ≤ 2 мм и применяли в дозе 5 % (от массы почвы), основываясь на данных предыдущих исследований [Дубровина и др., 2018; Дубровина, 2019], где 5% дозировка показала наибольшую эффективность. В качестве традиционного удобрения использовали азофоску (АЗФК) марки НРК 16:16:16 (ГОСТ 19691–84) в невысокой дозировке $N_{40}P_{40}K_{40}$ кг/га д. в. (50 мг удобрения на сосуд). В качестве микробиологического удобрения применяли препарат азотовит, содержащий живые клетки и споры бактерий

Azotobacter chroococcum (штамм В-9029), титр 5,09 КОЕ/г. Рабочий раствор – 2 мл раствора на 1 л воды (50 мл раствора на сосуд). Навеску почвы 500 г помещали в вегетационные сосуды объемом 1 л, в варианты с биоуглем вносили уголь в количестве 25 г на сосуд, смачивали, перемешивали и оставляли на 1 неделю. Через неделю в варианты с удобрениями вносили удобрения в жидком виде по схеме предпосевной обработки почвы. Через 2 дня производили посев по 15 штук в сосуд пророщенными семенами ячменя ярового (*Hordeum vulgare* L., с. Яромир). Опыт проводили при естественном освещении и температуре воздуха 22–23 °С в трехкратной повторности. Для каждой почвы применена следующая схема опыта: 1. Контроль; 2. АЗФК; 3. Азотовит; 4. Биоуголь ≤ 2 мм; 5. Биоуголь ≤ 2 мм + АЗФК; 6. Биоуголь ≤ 2 мм + Азотовит; 7. Биоуголь 3–5 мм; 8. Биоуголь 3–5 мм + АЗФК; 9. Биоуголь 3–5 мм + Азотовит.

В ходе опыта проводили еженедельный учет динамики линейного роста растений. Уборку производили через 40 суток после посева в фазе выхода в трубку. В процессе уборки измеряли вес надземной биомассы и отмытых корней (сырой вес). В высушенной при 105 °С надземной биомассе определяли содержание общего азота по Кьельдалю с использованием Kjeltec system «Tecator». Общий азот пересчитывали на сырой протеин умножением на коэффициент 6,25 [Практикум..., 2001]. После уборки опыта в почве выполняли следующие определения: pH_{KCl} , содержание аммонийного ($N-NH_4$) и нитратного ($N-NO_3$) азота в свежем образце – потенциометрически с использованием ион-селективных электродов на иономере АНИОН 4100 «Инфраспак-Аналит»; содержание подвижного фосфора (P_2O_5) и калия (K_2O) по Кирсанову (0,2 н HCl) со спектрофотометрическим окончанием на спектрофотометре UV-1800 «Shimadzu» (фосфор) и атомно-эмиссионным окончанием на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-7000 «Shimadzu» (калий) [Теория..., 2006; ГОСТ 26951-86].

Для статистической обработки данных применяли двухфакторный дисперсионный анализ (Factorial ANOVA), наименьшую существенную разность (HCP_{05}) и корреляционно-регрессионный анализ. В работе использовали пакеты анализа PAST Statistics и Microsoft Excel. Данные по калию получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитическая лаборатория» Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты

Агрохимические показатели почв

Применение биоугля обеих фракций с высокой степенью статистической достоверности оказывает сильное влияние на уровень рН ($p < 0,001$) и содержание подвижного калия ($p < 0,001$) при низких уровнях случайных отклонений (табл. 1 и 2). Значения рН особенно заметно изменяются в песчаной почве, изначально более кислой. Большой достоверный эффект для обеих почв характерен для мелкой фракции угля (+0,36 и +0,21 при $HCP_{05} = 0,05$ и 0,03). В целом значения подвижного калия возрастают в среднем в 3 раза в вариантах с биоуглем по сравнению с контролем, как в песчаной, так и в тяжелосуглинистой почве. Обе фракции угля оказывают влияние на повышение содержания калия в почвах, при этом в песчаной сильнее влияет крупная фракция (+0,67 при $HCP_{05} = 0,37$), а в тяжелосуглинистой – мелкая (+1,1 при $HCP_{05} = 0,89$). Синергетическое влияние на содержание калия в тяжелосуглинистой почве оказывает мелкая фракция угля и удобрения ($p < 0,001$).

На уровень подвижного фосфора в обеих почвах оказывают достаточно сильное влияние как уголь ($p < 0,001$), так и удобрения ($p < 0,001$) при невысоких уровнях случайных отклонений (табл. 1 и 2). В песчаной почве удобрение (АЗФК) влияет сильнее (доля влияния фактора 45 %) и увеличивает содержание фосфатов в среднем на 23 мг/кг. Доля влияния биоугля ниже (25 %), и он увеличивает содержание фосфора на 15–19 мг/кг. Синергетический эффект на содержание фосфатов на грани статистической достоверности ($p = 0,04$) наблюдается от совместного применения АЗФК и мелкой фракции биоугля. Обеспеченность фосфатами тяжелосуглинистой почвы примерно в 2,5 раза выше, чем песчаной, и здесь большую долю влияния оказывает биоуголь (45 %) и чуть меньше – удобрения (32 %). Оба удобрения достоверно повышают уровень фосфора на 1,4–2 мг/кг при $HCP_{05} = 1,18$. Уровень фосфатов увеличивается в вариантах с углем и удобрениями в среднем на 12–32 мг/кг. Максимальное содержание фосфора также наблюдается в вариантах с удобрениями и мелкой фракцией биоугля, но без статистической достоверности.

Внесение биоугля не оказывает влияния на уровень аммонийного азота в обеих почвах, при этом в песчаной почве велика доля случайных отклонений для данного параметра (табл. 1 и 2). В песчаной почве проявля-

ется синергетический эффект влияния АЗФК и биоугля мелкой фракции ($p = 0,02$) на уровень аммонийного азота. В тяжелосуглинистой почве на содержание $N-NH_4$ оказывает влияние АЗФК ($p < 0,001$) с долей влияния фактора 50 %. Также существует эффект совместного синергетического влияния мелкой фракции угля и АЗФК ($p < 0,001$). На уровень нитратного азота в обеих почвах оказывают влияние биоуголь ($p < 0,001$), удобрения ($p < 0,001$) и их взаимодействие ($p < 0,001$). В песчаной почве содержание нитратного азота достоверно выше в вариантах с мелким углем и АЗФК, а также с крупным углем и азотовитом. В тяжелосуглинистой почве влияние еще более сложное. Внесение биоугля достоверно снижает содержание нитратного азота на 7,3–8,6 мг/кг при $HCP_{05} = 1,35$. При этом внесение АЗФК повышает содержание $N-NO_3$ на 4 мг/кг при $HCP_{05} = 1,35$. Таким образом, наблюдается повышение содержания нитратного азота в вариантах с АЗФК на фоне общего его снижения в вариантах с биоуглем.

Морфометрические показатели ячменя

Скорость линейного роста ячменя на песчаной почве была выше, чем на тяжелосуглинистой, и к концу 3-й недели достигла разницы в 3–5 см практически во всех вариантах. К моменту уборки опыта растения на контрольных вариантах на обеих почвах имели одинаковые значения линейного роста (в среднем 30,8 см). В вариантах с удобрениями (без угля) растения были несколько выше на тяжелосуглинистой почве по сравнению с песчаной (табл. 3 и 4). В вариантах с углем наблюдалась противоположная картина: на песчаной почве растения были выше в вариантах с углем, чем в контрольных (плюс к контролю 1–1,5 см). На тяжелосуглинистой почве, напротив, в вариантах с углем растения были значительно ниже, чем в контроле и в вариантах с удобрениями (минус от контроля 5–8 см).

Показатели урожайности надземной и подземной фитомассы ячменя на разных почвах значительно различаются (табл. 3 и 4). Так, на песчаной почве больший вес имеют варианты с биоуглем (плюс к контролю 0,8–2,8 г/сосуд), особенно мелким, а также вариант с АЗФК. На тяжелосуглинистой почве варианты с углем показывают наименьшие значения (минус от контроля 1,4–2,4 г/сосуд), положительно выделяется также вариант с АЗФК. Фитомасса корней в целом в 3–4 раза выше в песчаной почве по сравнению с тяжелосуглинистой, особенно выделяются варианты с удобрения-

Таблица 1. Статистические показатели агрохимических свойств дерново-подзолистой песчаной почвы
Table 1. Statistical indicators of agrochemical properties of soddy-podzolic sandy soil

Варианты Variants	pH _{KCl}	N-NH ₄	N-NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O
		мг/кг почвы mg/kg soil			
Контроль Control					
Контроль Control	4,53 ± 0,01	4,0 ± 0,21	27,0 ± 0,57	132,7 ± 3,18	9,7 ± 0,33
АЗФК NPK (16-16-16)	4,51 ± 0,00	5,0 ± 0,15	31,3 ± 0,88	155,0 ± 0,57	10,7 ± 0,88
Азотовит <i>Azotobacter</i>	4,53 ± 0,00	5,1 ± 0,09	28,0 ± 0,60	134,3 ± 5,46	10,7 ± 0,88
Биоуголь ≤ 2 мм Biochar ≤ 2 mm					
Контроль Control	5,08 ± 0,06	5,0 ± 0,45	30,0 ± 0,57	147,3 ± 2,60	28,0 ± 2,89
АЗФК NPK (16-16-16)	5,02 ± 0,04	5,4 ± 0,33	33,0 ± 0,56	171,3 ± 4,70	28,0 ± 2,31
Азотовит <i>Azotobacter</i>	5,02 ± 0,00	4,5 ± 0,28	31,1 ± 0,65	148,0 ± 3,06	22,7 ± 0,33
Биоуголь 3–5 мм Biochar 3–5 mm					
Контроль Control	4,68 ± 0,01	5,0 ± 0,30	29,0 ± 0,51	151,7 ± 1,33	28,0 ± 2,31
АЗФК NPK (16-16-16)	4,70 ± 0,01	4,9 ± 0,03	29,0 ± 0,57	153,3 ± 1,67	30,7 ± 2,60
Азотовит <i>Azotobacter</i>	4,66 ± 0,02	4,4 ± 0,27	32,0 ± 0,80	143,3 ± 5,17	30,0 ± 4,04
Доля влияния фактора, % / Уровень значимости p The percentage of factor, % / p-value					
Биоуголь Biochar	96,3 / <0,001	3,8 / 0,48	26,1 / <0,001	25,9 / <0,001	84,6 / <0,001
Удобрение Fertilizer	0,3 / 0,42	13,1 / 0,10	24,8 / <0,001	45,1 / <0,001	2,7 / 0,10
Взаимодействие Interaction	0,6 / 0,47	37,4 / 0,02	30,8 / <0,001	12,1 / 0,04	3,5 / 0,18
Случайные отклонения Random deviations	2,8	45,7	18,3	16,9	9,2
<i>HCP</i> ₀₅ <i>LSD</i> ₀₅					
Частных средних Partial mean	0,08	–	1,61	10,4	6,5
Факторов Factor	0,05	–	1,06	5,9	3,7

Примечание. Здесь и далее в таблицах представлены данные среднего арифметического ± ошибка среднего при n=3. Жирным шрифтом выделены показатели, испытывающие эффект совместного влияния факторов А и В.

Note. Here and further data of mean ± standard error with n=3 are presented in the tables. The indicators exposed to the joint influence of factors A and B are given in bold.

ми (плюс к контролю 1,6–2,1 г/сосуд), независимо от внесения угля. На тяжелосуглинистой почве не наблюдается выраженной динамики роста корней в ответ на применение удобрений и биоугля.

Дисперсионный анализ показал, что в опыте на песчаной почве достоверно влияние мелкой фракции биоугля на увеличение показателей линейного роста (p = 0,01) и урожайность зеленой массы (p = 0,001). На содержание сырого

протеина в надземной фитомассе достоверно влияет крупная фракция угля (p < 0,001), а также отмечено взаимное влияние крупного угля и азотовита на увеличение содержания протеина (p = 0,02). АЗФК, в отличие от азотовита, оказывает достоверное влияние на рост зеленой массы (p < 0,001) и массы корней (p < 0,001). В тяжелосуглинистой почве внесение биоугля оказывает достоверное отрицательное влияние на линейный рост (p < 0,001),

Таблица 2. Статистические показатели агрохимических свойств дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почвы

Table 2. Statistical indicators of agrochemical properties of soddy-podzolic clay loam soil

Варианты Variants	pH _{KCl}	N-NH ₄	N-NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O
		мг/кг почвы mg/kg soil			
Контроль Control					
Контроль Control	5,21 ± 0,01	3,0 ± 0,12	30,0 ± 0,57	327,0 ± 9,54	52,7 ± 3,75
АЗФК NPK (16-16-16)	5,19 ± 0,01	4,4 ± 0,21	39,0 ± 0,58	342,7 ± 3,53	78,0 ± 7,51
Азотовит <i>Azotobacter</i>	5,14 ± 0,01	3,1 ± 0,06	29,9 ± 0,27	331,7 ± 3,53	56,0 ± 1,15
Биоуголь ≤ 2 мм Biochar ≤ 2 mm					
Контроль Control	5,62 ± 0,01	3,6 ± 0,05	23,5 ± 0,29	339,0 ± 1,53	157,7 ± 10,1
АЗФК NPK (16-16-16)	5,57 ± 0,00	3,7 ± 0,05	25,5 ± 0,28	371,0 ± 0,58	171,0 ± 8,08
Азотовит <i>Azotobacter</i>	5,59 ± 0,03	3,4 ± 0,06	24,0 ± 0,58	362,7 ± 3,61	173,0 ± 1,15
Биоуголь 3–5 мм Biochar 3–5 mm					
Контроль Control	5,37 ± 0,03	3,6 ± 0,06	25,3 ± 0,44	331,7 ± 2,18	169,7 ± 1,45
АЗФК NPK (16-16-16)	5,37 ± 0,00	3,8 ± 0,07	26,5 ± 0,29	345,0 ± 2,00	140,7 ± 0,33
Азотовит <i>Azotobacter</i>	5,39 ± 0,02	3,4 ± 0,12	25,0 ± 0,57	345,3 ± 1,45	158,7 ± 0,88
Доля влияния фактора, % / Уровень значимости p The percentage of factor, % / p-value					
Биоуголь Biochar	96,6 / <0,001	1,0 / 0,47	68,2 / <0,001	45,2 / <0,001	93,3 / <0,001
Удобрение Fertilizer	0,5 / 0,11	50,3 / <0,001	16,8 / <0,001	32,7 / <0,001	0,1 / 0,73
Взаимодействие Interaction	1,1 / 0,07	37,0 / <0,001	13,1 / <0,001	7,7 / 0,09	4,3 / <0,001
Случайные отклонения Random deviations	1,8	11,7	1,9	14,4	2,3
<i>HCP</i> ₀₅ <i>LSD</i> ₀₅					
Частных средних Partial mean	0,05	0,29	1,35	11,8	15,4
Факторов Factor	0,03	0,17	0,78	6,8	8,9

мелкая фракция угля снижает данный показатель на 1,9 см при $HCP_{05} = 1,53$. Применение АЗФК несколько повышает линейный рост ($p = 0,03$), но взаимодействия факторов не выявлено. Обе фракции биоугля одинаково отрицательно влияют на урожайность надземной фитомассы ($p < 0,001$), но АЗФК по сравнению с азотовитом достоверно увеличивает зеленую массу ($p = 0,002$), и в вариантах с мелким углем выявлено их совместное влияние ($p = 0,04$). В тяжелосуглинистой почве не выявлено факторов, достоверно влияющих на рост корней.

На содержание сырого протеина отрицательно влияет крупная фракция угля ($p = 0,003$).

Обсуждение

Внесение биоугля в почву сопровождается изменением многих параметров почвенного плодородия, непосредственно влияющих на рост и развитие растений. Данные изменения обусловлены как прямыми, так и косвенными эффектами применения угля. Так, сдвиг почвенной кислотности при применении биоугля

Таблица 3. Статистические показатели роста и развития ячменя на дерново-подзолистой песчаной почве
 Table 3. Statistical indicators of growth and development of barley on soddy-podzolic sandy soil

Варианты Variants	Линейный рост, см Linear growth, cm	Сырая биомасса побегов, г/сосуд Raw shoots biomass, g/pot	Сырая биомасса корней, г/сосуд Raw roots biomass, g/pot	Сырой протеин, % а. с. н. Raw protein, % a. d. w.
Контроль Control				
Контроль Control	30,8 ± 0,52	4,30 ± 0,19	2,66 ± 0,10	10,4 ± 0,78
АЗФК NPK (16-16-16)	30,5 ± 0,53	6,29 ± 0,29	4,77 ± 0,77	20,3 ± 2,57
Азотовит <i>Azotobacter</i>	28,1 ± 0,87	4,53 ± 0,42	2,69 ± 0,17	12,2 ± 2,67
Биоуголь ≤ 2 мм Biochar ≤ 2 mm				
Контроль Control	32,6 ± 0,87	6,17 ± 0,60	3,74 ± 0,35	20,1 ± 2,23
АЗФК NPK (16-16-16)	31,6 ± 0,84	7,06 ± 0,45	4,51 ± 0,34	18,2 ± 1,83
Азотовит <i>Azotobacter</i>	32,0 ± 0,20	6,30 ± 0,56	3,82 ± 0,69	18,9 ± 1,62
Биоуголь 3–5 мм Biochar 3–5 mm				
Контроль Control	29,9 ± 0,38	5,13 ± 0,23	4,00 ± 0,25	19,8 ± 1,39
АЗФК NPK (16-16-16)	31,5 ± 1,56	5,99 ± 0,35	4,28 ± 0,67	19,2 ± 1,39
Азотовит <i>Azotobacter</i>	31,7 ± 0,98	6,12 ± 0,34	3,06 ± 0,37	21,7 ± 0,97
Доля влияния фактора, % / Уровень значимости <i>p</i> The percentage of factor, % / <i>p</i> -value				
Биоуголь Biochar	29,6 / 0,01	33,6 / 0,001	8,6 / 0,16	32,8 / <0,001
Удобрение Fertilizer	2,3 / 0,64	25,0 / <0,001	38,6 / <0,001	5,3 / 0,27
Взаимодействие Interaction	23,7 / 0,09	10,6 / 0,23	15,1 / 0,17	28,4 / 0,02
Случайные отклонения Random deviations	44,4	30,8	37,7	33,5
HCP_{05} LSD_{05}				
Частных средних Partial mean	2,37	1,20	1,19	5,44
Факторов Factor	1,37	0,70	0,69	3,14

описан рядом авторов [Jien, Wang, 2013; Zhao et al., 2015; Raboin et al., 2016; Dai et al., 2017]. Данный эффект наиболее проявлен на кислых почвах и связан с особенностями угля как мелиоранта с высокой обменной емкостью, щелочным pH и содержащего обменные основания. Биоуголь вносит существенный вклад в обогащение почвы калием [Liu et al., 2012; Li-li et al., 2017]. Исследуемый уголь содержит около 0,24 % калия (по массе), что обеспечивает прибавку калия в 60 мг/кг. В песчаной почве содержание калия возрастает на 12–20 мг/кг

в вариантах с углем, причем АЗФК не вносит значительный вклад в баланс калия. Таким образом, можно предположить, что в песчаной почве основной привнос калия происходит с биоуглем. В тяжелосуглинистой почве в вариантах с углем содержание калия увеличивается на 60–110 мг/кг и наблюдается синергетическое влияние мелкой фракции угля и удобрений на уровень подвижного калия. Возможно, данный прирост объясняется особенностями минералогического состава тяжелосуглинистой почвы, где внесение удобрений и измене-

Таблица 4. Статистические показатели роста и развития ячменя на дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почве

Table 4. Statistical indicators of growth and development of barley on soddy-podzolic clay loam soil

Варианты Variants	Линейный рост, см Linear growth, cm	Сырая биомасса побегов, г/сосуд Raw shoots biomass, g/pot	Сырая биомасса корней, г/сосуд Raw roots biomass, g/pot	Сырой протеин, % а. с. н. Raw protein, % a. d. w.
Контроль Control				
Контроль Control	30,8 ± 1,76	4,61 ± 0,42	0,96 ± 0,19	20,2 ± 0,33
АЗФК NPK (16-16-16)	32,9 ± 1,29	7,55 ± 1,26	0,94 ± 0,19	21,4 ± 1,59
Азотовит <i>Azotobacter</i>	28,3 ± 1,16	4,33 ± 0,15	0,82 ± 0,21	20,4 ± 0,76
Биоуголь ≤ 2 мм Biochar ≤ 2 mm				
Контроль Control	22,6 ± 0,62	2,25 ± 0,32	0,94 ± 0,12	17,5 ± 0,43
АЗФК NPK (16-16-16)	23,9 ± 0,19	3,10 ± 0,26	1,21 ± 0,08	19,0 ± 0,78
Азотовит <i>Azotobacter</i>	23,4 ± 0,33	2,41 ± 0,05	1,07 ± 0,20	18,1 ± 0,42
Биоуголь 3–5 мм Biochar 3–5 mm				
Контроль Control	25,1 ± 0,32	2,95 ± 0,11	1,07 ± 0,05	17,2 ± 2,28
АЗФК NPK (16-16-16)	25,9 ± 0,46	3,26 ± 0,29	1,21 ± 0,09	16,6 ± 0,72
Азотовит <i>Azotobacter</i>	24,7 ± 0,49	2,82 ± 0,05	0,94 ± 0,01	16,0 ± 1,93
Доля влияния фактора, % / Уровень значимости <i>p</i> The percentage of factor, % / <i>p</i> -value				
Биоуголь Biochar	76,7 / <0,001	57,5 / <0,001	12,2 / 0,23	45,2 / 0,003
Удобрение Fertilizer	5,9 / 0,03	15,4 / 0,002	12,3 / 0,22	2,2 / 0,68
Взаимодействие Interaction	4,7 / 0,21	11,2 / 0,04	7,8 / 0,72	2,8 / 0,91
Случайные отклонения Random deviations	12,7	15,9	67,7	49,9
<i>HCP</i> ₀₅ <i>LSD</i> ₀₅				
Частных средних Partial mean	2,66	1,42	–	3,66
Факторов Factor	1,53	0,82	–	2,12

ние pH среды приводит к большей подвижности калия минералов группы гидрослюдов [Жарикова, 2008; Сатишур и др., 2010].

Внесение в почвы биоугля оказывает различное влияние на динамику фосфора, в зависимости от начального его содержания в почве, а также сорбционной емкости почвы и угля [Vornø et al., 2018]. Валовое содержание фосфатов в исследуемом биоугле составляет около 0,026 % (по массе). Увеличение количества фосфатов в вариантах с углем составило

в среднем 15 мг/кг, и скорее всего, их прямое внесение оказывает незначительное влияние на прирост подвижного фосфора в почве. При изначально более низком уровне содержания фосфора в песчаной почве больший вклад вносит удобрение, а биоуголь дополнительно увеличивает подвижность фосфатов за счет роста pH среды [Chintala et al., 2014]. Обеспеченность фосфатами и емкость поглощения тяжелосуглинистой почвы выше, чем песчаной, и здесь наблюдается более сильное влияние биоугля

на содержание подвижного фосфора. Данный эффект выше в вариантах с мелкой фракцией угля и большим содержанием Р (варианты с удобрением) – до плюс 30 мг/кг к контролю. В данном случае нельзя исключать совместного влияния механизмов мобилизации почвенных фосфатов. Так, основными эффектами, влияющими на содержание фосфора в почве при применении биоугля, являются увеличение его подвижности в связи с ростом pH среды и уменьшение сорбционной способности почвы для анионов, в том числе фосфатов [Xu et al., 2014; Jiang et al., 2015]. Отмечается также сдвиг в составе микробного сообщества и увеличение количества групп бактерий, солибилизирующих почвенные фосфаты [Liu et al., 2017].

В отличие от калия и фосфора, имеющих положительный рост при внесении биоугля в обеих почвах, для минерального азота наблюдается более сложная картина. В нашем опыте на песчаной почве для форм минерального азота проявилась динамика, в целом характерная для дерново-подзолистых почв [Завьялова и др., 2014; Володина, Левченкова, 2017]. При установлении оптимальных температуры и влажности происходит усиление нитрифицирующей способности почв, содержание аммонийного азота несколько сокращается за счет его быстрого окисления и нитрификации до нитратов, при этом в вариантах с биоуглем содержание нитратного азота достоверно выше. В тяжелосуглинистой почве похожая динамика наблюдалась в вариантах без добавления биоугля. В вариантах с углем отмечено сокращение содержания нитратного азота до минус 6–13 мг/кг от контроля, что характеризует уголь в тяжелосуглинистой почве как ингибитор нитрификации. Основными механизмами изменения цикла азота в почвах, обогащенных биоуглем, являются повышение сорбционной емкости почвы, а также изменение таких почвенных характеристик, как pH и водно-физические свойства, которые опосредованно влияют на состав почвенного бактериального сообщества. Так, в почвах легкого гранулометрического состава биоуголь зачастую создает более благоприятные условия для нитрификаторов [Zheng et al., 2013; Zhao et al., 2014; Cao et al., 2019]. Почвы тяжелого гранулометрического состава исследуются в этом вопросе гораздо реже. Некоторыми исследователями отмечено, что при добавлении к ним биоугля, особенно в высоких дозировках, повышается водоудерживающая способность почв и создаются анаэробные условия, благоприятные для денитрификации и потерь нитратного азота [Бучкина и др., 2017; Li et al., 2018], что подтверждают

наши исследования. В опыте отмечено увеличение содержания нитратного и аммонийного азота в вариантах с углем и АЗФК, в основном проявляется их синергетическое влияние. Поскольку древесный биоуголь характеризуется высокой степенью ароматичности и структурности, то обычно низкая активность его минерализации в почве усиливается при добавлении азотных удобрений [Sadaf et al., 2017].

В целом следует отметить большую степень влияния АЗФК по сравнению с азотовитом на показатели азота и фосфора, а также линейный рост и продуктивность ячменя. Отмечено лишь синергетическое влияние крупной фракции угля и азотовита на содержание нитратного азота в почве и сырого протеина в надземной биомассе ячменя в опыте на песчаной почве. Биоуголь рассматривается некоторыми исследователями как перспективный носитель для инокуляции PGPR, который обеспечивает лучшую выживаемость бактерий [Hale et al., 2014]. В данном варианте, возможно, создались наиболее благоприятные условия для развития *Azotobacter*, который, как известно, способствует лучшей ассимиляции азота растениями [Соколова и др., 2009].

Масса корневой системы гораздо выше в песчаной почве, где на нее также оказывает положительное влияние АЗФК. На урожайность подземной массы не выявлено прямого влияния биоугля в обеих почвах, данный показатель скорее обусловлен физическими свойствами почв. На песчаной почве внесение биоугля положительно сказалось на линейном росте и продуктивности надземной биомассы ячменя, а также содержания протеина в зеленой массе. Несмотря на то что в тяжелосуглинистой почве зафиксирован значительно более высокий агрохимический фон, в вариантах с биоуглем отмечена самая низкая продуктивность растений ячменя и пониженное содержание протеина. Скорее всего, это обусловлено снижением количества доступного для растений азота в условиях конкуренции с почвенной биотой. По данным опыта, урожайность надземной биомассы находится в сильной прямой корреляции с содержанием нитратного азота в почве (рис.). Также возможно отрицательное влияние на растения продуктов аммонификации в условиях режима слабой аэрации корневой системы [Банкина, 2006].

Заключение

В ходе краткосрочного вегетационного опыта было установлено, что добавление древесного биоугля в количестве 5 % (по мас-

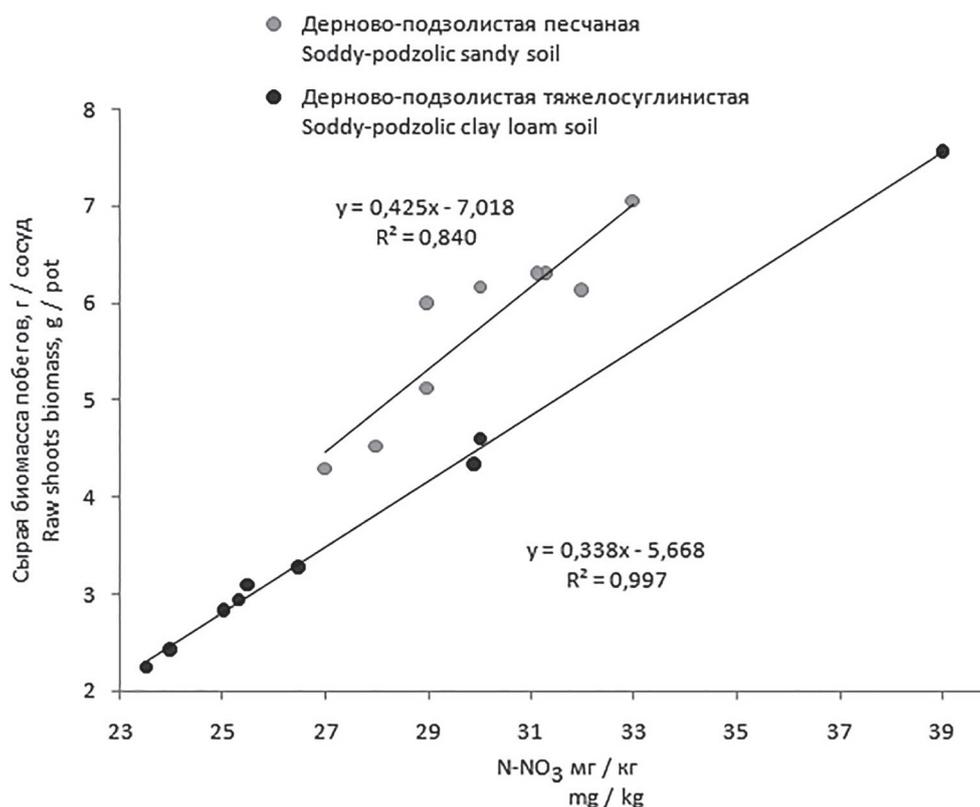


Диаграмма рассеивания, уравнение регрессии и коэффициент детерминации зависимости урожайности надземной биомассы ячменя от содержания нитратного азота в вариантах опыта

Scatter plot, regression equation, and determination coefficient of the dependence of barley aboveground biomass yield on nitrate nitrogen content in the variants of the experiment

се) к дерново-подзолистой песчаной почве вызывает снижение почвенной кислотности, увеличивает содержание подвижного калия и фосфора, нитратного азота, а также усиливает линейный рост, повышает продуктивность надземной биомассы ячменя и содержания протеина в зеленой массе. Наиболее выраженное синергетическое влияние практически на все параметры оказала мелкая фракция угля совместно с АЗФК. Применение крупной фракции биоугля с азотовитом вызвало увеличение содержания нитратного азота в почве и сырого протеина в надземной биомассе ячменя. Применение той же дозировки биоугля на дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почве, несмотря на рост рН, подвижного калия и фосфора, вызывает ингибирование нитрификации, что ведет к сокращению содержания нитратного азота. Следствием является замедление роста и развития растений ячменя, а также сокращение содержания в них протеина. В целом по опыту можно отметить увеличение содержания минерального азота в вариантах с биоуглем и АЗФК в невысокой дозировке, следовательно, биоуголь в присутствии допол-

нительного источника азота подвергается усиленной минерализации. Таким образом, биоуголь хорошо себя зарекомендовал как источник элементов питания и мелиорант на легких и изначально бедных по плодородию песчаных почвах, особенно в смеси с невысокими дозами АЗФК. Крупная фракция биоугля, возможно, создает благоприятные условия для колонизации PGPR, что требует дальнейших исследований. На тяжелых почвах применение биоугля может привести к созданию условий, способствующих денитрификации. Данный эффект наиболее вероятен в условиях избыточного увлажнения при применении высоких дозировок угля.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0079).

Литература

Банкина Т. А. Оптимизация цикла азота в дерново-подзолистых почвах агроценозов // Вестник

Санкт-Петербургского университета. Сер. 3. Биология. 2006. № 1. С. 168–176.

Бучкина Н. П., Балашов Е. В., Шимански В., Игаз Д., Хорак Я. Изменение биологических и физических параметров почв разного гранулометрического состава после внесения биоугля // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52, № 3. С. 471–477. doi: 10.15389/agrobiology.2017.3.471rus

Володина Т. И., Левченкова А. Н. Особенности поведения минерального азота в дерново-подзолистой супесчаной почве под влиянием различных систем удобрения // Молочнохозяйственный вестник. 2017. № 2(26). С. 20–31.

ГОСТ 26951–86. Определение нитратов ионометрическим методом [Электронный ресурс]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200023499> (дата обращения: 22.04.2019).

Дубровина И. А., Юркевич М. Г., Сидорова В. А., Богданова Т. В. Влияние различных фракций и дозировок биоугля на некоторые агрофизические свойства дерново-подзолистых почв // Принципы экологии. 2018. № 4. С. 77–88. doi: 10.15393/j1.art.2018.8082

Дубровина И. А. Динамика физико-химических свойств дерново-подзолистых почв при внесении биоугля // Проблемы агрохимии и экологии. 2019. № 2. С. 19–23. doi: 10.26178/АЕ.2019.51.56.004

Жарикова Е. А. Изменение калийного состояния некоторых почв Приморья при внесении калийных удобрений и извести // Агрохимия. 2008. № 8. С. 13–19.

Завьялова Н. Е., Косолапова А. И., Сторожева А. Н. Влияние возрастающих доз полного минерального удобрения на органическое вещество и азотный режим дерново-подзолистой почвы Предуралья // Агрохимия. 2014. № 6. С. 20–28.

Практикум по агрохимии / Ред. В. Г. Минеев. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.

Сатишур В. А., Германович Т. М., Поплетеева Р. Б., Чопчиц Г. С., Евсеенко Г. А. Влияние известкования на содержание форм калия в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве // Почвоведение и агрохимия. 2010. № 1(44). С. 99–111.

Соколова М. Г., Акимова Г. П., Хуснидинов Ш. К. Эффективность применения биопрепаратов ассоциативных бактерий на различных овощных культурах // Агрохимия. 2009. № 7. С. 54–59.

Теория и практика химического анализа почв / Ред. Л. А. Воробьева. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.

Ajayi A. E., Horn R. Biochar-induced changes in soil resilience: Effects of soil texture and biochar dosage // Pedosphere. 2017. Vol. 27(2). P. 236–247. doi: 10.1016/S1002-0160(17)60313-8

Bornø M. L., Müller-Stöver D. S., Liu F. Contrasting effects of biochar on phosphorus dynamics and bioavailability in different soil types // Sci. Total Environ. 2018. Vol. 627. P. 963–974. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.283

Cao H., Ning L., Xun M., Feng F., Li P., Yue S., Song J., Zhang W., Yang H. Biochar can increase nitrogen use efficiency of *Malus hupehensis* by modulating nitrate reduction of soil and root // Appl. Soil Ecol. 2019. Vol. 135. P. 25–32. doi: 10.1016/j.apsoil.2018.11.002

Chintala R., Schumacher T. E., McDonald L. M., Clay D. E., Malo D. D., Papiernik S. K., Clay S., Julson J. L. Phosphorus sorption and availability from biochars and soil/biochar mixtures // Clean: Soil, Air, Water. 2014. Vol. 42(5). P. 626–634. doi: 10.1002/cle.201300089

Dai Z., Zhang X., Tang C., Muhammad N., Wu J., Brookes P. C., Xu J. Potential role of biochars in decreasing soil acidification – A critical review // Sci. Total Environ. 2017. Vol. 581–582. P. 601–611. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.169

Głąb T., Palmowska J., Zaleski T., Gondek K. Effect of biochar application on soil hydrological properties and physical quality of sandy soil // Geoderma. 2016. Vol. 281. P. 11–20. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.06.028

Gul S., Whalen J. K. Biochemical cycling of nitrogen and phosphorus in biochar-amended soils // Soil Biology & Biochemistry. 2016. Vol. 103. P. 1–15. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.08.001

Hale L., Luth M., Kenney R., Crowley D. Evaluation of pinewood biochar as a carrier of bacterial strain *Enterobacter cloacae* UW5 for soil inoculation // Appl. Soil Ecol. 2014. Vol. 84. P. 192–199. doi: 10.1016/j.apsoil.2014.08.001

Jiang J., Yuan M., Xu R., Bish D. L. Mobilization of phosphate in variable-charge soils amended with biochars derived from crop straws // Soil Till. Res. 2015. Vol. 146. P. 139–147. doi: 10.1016/j.still.2014.10.009

Jien S.-H., Wang C.-S. Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil // Catena. 2013. Vol. 110. P. 225–233. doi: 10.1016/j.catena.2013.06.021

Li S., Zhang Y., Yan W., Shangguan Z. Effect of biochar application method on nitrogen leaching and hydraulic conductivity in a silty clay soil // Soil Till. Res. 2018. Vol. 183. P. 100–108. doi: 10.1016/j.still.2018.06.006

Li-li H., Zhe-ke Z., Hui-min Y. Effects on soil quality of biochar and straw amendment in conjunction with chemical fertilizers // J. Integr. Agr. 2017. Vol. 16(3). P. 704–712. doi: 10.1016/S2095-3119(16)61420-X

Liu J., Schulz H., Brandl S., Miehtke H., Huwe B., Glaser B. Short term effect of biochar and compost on soil fertility and water status of a Dystric Cambisol in NE Germany under field conditions // J. Plant Nutr. Soil Sci. 2012. Vol. 175. P. 698–707. doi: 10.1002/jpln.201100172

Liu S., Meng J., Jiang L., Yang X., Lan Y., Cheng X., Chen W. Rice husk biochar impacts soil phosphorous availability, phosphatase activities and bacterial community characteristics in three different soil types // Appl. Soil Ecol. 2017. Vol. 116. P. 12–22. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.03.020

Liu Z., Chen X., Jing Y., Li Q. Effects of biochar amendment on rapeseed and sweet potato yields and water stable aggregate in upland red soil // Catena. 2014. Vol. 123. P. 45–51. doi: 10.1016/j.catena.2014.07.005

Mulcahy D. N., Mulcahy D. L., Dietz D. Biochar soil amendment increases tomato seeding resistance to drought in sandy soils // J. Arid Environ. 2013. Vol. 88. P. 222–225. doi: 10.1016/j.jaridenv.2012.07.012

Novak J. M., Cantrell K. B., Watts D. W. Compositional and thermal evaluation of lignocellulosic and poultry litter chars via high and low temperature pyrolysis // *BioEnergy Research*. 2013. Vol. 6. P. 114–130. doi: 10.1007/s12155-012-9228-9

Raboin L.-M., Razafimahafaly A. H. D., Rabenjari-soa M. B., Rabary B., Dusserre J., Becquer T. Improving the fertility of tropical acid soils: Liming versus biochar application? A long term comparison in the highlands of Madagascar // *Field Crop. Res.* 2016. Vol. 199. P. 99–108. doi: 10.1016/j.fcr.2016.09.005

Sadaf J., Shah G. A., Shahzad K., Ali N., Shahid M., Ali S., Hussain R. A., Ahmed Z. I., Traore B., Ismail I. M. I., Rashid M. I. Improvements in wheat productivity and soil quality can accomplish by co-application of biochars and chemical fertilizers // *Sci. Total Environ.* 2017. Vol. 607–608. P. 715–724. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.178

Saxena J., Rana G., Pandey M. Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans // *Scientia Horticulturae*. 2013. Vol. 162. P. 351–356. doi: 10.1016/j.scienta.2013.08.002

Singh R., Babu J. N., Kumar R., Srivastava P., Singh P., Raghubanshi A. S. Mul-tifaceted application of crop residue biochar as a tool for sustainable agri-

culture: an ecological perspective // *Ecol. Eng.* 2015. Vol. 77. P. 324–347. doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.01.011

Tan Z., Lin C. S. K., Ji X., Rainey T. J. Returning biochar to fields: A review // *Appl. Soil Ecol.* 2017. Vol. 116. P. 1–11. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.03.017

Xu G., Sun J., Shao H., Chang S. X. Biochar had effects on phosphorus sorption and desorption in three soils with differing acidity // *Ecol. Eng.* 2014. Vol. 62. P. 54–60. doi: 10.1016/j.ecoleng.2013.10.027

Zhao R., Coles N., Kong Z., Wu J. Effects of aged and fresh biochars on soil acidity under different incubation conditions // *Soil Till. Res.* 2015. Vol. 146. P. 133–138. doi: 10.1016/j.still.2014.10.014

Zhao X., Wang S., Xing G. Nitrification, acidification, and nitrogen leaching from subtropical cropland soils as affected by rice straw-based biochar: laboratory incubation and column leaching studies // *J. Soil. Sediment.* 2014. Vol. 14. P. 471–482. doi: 10.1007/s11368-013-0803-2

Zheng H., Wang Z., Deng X., Herbert S., Xing B. Impacts of adding biochar on nitrogen retention and bio-availability in agricultural soil // *Geoderma*. 2013. Vol. 206. P. 32–39. doi: 10.1016/j.geoderma.2013.04.018

Поступила в редакцию 21.05.2019

References

Bankina T. A. Optimizatsiya tsikla azota v derno-vo-podzolistykh pochvakh agrotsenozov [Optimization of a nitrogen cycle in paddy-podzolic soils of agrocenoses]. *Vestnik Sankt-Peterburg. univ. Ser. 3. Biol.* [Vestnik of St. Petersburg Univ. Ser. 3. Biol.]. 2006. No. 1. P. 168–176.

Buchkina N. P., Balashov E. V., Shimanski V., Igaz D., Khorak Ya. Izmenenie biologicheskikh i fizicheskikh parametrov pochv raznogo granulometricheskogo sostava posle vneseniya biouglya [Changes in biological and physical parameters of soils with different texture after biochar application]. *Sel'skokhoz. biol.* [Agricultural Biol.]. 2017. Vol. 52, no. 3. P. 471–477. doi: 10.15389/agrobiol.2017.3.471rus

Dubrovina I. A., Yurkevich M. G., Sidorova V. A., Bogdanova T. V. Vliyanie razlichnykh fraktsii i dozirovok biouglya na nekotorye agrofizicheskie svoystva derno-vo-podzolistykh pochv [Impact of different fractions and dosages of biochar on some agrophysical properties of soddy-podzolic soils]. *Printsipy ekol.* [Principles Ecol.]. 2018. No. 4. P. 77–88. doi: 10.15393/j1.art.2018.8082

Dubrovina I. A. Dinamika fiziko-khimicheskikh svoystv derno-vo-podzolistykh pochv pri vnesenii biouglya [Dynamics of physicochemical properties of soddy-podzolic soils under the application of biochar]. *Probl. agrokhimii i ekol.* [Agrochem. and Ecol. Problems]. 2019. No. 2. P. 19–23. doi: 10.26178/AE.2019.51.56.004

GOST 26951–86. Opredelenie nitratov ionometricheskim metodom [State standard 26951–86. Determination of nitrates by the potentiometric method]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200023499> (accessed: 22.04.2019).

Praktikum po agrokhimii [Agrochemistry manual]. Moscow: MSU Publ., 2001. 689 p.

Satishur V. A., Germanovich T. M., Popleteeva R. B., Chopchits G. S., Evseenko G. A. Vliyanie izvestkovaniya na sodержanie form kaliya v derno-vo-podzolistoi legkosuglinistoi pochve [Influence of liming on a potash mode in sod-podzolic light loamy soils]. *Pochvovedenie i agrokhimiya* [Soil Science and Agrochem.]. 2010. No. 1(44). P. 99–111.

Sokolova M. G., Akimova G. P., Khusnidinov Sh. K. Effektivnost' primeneniya biopreparatov assotsiativnykh bakterii na razlichnykh ovoshchnykh kul'turakh [Efficiency of biopreparation associative bacteria on different vegetable crops]. *Agrokhimiya* [Agrochem.]. 2009. No. 7. P. 54–59.

Teoriya i praktika khimicheskogo analiza pochv [Theory and practice of soil chemical analysis]. Moscow: GEOS, 2006. 400 p.

Volodina T. I., Levchenkova A. N. Osobennosti povedeniya mineral'nogo azota v derno-vo-podzolistoi supeschanoi pochve pod vliyaniem razlichnykh sistem udobreniya [Various fertilizer system impact on the nitrogen mode features of the sandy sod-podzolic soil]. *Molochnokhoz. vestnik* [Dairy Bull.]. 2017. No. 2(26). P. 20–31.

Zav'yalova N. E., Kosolapova A. I., Storozheva A. N. Vliyanie vozrastayushchikh doz polnogo mineral'nogo udobreniya na organicheskoe veshchestvo i azotnyi rezhim derno-vo-podzolistoi pochvy Predural'ya [Effect of complete fertilizer increasing rates on organic matter and nitrogen status in soddy-podzolic soils of the Cis-Urals]. *Agrokhimiya* [Agrochem.]. 2014. No. 6. P. 20–28.

Zharikova E. A. Izmenenie kaliynogo sostoyaniya nekotorykh pochv Primor'ya pri vnesenii kaliinykh udobrenii i izvesti [Changes in potassium status of the Primorye soils at the application of mineral fertilizers and lime materials]. *Agrokhimiya* [Agrochem.]. 2008. No. 8. P. 13–19.

- Ajayi A. E., Horn R. Biochar-induced changes in soil resilience: Effects of soil texture and biochar dosage. *Pedosphere*. 2017. Vol. 27(2). P. 236–247. doi: 10.1016/S1002-0160(17)60313-8
- Bornø M. L., Müller-Stöver D. S., Liu F. Contrasting effects of biochar on phosphorus dynamics and bioavailability in different soil types. *Sci. Total Environ.* 2018. Vol. 627. P. 963–974. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.283
- Cao H., Ning L., Xun M., Feng F., Li P., Yue S., Song J., Zhang W., Yang H. Biochar can increase nitrogen use efficiency of *Malus hupehensis* by modulating nitrate reduction of soil and root. *Applied soil ecology*. 2019. Vol. 135. P. 25–32. doi: 10.1016/j.apsoil.2018.11.002
- Chintala R., Schumacher T. E., McDonald L. M., Clay D. E., Malo D. D., Papiernik S. K., Clay S., Julson J. L. Phosphorus sorption and availability from biochars and soil/biochar mixtures. *Clean: Soil, Air, Water*. 2014. Vol. 42(5). P. 626–634. doi: 10.1002/clean.201300089
- Dai Z., Zhang X., Tang C., Muhammad N., Wu J., Brookes P. C., Xu J. Potential role of biochars in decreasing soil acidification – A critical review. *Sci. Total Environ.* 2017. Vol. 581–582. P. 601–611. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.169
- Głąb T., Palmowska J., Zaleski T., Gondek K. Effect of biochar application on soil hydrological properties and physical quality of sandy soil. *Geoderma*. 2016. Vol. 281. P. 11–20. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.06.028
- Gul S., Whalen J. K. Biochemical cycling of nitrogen and phosphorus in biochar-amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 2016. Vol. 103. P. 1–15. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.08.001
- Hale L., Luth M., Kenney R., Crowley D. Evaluation of pinewood biochar as a carrier of bacterial strain *Enterobacter cloacae* UW5 for soil inoculation. *Appl. Soil Ecol.* 2014. Vol. 84. P. 192–199. doi: 10.1016/j.apsoil.2014.08.001
- Jiang J., Yuan M., Xu R., Bish D. L. Mobilization of phosphate in variable-charge soils amended with biochars derived from crop straws. *Soil Till. Res.* 2015. Vol. 146. P. 139–147. doi: 10.1016/j.still.2014.10.009
- Jien S.-H., Wang C.-S. Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil. *Catena*. 2013. Vol. 110. P. 225–233. doi: 10.1016/j.catena.2013.06.021
- Li S., Zhang Y., Yan W., Shangguan Z. Effect of biochar application method on nitrogen leaching and hydraulic conductivity in a silty clay soil. *Soil Till. Res.* 2018. Vol. 183. P. 100–108. doi: 10.1016/j.still.2018.06.006
- Li-li H., Zhe-ke Z., Hui-min Y. Effects on soil quality of biochar and straw amendment in conjunction with chemical fertilizers. *J. Integr. Agr.* 2017. Vol. 16(3). P. 704–712. doi: 10.1016/S2095-3119(16)61420-X
- Liu J., Schulz H., Brandl S., Miehtke H., Huwe B., Glaser B. Short term effect of biochar and compost on soil fertility and water status of a Dystric Cambisol in NE Germany under field conditions. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2012. Vol. 175. P. 698–707. doi: 10.1002/jpln.201100172
- Liu S., Meng J., Jiang L., Yang X., Lan Y., Cheng X., Chen W. Rice husk biochar impacts soil phosphorus availability, phosphatase activities and bacterial community characteristics in three different soil types. *Appl. Soil Ecol.* 2017. Vol. 116. P. 12–22. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.03.020
- Liu Z., Chen X., Jing Y., Li Q. Effects of biochar amendment on rapeseed and sweet potato yields and water stable aggregate in upland red soil. *Catena*. 2014. Vol. 123. P. 45–51. doi: 10.1016/j.catena.2014.07.005
- Mulcahy D. N., Mulcahy D. L., Dietz D. Biochar soil amendment increases tomato seeding resistance to drought in sandy soils. *J. Arid Environ.* 2013. Vol. 88. P. 222–225. doi: 10.1016/j.jaridenv.2012.07.012
- Novak J. M., Cantrell K. B., Watts D. W. Compositional and thermal evaluation of lignocellulosic and poultry litter chars via high and low temperature pyrolysis. *BioEnergy Research*. 2013. Vol. 6. P. 114–130. doi: 10.1007/s12155-012-9228-9
- Raboin L.-M., Razafimahafaly A. H. D., Rabenjari-soa M. B., Rabary B., Dusserre J., Becquer T. Improving the fertility of tropical acid soils: Liming versus biochar application? A long term comparison in the highlands of Madagascar. *Field Crop. Res.* 2016. Vol. 199. P. 99–108. doi: 10.1016/j.fcr.2016.09.005
- Sadaf J., Shah G. A., Shahzad K., Ali N., Shahid M., Ali S., Hussain R. A., Ahmed Z. I., Traore B., Ismail I. M. I., Rashid M. I. Improvements in wheat productivity and soil quality can accomplish by co-application of biochars and chemical fertilizers. *Sci. Total Environ.* 2017. Vol. 607–608. P. 715–724. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.178
- Saxena J., Rana G., Pandey M. Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans. *Scientia Horticulturae*. 2013. Vol. 162. P. 351–356. doi: 10.1016/j.scienta.2013.08.002
- Singh R., Babu J. N., Kumar R., Srivastava P., Singh P., Raghubanshi A. S. Mul-tifaceted application of crop residue biochar as a tool for sustainable agriculture: an ecological perspective. *Ecol. Eng.* 2015. Vol. 77. P. 324–347. doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.01.011
- Tan Z., Lin C. S. K., Ji X., Rainey T. J. Returning biochar to fields: A review. *Appl. Soil Ecol.* 2017. Vol. 116. P. 1–11. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.03.017
- Xu G., Sun J., Shao H., Chang S. X. Biochar had effects on phosphorus sorption and desorption in three soils with differing acidity. *Ecol. Eng.* 2014. Vol. 62. P. 54–60. doi: 10.1016/j.ecoleng.2013.10.027
- Zhao R., Coles N., Kong Z., Wu J. Effects of aged and fresh biochars on soil acidity under different incubation conditions. *Soil Till. Res.* 2015. Vol. 146. P. 133–138. doi: 10.1016/j.still.2014.10.014
- Zhao X., Wang S., Xing G. Nitrification, acidification, and nitrogen leaching from subtropical cropland soils as affected by rice straw-based biochar: laboratory incubation and column leaching studies. *J. Soil. Sediment.* 2014. Vol. 14. P. 471–482. doi: 10.1007/s11368-013-0803-2
- Zheng H., Wang Z., Deng X., Herbert S., Xing B. Impacts of adding biochar on nitrogen retention and bioavailability in agricultural soil. *Geoderma*. 2013. Vol. 206. P. 32–39. doi: 10.1016/j.geoderma.2013.04.018

Received May 25, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Дубровина Инна Александровна

старший научный сотрудник, к. с.-х. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vorgo@mail.ru

Юркевич Мария Геннадьевна

заведующая лаб. экологии и географии почв, к. с.-х. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: svirinka@mail.ru

Сидорова Валерия Александровна

научный сотрудник, к. с.-х. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: val.sidorova@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Dubrovina, Inna

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

Yurkevich, Maria

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

Sidorova, Valeria

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Russia
e-mail: val.sidorova@gmail.com

УДК 630*232.1:582.475 (470.22)

СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В КАРЕЛИИ

Б. В. Раевский¹, К. К. Куклина², М. Л. Щурова³

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

² Отдел комплексных научных исследований, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

³ Карельская лесосеменная станция – отдел Ленинградского центра защиты леса, Петрозаводск, Россия

Исследованы показатели сохранности, роста и развития 123 вегетативных и семенных потомств плюсовых деревьев (ПД) сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на лесосеменной плантации (ЛСП) I порядка и в испытательных культурах различного возраста. Показано, что в условиях нормально колеблющейся среды в первое десятилетие роста испытательных культур наблюдается незначительное снижение их сохранности при сокращении числа потомств, статистически достоверно превосходящих контроль, и уменьшении относительной разницы по высоте этих вариантов с контролем. Выявлена статистически значимая умеренная корреляция между высотой материнских клонов и их полусибсового семенного потомства, а также положительная динамика данного параметра (от $r = 0,28$ в 2014 г. до $r = 0,33$ в 2018 г.) за весь период исследований. Для испытательных культур старшего возраста отмечена статистически значимая умеренная ($r = 0,36$) корреляция частоты встречаемости пороков ствола (раздвоенности, многоствольности) в одноименных вегетативных (клоны) и семенных (полусибсы) потомствах. Подтверждена справедливость ранее выдвинутых положений о приоритете селекции ПД сосны обыкновенной по признаку быстроты роста семенного потомства при условии неременного учета габитуальных особенностей и семенной продуктивности их клонов. Результаты исследований, изложенные в настоящей статье, свидетельствуют в пользу того, что надежные предварительные оценки полусибсовых потомств могут быть получены в испытательных культурах начиная с 7-летнего возраста, при общем сроке испытаний, не превышающем 25–30 лет. По результатам селекционно-генетической оценки сформирован набор из 20 ПД (клонов), минимально необходимый для создания ЛСП повышенной генетической ценности (I,5 порядка).

К л ю ч е в ы е с л о в а: селекционно-генетическая оценка; плюсовые деревья; клоны; полусибсовые потомства; сосна обыкновенная.

B. V. Raevsky, K. K. Kuklina, M. L. Schurova. GENETIC AND BREEDING ASSESSMENT OF SCOTS PINE PLUS TREES IN KARELIA

Growth and survival of 123 grafted and half-sib Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) progenies have been investigated in a 1st generation seed orchard and progeny tests of various ages. It was found that during the first decade after planting the survival rate of the progeny tests was going slightly down, with a simultaneous decrease in the share of progenies superior to the control, and in the degree of superiority (height difference). We

observed a moderate statistically significant correlation between the heights of maternal clones and their half-sib progenies, with its positive trend (from $r = 0.28$ in 2014 up to $r = 0.33$ in 2018) during the entire study period. Older progeny tests (30 years old) showed a moderate significant correlation ($r = 0.36$) in the ratio of stem faults (forked, multistem) between clones and half-sib progenies. It was confirmed that selection based on growth rate should have the highest priority for Scots pine plus trees provided that the habit and seed productivity of their clones are taken into account. The results reported here testify to the statement that reliable preliminary assessments of half-sib families can be obtained starting at the age of 7, with the tests lasting 25–30 years at maximum. As a result of the breeding and selection assessment, a set of 20 plus trees (clones) had been formed fulfilling minimum requirements for an advanced-value seed orchard of the 1,5 generation.

Keywords: genetic and breeding assessment; plus trees; clones; half-sib families; Scots pine.

Введение

На современном уровне развития селекционного семеноводства лесных древесных видов в РФ все клоновые лесосеменные плантации (ЛСП) хвойных пород относятся к плантациям I порядка. ЛСП данного типа закладывались вегетативными потомствами плюсовых деревьев (ПД), отобранных исключительно по фенотипу. В настоящее время в странах Северной Европы осуществляется переход к ЛСП I,5 и II порядка, которые должны стать основным источником генетически улучшенных семян в первой четверти XXI века [Danell, 1990; Naaranen, 2005; Jansons, 2005].

Для ЛСП повышенной и высокой генетической ценности отбор ПД осуществляется по результатам комплексной оценки семенных и вегетативных потомств, включающей комбинационную способность по селектируемым признакам и репродуктивную способность клонов [Указания..., 2000]. Из сказанного следует, что селекционный процесс должен охватывать как минимум две категории селекционных объектов, а именно: лесосеменные плантации и испытательные культуры (ИК). В таком случае следует рассматривать всестороннюю характеристику клонов, в частности сосны обыкновенной, произрастающих на ЛСП I порядка, как по репродуктивной способности, так и по совокупности габитуальных параметров и показателей вегетативного роста в качестве первого этапа комплексной селекционно-генетической оценки (СГО). Данная работа считается завершенной после выполнения ее второго этапа, а именно оценки параметров сохранности, роста и развития семенных потомств ПД в испытательных культурах [Раевский, 2015; Раевский, Щурова, 2016].

Опыт показывает, что для комплексного описания того или иного клонового набора

сосны обыкновенной требуется не менее трех лет, поскольку объективная характеристика репродуктивных параметров не может быть дана по результатам учетов за один сезон и требует усреднения хотя бы за трехлетний период. Селекционно-генетическая оценка семенного потомства (семей) ПД сосны в испытательных культурах является сравнительно долговременной задачей. Согласно существующим на сегодняшний день нормативным требованиям [Указания..., 2000] для создания ЛСП повышенной генетической ценности (I,5 порядка) необходимы результаты предварительной генетической оценки, полученные в испытательных культурах по достижении потомствами II класса возраста. Таким образом, для хвойных пород требуемый период не может быть короче 21 года. Однако в настоящее время накопилось уже немало экспериментальных данных, указывающих на то, что надежные предварительные оценки успешности роста и развития семей сосны обыкновенной могут быть даны гораздо раньше, примерно в возрасте 7–10 лет [Squillace, Gansel, 1974; Lindgren, 1984; Маслаков, 1984; Danell, 1993; Naaranen, 2002; Федорков, Туркин, 2005].

Оценивая существующую практику селекционно-генетической оценки ПД сосны в РФ, следует подчеркнуть, что она фактически начинается сразу со второго этапа, минуя первый. Данные, характеризующие рост и репродуктивные параметры вегетативных потомств ПД, если и собираются, то со значительной задержкой и по небольшому числу параметров. Существующее положение вещей сильно ограничивает возможности СГО плюсовых деревьев сосны и, что особенно важно, оценки наследуемости ряда ее хозяйственно ценных признаков, характеризующих качество ствола, быстроту роста и т. п. В связи с вышесказанным для дальнейшего развития плюсовой селекции

основных лесообразующих хвойных видов таежной зоны России, в частности сосны обыкновенной, крайне актуальной является информация, касающаяся результатов реализации полной схемы комплексной СГО плюсовых деревьев, позволяющая начать переход к созданию ЛСП повышенной генетической ценности (1,5 порядка).

Методика и объекты исследования

В 2007–2011 гг. на Петрозаводской ЛСП была проведена комплексная селекционно-генетическая оценка 72 клоновых потомств сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Отобранные для наблюдений клоны (по 5 нормально развитых рамет на каждый клон) произрастали в пределах одного поля плантации, заложенного в 1982–1984 гг. Их материнские деревья происходили из Южнокарельского лесосеменного района [Лесосеменное..., 1982], где расположена и сама плантация. Методика комплексной оценки вегетативных потомств сосны обыкновенной подробно изложена в предшествующих публикациях [Раевский, Мордась, 2006; Раевский, Щурова, 2016]. В процессе СГО указанного набора клонов во внимание было принято 29 инструментально и глазомерно оцениваемых параметров. При описании вегетативного роста и габитуса клона учитывались 13 признаков. Обилие репродуктивных процессов и структура урожая клонов оценивались по 16 признакам. В результате выполнения первого этапа СГО были отобраны 7 лучших клонов в качестве кандидатов в элиту [Раевский, 2015]. Далее по тексту статьи данные клоны именуются элитными.

Весной 2011 г. образцы семян с исследуемых клонов высеяны в теплице питомника «Вилга». Тепличные сеянцы с закрытой корневой системой (ЗКС) выращивались по стандартной технологии отдельно по семьям в течение одного вегетационного сезона в 5-кратной повторности. Во второй половине мая 2012 г. потомства всех клонов высажены на лесокультурную площадь (4 га). Испытательные культуры были созданы на территории бывшего лесопитомника в районе д. Маньга Пряжинского района Республики Карелия (далее – культуры Маньга). Обработку почвы осуществляли способом сплошной вспашки с оборотом пласта. Посадку однолетних тепличных сеянцев с ЗКС производили вручную, с использованием финской посадочной трубы «pottiputki». Варианты размещали на трех полях рядами, соблюдая принцип полной рендомизации. В одной повторности высаживали не менее 25 растений. В 9-кратной повторности был представлен кон-

троль – сеянцы, выращенные из общего образца семян Петрозаводской ЛСП.

Осенью 2013 г. в культурах был проведен сплошной учет, с тем чтобы оценить следующие параметры:

- приживаемость, как долю (%) живых растений по отношению к общему числу высаженных;
- повреждаемость, как долю (%) поврежденных тем или иным фактором растений по отношению к общему числу живых особей;
- общую высоту растений и энергию роста вариантов, как величину прироста в высоту (см) за вегетационный сезон 2013 г.

Величина прироста в высоту рассчитывалась как разница между общей высотой растения и его высотой до основания прироста текущего года. В дальнейшем, начиная с осени 2014 г., сохранность и повреждаемость вариантов определялись аналогичным образом. Измерялись общая высота растения и прирост в высоту за последний сезон с точностью до 0,5 см. В 2014 и 2018 гг. подсчитывалось число верхушечных почек на побеге текущего года. Результаты замеров обрабатывались с использованием общепринятых статистических методик [Плохинский, 1970; Котов, Лебедева, 1977; Ивантер, Коросов, 2003]. Величина общей комбинационной способности (ОКС) рассчитывалась как относительное (%) превышение того или иного варианта (семьи) над контролем.

В период 1981–1989 гг. в непосредственной близости от Петрозаводской лесосеменной плантации, в Заозерском лесничестве Петрозаводского мехлесхоза (ныне Прионежское центральное лесничество), были созданы испытательные культуры сосны (далее – культуры Чепика). Всего заложили 13 делянок общей полезной площадью 11,7 га. В культурах были представлены семенные потомства 169 плюсовых деревьев, в т. ч. 23 ПД из Финляндии и 2 ПД из Воронежской области. Остальные имели карельское происхождение. В 2014–2015 гг. подробные учетные работы проведены на 8 делянках полигона (7,2 га). Изучены сохранность, рост и развитие потомств 107 ПД Республики Карелия [Раевский и др., 2018]. Необходимо особо отметить, что для данных культур посадочный материал выращивался из семян, собранных непосредственно с плюсовых деревьев в природной среде (*in situ*). В 2017 г. для 51 варианта, представленного в культурах, были подобраны одноименные клоны, произрастающие на Петрозаводской ЛСП. В период с 2017 по 2019 гг. осуществлялась комплексная СГО указанных клонов по вышеупомянутой методике.

Таким образом, на сегодняшний день обследованы практически все испытательные

Таблица 1. Показатели сохранности вариантов в испытательных культурах сосны Маньга

Table 1. Survival rate of half-sib progenies in the Manga progeny trial

Год Year	Сохранность*, % Survival rate, %		
	Пониженная lowered (60–75,0)	Средняя middle (75,1–90,0)	Высокая high (90,1–100)
2014 Средняя общая сохранность / Average survival – 89,8 %	577	Контроль/control, 6, 32, 62, 109, 156, 361, 396, 448, 459, 504, 508, 512, 515, 516 , 573, 651, 688, 809, 835 , 841, 849, 850, 856 , 861, 864 , 871, 900, 1026	12, 36, 37, 40, 50, 59, 60 , 63, 104, 107, 110, 114, 157, 158, 432, 437, 451, 505, 510, 513, 522, 528, 578, 644, 645, 654, 656, 657, 687, 752, 780, 795, 804, 815, 829 , 853, 855, 865, 875, 876 , 956, 962, 1038
Average, %	73,3	85,8	94,0
Доля семей Proportion, %	1,4	39,7	58,9
2016 Средняя общая сохранность / Average survival – 88,0 %	448, 577, 850	Контроль/control, 6, 32, 59, 62, 109, 156, 157, 158, 361, 396, 432, 437, 459, 504, 508, 512, 515, 516 , 528, 573, 644, 645, 651, 688, 780, 809, 841, 849, 853, 856 , 835 , 861, 864 , 871, 875, 900, 962, 1026	12, 36, 37, 40, 50, 60 , 63, 104, 107, 110, 114, 451, 505, 510, 513, 522, 578, 654, 656, 657, 687, 752, 795, 804, 815, 829 , 855, 865, 876 , 956, 1038
Среднее, Average, %	72,5	84,7	93,5
Доля семей Proportion, %	4,1	53,4	42,5
2018 Средняя общая сохранность / Average survival – 85,8 %	32, 448, 577, 850	Контроль/control, 6, 50, 59, 62, 109, 114, 156, 157, 158, 361, 396, 432, 437, 459, 504, 508, 510, 512, 513, 515, 516 , 528, 573, 644, 645, 651, 654, 657, 687, 688, 780, 809, 815, 835 , 841, 849, 853, 856 , 861, 864 , 871, 875, 900, 962, 1026, 1038	12, 36, 37, 40, 60 , 63, 104, 107, 110, 451, 505, 522, 578, 656, 752, 795, 804, 829 , 855, 865, 876 , 956
Среднее Average, %	70,2	83,6	92,8
Доля семей Proportion, %	5,5	64,4	30,1

Примечание. *Жирным шрифтом выделены номера семей элитных клонов.

Note. *Numbers of elite clones are given in bold.

культуры сосны обыкновенной, имеющиеся в Карелии. Для участка «культуры Маньга» сначала отбирались и оценивались клоны сосны на ЛСП, а затем давалась оценка их семенного потомства. Для культур Чепика порядок действий являлся обратным: сначала была дана оценка полусибсовому потомству, а затем выполнялся поиск клонов на ЛСП, являющихся вегетативным потомством испытываемых плюсовых деревьев. В результате проделанной работы составлена комплексная характеристика 123 клонов сосны, семенное потомство от свободного опыления (полусибсы) которых в настоящее время проходит проверку в ИК 7- и 30-летнего возраста.

Результаты и обсуждение

Сплошное обследование культур Маньга осенью 2013 г. выявило высокую общую при-

живаемость культур к концу второго вегетационного сезона (91,4 %). В таблице 1 дано распределение испытываемых семей и их численности (доли) по уровням сохранности в культурах. Сохранность отдельного варианта считалась средней, если она была близка к средней сохранности культур, определенной на год учета. Как следует из данных таблицы 1, в период исследований в культурах наблюдался умеренный отпад, выраженный в общем снижении показателя сохранности с соответствующим уменьшением доли вариантов с его высоким значением. Анализ динамики сохранности за весь период исследования показывает, что на третий сезон роста, по отношению к приживаемости во второй год, она снизилась незначительно (на 1,6 %) и в дальнейшем была достаточно стабильна. В возрасте 7 лет минимальная сохранность отмечена для варианта № 448 (67,2 %). В настоящее время доля

Таблица 2. Показатели описательной статистики в целом по культурам Маньга

Table 2. Descriptive statistic of the Manga progeny trial as a whole statistical population

Показатели Parameters	Высота, см Height, cm			
	2013	2014	2016	2018
Год Year	2013	2014	2016	2018
Число наблюдений (N) Data number	7218	7504	7237	6837
Среднее (X) Mean value	25,6	38,6	82,6	160,2
Минимальное значение (min) Minimal data	7	5	22	53
Максимальное значение (max) Maximal data	62	103	187,5	358
Стандартное отклонение (σ) Standard deviation	6,6	11,9	26	41,9
Ошибка среднего (m _χ) Mean error	0,07	0,14	0,3	0,5
Коэффициент вариации (CV %) Variation	25,8	30,8	31,5	26,2
Асимметрия (A) Skewness	0,2	0,05	0,3	0,15
Ошибка асимметрии (m _A) Skewness error	0,02	0,02	0,03	0,03
Оценка асимметрии (T _A = A/m _A) Skewness estimation	10	2,5	10,3	5,17
Экссесс (E) Kurtosis	-0,03	0,03	-0,2	-0,25
Ошибка эксцесса (m _E) Kurtosis error	0,06	0,06	0,06	0,06
Оценка эксцесса (t _E = E/m _E) Kurtosis estimation	-0,5	0,5	-3,3	-4,2
Критерий χ ² Chi-square	11,3	3,3	162,1	103,3
Число степеней свободы Degrees of freedom	5	4	7	6
Стандартные значения χ ² Standard chi-square values	11,1–15,1–20,5	9,5–13,3–18,5	14,1–18,5–24,3	12,6–16,8–22,5
Критерий λ (Колмогорова-Смирнова) Kolmogorov-Smirnov	0,6	0,04	1,94	1,86
Стандартные значения λ Standard λ values	1,36–1,63–1,95			
Точность опыта (P, %) Accuracy assessment	0,3	0,4	0,4	0,3

семей, имеющих сохранность свыше 90 %, составляет около 30 % от общего числа испытываемых вариантов. Сохранность контроля составила 86,4 %, при средней величине данного показателя для группы элитных вариантов 85,8 %, что позволяет сделать вывод о сходном уровне их жизненного состояния.

В таблицах 2 и 3 представлены результаты статистической обработки замеров высоты растений как в целом по культурам, так и по вариантам (семьям). Рассчитывался весь комплекс показателей описательной статистики, в т. ч. оценки асимметрии и эксцесса. Соответствие

эмпирического распределения нормальному закону оценивалось по критериям χ² и λ.

В процессе исследования подавляющее число вариантов замерялось полностью, то есть культуры обследовались практически сплошную. В принципе, общая совокупность деревьев на участке культур может рассматриваться в качестве генеральной совокупности конечного размера. Однако в нашем опыте представлены лишь небольшая часть ПД сосны, отобранных в Южнокарельском лесосеменном районе, и некоторая часть семенного потомства их клонов. Поэтому теория биометрии позволяет

Таблица 3. Показатели описательной статистики по семьям в культурах Маньга

Table 3. Descriptive statistic of the Manga progeny trial by progenies

Показатели Parameters	Высота, см Height, cm			
	2013	2014	2016	2018
Год Year	2013	2014	2016	2018
Число наблюдений (N) Progeny number	72			
Среднее (X) Mean value	26,0	39,3	84,2	162,1
Минимальное значение (min) Minimal data	20,8	31,2	62,4	137,9
Максимальное значение (max) Maximal data	36,4	57,1	113,5	202,5
Стандартное отклонение (σ) Standard deviation	2,98	5,42	11,15	16,2
Ошибка среднего (m_x) Mean error	0,35	0,64	1,31	1,9
Коэффициент вариации (CV %) Variation	11,5	13,8	13,2	10,0
Асимметрия (A) Skewness	0,71	0,68	0,56	0,64
Ошибка асимметрии (m_A) Skewness error	0,28	0,28	0,28	0,28
Оценка асимметрии ($T_A = A/m_A$) Skewness estimation	2,5	2,4	2	2,29
Экцесс (E) Kurtosis	0,79	0,23	-0,28	-0,58
Ошибка эксцесса (m_E) Kurtosis error	0,56	0,56	0,57	0,56
Оценка эксцесса ($t_E = E/m_E$) Kurtosis estimation	1,42	0,4	-0,5	-1,04
Критерий χ^2 Chi-square	4,6	15,9	8,17	17,3
Число степеней свободы Degrees of freedom	3	8	8	7
Стандартные значения χ^2 Standard chi-square values	7,8–11,3–18,5	15,5–20,1–26,1	15,5–20,1–26,1	14,1–18,5–24,3
Критерий λ (Колмогорова-Смирнова) Kolmogorov-Smirnov	0,42	0,50	0,46	0,99
Стандартные значения λ Standard λ values	1,36–1,63–1,95			
Точность опыта (P, %) Accuracy assessment	1,3	1,6	1,6	0,68

оценивать исследуемую совокупность в качестве выборки большого объема из некоей гипотетической генеральной совокупности и рассчитывать для ее выборочных средних весь набор оценочных статистических показателей.

Данные таблицы 2 свидетельствуют, что начиная с 5-летнего возраста для эмпирического распределения деревьев по высоте в целом по объекту свойственны левая положительная асимметрия и отрицательный эксцесс. Начиная с указанного возраста характер распределения существенно отклоняется от «нормального». На рис. 1 дано распределение общей совокупности деревьев на участке культур

по 10-см ступеням высоты за все годы наблюдений. С лесоводственно-биологической точки зрения здесь необходимо отметить ряд важных моментов. Известно, что в процессе роста культур происходит дифференциация растений по жизненному состоянию и размерам. С увеличением возраста кривая распределения как бы «растягивается». Примерно к 10-летнему рубежу завершается фаза индивидуального роста особей, образуется совокупность деревьев-лидеров. Именно они формируют растянутые правые «хвосты» кривых. В то же время, поскольку ставится задача сравнения испытываемых семей с контролем, сильно отставшие

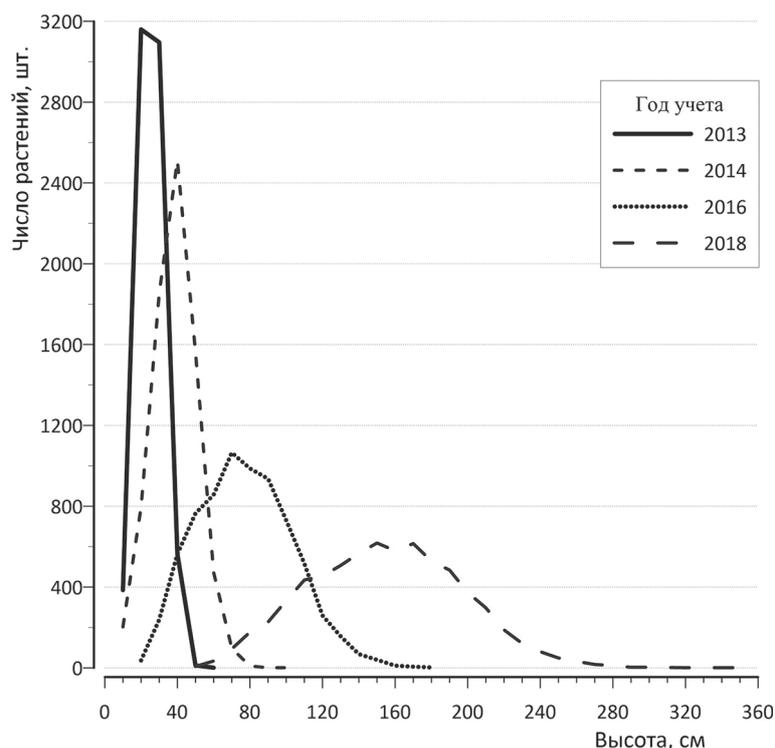


Рис. 1. Распределение саженцев сосны по 10-см ступеням высоты в целом по культурам

Fig. 1. Distribution pattern of pine saplings by 10-cm height grades

в росте и поврежденные особи исключаются из расчетов. По всей видимости, указанные моменты оказывают влияние на параметры кривой распределения. Можно заключить, что повышенный уровень вариабельности и высокие значения критерия χ^2 свидетельствуют в пользу внутренней разнородности исследуемой совокупности. Исходно нам известно, что она состоит из семей ПД, которые, как мы полагаем, различаются по своим генетическим задаткам.

Средние высоты, рассчитанные по семьям (см. табл. 3), представляют собой ряд частных средних, характеризующих набор выборок меньшего объема, извлеченных из исследуемой нами большой совокупности. Для них справедливы закономерности, которые достаточно хорошо известны. Общая средняя высота, вычисленная через ряд частных средних, оказалась на 1,6 % больше, чем вычисленная путем прямого деления суммы всех значений на число наблюдений. Коэффициент варьирования частных средних был в три раза меньше, чем аналогичный показатель для дат большой выборки. Несмотря на своеобразие графиков (рис. 2), их распределение соответствовало нормальному закону во все годы наблюдений и даже в тех случаях, когда для всей совокупности это условие не выполнялось. Следует за-

метить, что расчеты (в статье не приводятся), выполненные для варианта «контроль» и еще пяти семей, показали, что в пределах отдельно взятых малых выборок распределение высот также соответствовало нормальному закону.

Последнее положение дает основание для использования критерия достоверности разности выборочных средних Стьюдента (Tst) с целью оценки статистической достоверности различий испытываемых семей сосны обыкновенной по отношению к контролю (табл. 4).

Из таблицы 4 следует, что в 2014 г. 51 вариант (70,8 %) статистически превосходил контроль по высоте. В 2016 г. таковых было 41 (59,9%), а на момент последнего учета в 2018 г. – 36 (50,0 %). Вполне очевидна тенденция уменьшения разницы с контролем, характерная для большинства вариантов. В исследуемый период семьи всех семи элитных клонов отличались хорошим ростом и статистически достоверно превосходили контроль. Как уже отмечалось выше, данный набор ПД был сформирован по результатам селекционно-генетической оценки их клонов на ЛСП еще до момента создания участка ИК. Можно утверждать, что кандидаты в элиту подтвердили свой статус (табл. 5). Особо следует отметить ПД № 876, демонстрирующее редкое сочета-

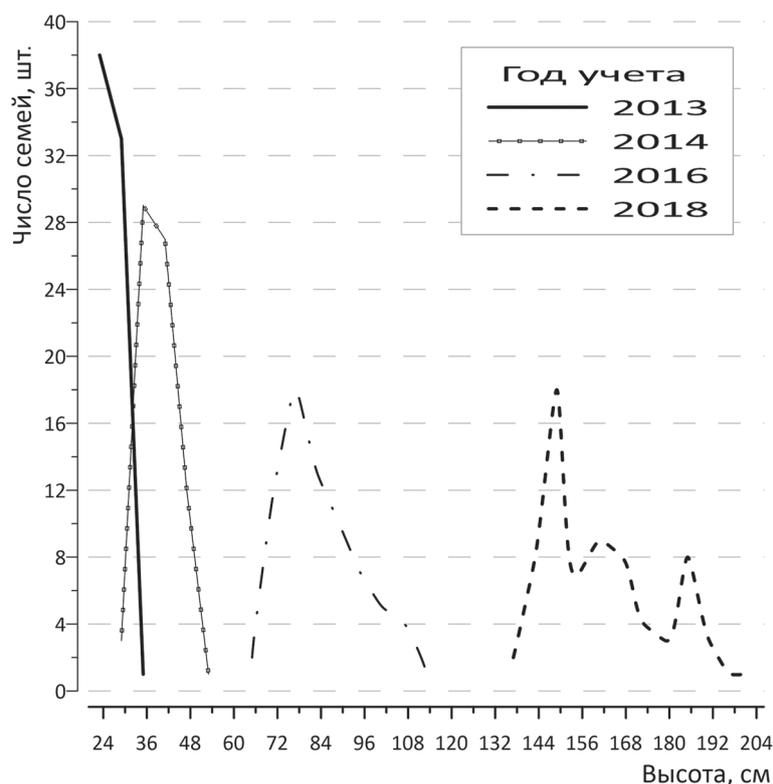


Рис. 2. Распределение посемейных частных средних по 6-см ступеням высоты

Fig. 2. Distribution pattern of progeny mean values by 6-cm height grade

ние гармоничного габитуса, высокой семенной продуктивности вегетативного потомства на ЛСП и выдающегося роста полусибсового потомства в испытательных культурах.

Отобранные 7 элитных клонов составили всего 10 % от числа вовлеченных в СГО. По результатам испытаний семенного потомства (см. табл. 4) еще как минимум 16 ПД могли бы рассматриваться в качестве кандидатов в элиту. К указанному числу отнесены варианты с величиной показателя $Tst \geq 4,1$ на год последнего учета. Однако, несмотря на успешный рост семенного потомства, 13 клонов были отбракованы по признакам малой средней высоты, габитуса (длинные и толстые ветви, приводящие к снеголому) и слабой семенной продуктивности. Параметры дополнительно отобранных трех ПД приведены в таблице 6.

Данные таблицы 6 со всей очевидностью свидетельствуют, что даже после строгого отбора участие таких клонов на ЛСП 1,5 порядка может привести к снижению ее семенной продуктивности, что, конечно же, нежелательно. В случае реализации описанного варианта отбора доля элитных ПД (клонов) составила бы 14 % от числа вовлеченных в селекционную оценку.

Однофакторный дисперсионный анализ выявил статистически достоверное влияние генетических особенностей материнских ПД (клонов) на различия в росте семенного потомства. Показатель силы влияния исследуемого фактора составил $h^2 = 0,12$ ($F = 13,8$ при $F_{st} = 1,3-1,4-1,6$). Статистически значимые корреляции признаков материнских клонов с параметрами полусибсовых потомств в 7-летних ИК отражены в таблице 7. Обращает на себя внимание слабая и умеренная связь такого параметра, как «число верхушечных почек на побеге текущего года» с рядом параметров, связанных с активностью вегетативного роста клонов. Корреляционный анализ в 3-летних культурах показал статистически достоверную связь числа верхушечных почек с высотой семьи ($r = 0,84$) и высотой материнского клона ($r = 0,33$). Несмотря на то что в возрасте 7 лет достоверной корреляции высоты материнского клона с числом почек у семенного потомства не установлено, связь этого показателя с посемейными высотами ($r = 0,31$) в культурах и данные таблицы 7 свидетельствуют, что она пока сохраняется. Также была обнаружена статистически значимая умеренная корреля-

Таблица 4. Распределение семей сосны обыкновенной по уровню достоверности различия с контролем в испытательных культурах

Table 4. Distribution of Scots pine families by level of differences significance with the control in test cultures

Показатели Parameters	Достоверность различия (Tst) * Statistical significance			
	2014 г.			
	< 2,0	2,0–4,0	4,1–6,0	6,1 и более 6,1 and more
	6, 12, 109, 157, 158, 361, 396, 448, 515, 573, 577, 654, 688, 780, 850, 853, 855, 861, 871, 1026, 1038	459, 504, 516** , 528, 578, 62, 63, 644, 651, 687, 795, 835 , 841, 849, 875	104, 32, 432, 513, 522, 645, 657, 809, 864	107, 110, 114, 156, 36, 37, 40, 437, 451, 50, 505, 508, 510, 512, 59, 60 , 656, 752, 804, 815, 829 , 856 , 865, 876 , 900, 956, 962
Среднее Average	0,5	3,3	5,3	9,0
Доля Proportion, %	29,2	20,8	12,5	37,5
Среднее превышение (ОКС)*** Average superiority (GCA), %	1,7	14,3	23,2	34,4
	2016 г.			
	6, 12, 36, 37, 104, 109, 157, 158, 361, 396, 432, 448, 515, 522, 528, 573, 577, 644, 654, 687, 688, 780, 795, 809, 850, 853, 855, 861, 871, 1026, 1038	110, 40, 459, 504, 835 , 508, 510, 516 , 578, 62, 63, 651, 657, 841, 849, 856 , 875, 156	32, 512, 513, 59, 645, 864	107, 114, 437, 451, 50, 505, 60 , 656, 752, 804, 815, 829 , 865, 876 , 900, 956, 962
Среднее Average	-0,1	3,1	4,7	8,1
Доля Proportion, %	43,1	25	8,3	23,6
Среднее значение по ОКС, % Average superiority (GCA), %	-0,5	13,5	21,3	32,4
	2018 г.			
	6, 12, 36, 37, 40, 104, 109, 157, 158, 361, 396, 432, 448, 510, 515, 522, 528, 573, 577, 644, 651, 654, 657, 687, 688, 780, 795, 809, 841, 850, 853, 855, 861, 871, 1026, 1038	110, 156, 459, 504, 508, 513, 516 , 578, 59, 62, 63, 645, 849, 835 , 856 , 875	32, 437, 451, 512, 60 , 829 , 864	107, 114, 50, 505, 656, 752, 804, 815, 865, 876 , 900, 956, 962
Среднее Average	-0,4	2,7	4,6	7,6
Доля Proportion, %	50	22,2	9,7	18,1
Среднее значение по ОКС, % Average superiority (GCA), %	-0,8	9,1	17,6	24,5

Примечание. *Tst = {2,0–2,6–3,3}. **Жирным шрифтом выделены варианты элитных клонов. ***Здесь и в табл. 5, 6 и 9: ОКС (GCA) – общая комбинационная способность (general combining ability).

Note. *Tst = {2,0–2,6–3,3}. **Numbers of elite clones are given in bold. ***Here and in tables 5, 6 and 9: OCK (GCA) – general combining ability.

ция между высотой материнских клонов и их семенного потомства. В период исследований отмечено усиление тесноты данной связи. Так, в 2014 г. коэффициент корреляции составил 0,28; в 2016 г. – 0,31; в 2018 г. – 0,33. Следует

отметить, что увеличение данного показателя происходило, как указано выше, на фоне уменьшающихся различий большинства вариантов с контролем. Имеющийся материал позволяет подойти к вопросу оценки наследуемости тако-

Таблица 5. Лучшие клоны сосны Петрозаводской ЛСП по параметрам их вегетативного и семенного потомства

Table 5. Best clones of Petrozavodsk seed orchard by grafted and half-sib progenies assessment

Клон Clone	Параметры вегетативного роста клона Clone vegetative growth, 2007 г.				Репродуктивный потенциал клона (среднее за 2007–2010 гг.) Reproductive activity (averaged by 2007–2010)					Рост семенного потомства Half-sib progeny, 2018 г.	
	высота, м height, m	диаметр, см diameter, cm	диаметр кроны, м diameter crown, m	диаметр сучьев, см diameter branch, cm	число полнозерн. семян в шишке, шт. Full seed number.	масса 1000 шт., г 1000 pcs weight, g	мужское цветение, балл microstobole, ball	женское цветение, балл macrostobole, ball	число полнозерн. семян на рамету, шт. Full seed number, pcs	высота, см height, cm	ОКС, % GCA, %
60	10	19,9	5,0	4,4	21	6,1	5	3,5	11361	170	12,9
835	10	20,7	5,8	4,1	15	3,6	4,9	3,7	8895	169	11,9
876	10,2	20,6	4,8	4,1	21	5,4	4	4,1	14154	198	31,3
864	10,3	20,4	5,6	4	20	5,1	4,1	3,7	11860	194	28,8
516	10,4	21,1	5,1	4	18	5	3,6	3,5	9738	157	4,5
856	10,6	21,4	6,4	4,3	18	5,3	3,9	3,6	10206	162	7,6
829	10,8	22,4	6,0	5,5	24	6,7	4,3	2,8	9480	174	15,8
Среднее Average	10,3	20,9	5,5	4,4	20	5,3	4,2	3,6	10813	175	16,1
Среднее по участку № 7 ЛСП Average by seed orchard field no. 7	9,6	20,4	5,4	4,3	16	5,8	3,9	3,4	8240	контроль control	
										151	0
Разница Difference, %	7,6	2,6	2,1	1,2	22,4	-8,6	8,5	4,5	31,2	16,0	

Таблица 6. Лучшие клоны сосны Петрозаводской ЛСП, дополнительно отобранные по результатам испытания их семенного потомства

Table 6. Best clones of Petrozavodsk seed orchard additionally selected by half-sib progenies assessment

Клон Clone	Параметры вегетативного роста клона Clone vegetative growth, 2007 г.				Репродуктивный потенциал клона (среднее за 2007–2010 гг.) Reproductive activity (averaged by 2007–2010)					Рост семенного потомства Half-sib progeny, 2018 г.	
	высота, м height, m	диаметр, см diameter, cm	диаметр кроны, м diameter crown, m	диаметр сучьев, см diameter branch, cm	число полнозерн. семян в шишке, шт. Full seed number.	масса 1000 шт., г 1000 pcs weight, g	мужское цветение, балл microstobole, ball	женское цветение, балл macrostobole, ball	число полнозерн. семян на рамету, шт. Full seed number, pcs	высота, см height, cm	ОКС, % GCA, %
107	9,8	20,1	5,6	4,4	13	5,4	3,7	3,3	6370	185	22,6
114	10,4	20,9	5,7	3,5	18	4,6	4,5	2,7	6696	187	24,2
962	9,3	20,5	4,9	6,7	16	5,8	4,2	3,0	7072	180	19,5
Среднее Average	9,8	20,5	5,4	4,7	16	5,3	4,1	3,0	6713	184	22,1
Среднее по участку № 7 ЛСП Average by seed orchard field no. 7	9,6	20,4	5,4	4,3	16	5,8	3,9	3,4	8240	контроль control	
										151	0
Разница Difference, %	-2,1	0,5	0,0	9,3	0,0	-8,6	5,1	-11,8	-18,5	21,9	

Таблица 7. Корреляция параметров вегетативного потомства (клонов) плюсовых деревьев сосны обыкновенной на ЛСП I порядка с показателями роста и развития их полусибсового потомства в 7-летних испытательных культурах Маньга*

Table 7. Growth parameters correlation of grafted progenies in seed orchards and half-sib families in 7-year Manga progeny trial

Признаки клонов (ЛСП) Clones (seed orchard)	Признаки семенного потомства (ИК) Half-sib families (progeny trial)	Коэффициент корреляции Correlation
Сбег ствола Stem tapering	Число верхушечных почек на побеге текущего года Apical buds number	0,40**
Высота ствола Stem height	Высота ствола Stem height	0,33*
	Прирост текущего года в высоту Height increment	0,36**
Диаметр ствола Stem diameter	Число верхушечных почек на побеге текущего года Apical buds number	0,28*
Диаметр кроны Crone diameter	Число верхушечных почек на побеге текущего года Apical buds number	0,28*
Обилие микростробиллов Microstrobile abundance	Число верхушечных почек на побеге текущего года Apical buds number	0,27*

Примечание / Note. *P = 0,05; n = 59, r_{crit} = 0,25. **P = 0,01; n = 59, r_{crit} = 0,34.

Таблица 8. Корреляция параметров вегетативного потомства (клонов) плюсовых деревьев сосны обыкновенной на ЛСП I порядка с показателями роста и развития полусибсового потомства плюсовых деревьев в испытательных культурах Чепика*

Table 8. Growth parameters correlation of grafted progenies in seed orchards and half-sib families in the Chepica progeny trial

Признаки клонов (ЛСП) Clones (seed orchard)	Признаки семенного потомства (ИК) Half-sib families (progeny trial)	Коэффициент корреляции Correlation
Сбег ствола Stem tapering	Высота ствола Stem height	-0,34*
Форма кроны Crone form	Высота ствола Stem height	0,34*
	Диаметр ствола Stem diameter	0,33*
Высота ствола Stem height	Высота ствола Stem height	0,37*
Многоствольность Multistem fault	Стройность ствола Stem straightness	0,36*
	Многоствольность Multistem fault	0,36*
Тип корки Bark type	Стройность ствола Stem straightness	0,33*
	Число полнозернистых семян на рамету Full seed number per ramet	0,36*
Толщина ветвей Branch thickness	Многоствольность Multistem fault	-0,33*

Примечание / Note. *P = 0,05; n = 43, r_{crit} = 0,29

го важнейшего показателя, как быстрота роста у сосны обыкновенной. Как известно, коэффициент наследуемости в узком смысле представляет собой отношение аддитивной компоненты генотипической вариации к общей фенотипической ($h^2 = \sigma_A^2 / \sigma_{ph}^2$). Данный показатель может быть рассчитан рядом способов, в т. ч. как равный удвоенному коэффициенту корреляции по выбранному признаку в системе «родители – потомки» [Котов, Лебедева, 1977]. В соответствии с данным методическим подходом иско-

мая величина (h^2) составила: в 2014 г. – 0,56; в 2016 г. – 0,62; в 2018 г. – 0,66.

В таблице 8 представлены статистически достоверные коэффициенты корреляции параметров клоновых и полусибсовых потомств плюсовых деревьев (культуры Чепика). При этом необходимо учесть, что для данного опыта семенные потомства выращены из семян, собранных не с клонов на ЛСП, а непосредственно с самих ПД в насаждениях. Данные таблицы свидетельствуют о наследовании такого

Таблица 9. Лучшие плюсовые деревья (клоны), отобранные по результатам роста полусибсового потомства в испытательных культурах Чепика

Table 9. Best plus trees (clones) selected according to half-sib progeny estimations in the Chepica progeny trial

№ п/п N	№ ПД Plus tree ID	Параметры вегетативного роста клона, 2017 г. Clone vegetative growth, 2017				ОКС полусибсов Half-sib families GCA, %			Средние репродуктивные параметры клонов на ЛСП Reproductive activity of clones in seed orchard (2017–2019 гг.)			
		высота, м height, m	диаметр ствола, см stem diameter, cm	диаметр кроны, см crown diameter, cm	диаметр сучьев, см branch diameter, cm	высота height	диаметр diameter	объем ствола stem volume	микростробилы, балл microstrobile, ball	макростробилы, балл macrostrobile, ball	обилие шишек, балл cone abundance, ball	число полнозернистых семян на раму, шт. full seed number per ramet, pcs
1	158	13,0	26,3	6,9	2,7	5,0	5,9	11,4	3,2	3,7	3,4	9488
2	329	11,9	25,0	7,0	4,4	12,0	12,9	28,2	3,9	3,3	3	7840
3	371	10,9	23,1	7,1	4,9	28,4	30,0	71,9	4,8	4,5	4,1	12592
4	853	14,1	25,7	6,0	4,4	10,7	12,2	25,1	4,5	3,4	3,1	8240
5	955	15	26,1	6,1	3,6	9,1	9,5	21,3	4,1	3,7	3,4	9488
6	1024	13,2	26,1	7,2	4	24	24,6	60,8	3,8	4	3,6	10336
7	1025	13	28,2	7,2	4	15,1	18,9	36,2	2,8	3,5	3,2	8656
8	1026	11,7	21,5	10,7	5,0	24,9	27,3	62,8	3,2	3,2	2,9	7456
9	1042	13,4	23,2	5,9	2,5	14,1	14,8	33,5	3,6	4,3	3,9	11680
10	1231	14,1	27,6	7,7	4,7	19,1	20,1	47,1	4,6	4,4	4	12128
Среднее Average		13,0	25,3	7,2	4,0	16,2	17,6	39,8	3,9	3,8	3,5	9790
Среднее по всем клонам (51 шт.) Average of all clones (51 sp.)		13,3	25,0	6,9	4,0	-	-	-	3,7	4,0	3,6	10336
Разница, % Difference, %		-2,0	1,1	4,1	0,5	-	-	-	4,1	-5,0	-3,9	-5,3

важного признака, как скорость роста, а также склонности к раздвоению ствола и многостволости.

Подробно результаты исследований, проведенных в 30-летних испытательных культурах, освещены ранее [Раевский и др., 2018]. Анализ таксационных параметров лучших делянок испытательных культур в 30-летнем возрасте показал, что из 107 потомств плюсовых деревьев сосны 17 (15,9 %) имели статистически достоверное преимущество по показателям роста относительно общей средней величины для всех остальных вариантов делянки. Однако 7 потомств из этого набора были отбракованы именно по причине плохой формы ствола. Данные по 10 лучшим ПД, которые по результатам испытаний могут быть отнесены к категории «элитные», представлены в таблице 9. Исходя из данных таблицы можно заключить, что в случае формирования из этих клонов плантации I,5 порядка ее габитуальные и репродуктивные характеристики не изменятся существенным образом по сравнению с ЛСП I порядка.

В результате сравнительного анализа состава испытываемых плюсовых деревьев на обследованных участках ИК было выявлено, что одновременно в двух опытах представлено 21 ПД. Как уже отмечалось ранее, в культурах Маньга это были семенные потомства клонов ПД, произрастающих на ЛСП, а в культурах Чепика – потомства непосредственно самих ПД. Исследования показали, что в данном наборе не нашлось ни одного варианта, который был бы отнесен к числу лучших (достоверно превосходящих контроль) одновременно в обоих опытах.

Как известно, селекция сосны обыкновенной ведется в первую очередь на быстроту роста. Выявленные закономерности подтверждают перспективность такого подхода. Однако во внимание должны быть приняты ряд важных аспектов. Предшествующими исследованиями [Раевский, 2015] показано отсутствие значимой корреляции между ростовыми параметрами (высотой, диаметром и т. д.) самого ПД в насаждении (*in situ*) и его клонового потомства.

ва на ЛСП (*ex situ*). В природной среде многие наследственно обусловленные габитуальные характеристики особи остаются скрытыми. Поэтому оценка наследуемости должна осуществляться именно в системе: клоны на ЛСП – семенное потомство в ИК, и никак иначе. Была также выявлена умеренная достоверная отрицательная корреляция между высотой клона и обилием макростробилов. Следовательно, одной из важнейших задач в селекции сосны обыкновенной будет не допустить снижения урожайности ЛСП 1,5 порядка. Решение ее возможно только путем поиска уникальных генотипов, сочетающих задатки быстрого роста, гармоничного габитуса и высокой семенной продуктивности.

На ЛСП I число клонов должно быть не меньше 50, тогда как на ЛСП повышенной генетической ценности их число не регламентируется [Указания..., 2000]. В селекционных программах сосны в Финляндии и Швеции рекомендуется включать в ЛСП последующих порядков примерно 20 клонов [Nikkanen, Antola, 1998; Lindgren, Prescher, 2005]. Таким образом, чтобы при интенсивности отбора, равной 10–15 %, сформировать минимально необходимый набор ПД для создания ЛСП повышенной генетической ценности, необходимо провести комплексную селекционно-генетическую оценку примерно 150 клонов сосны, уже произрастающих на ЛСП I порядка. В нашем случае такой набор был сформирован по результатам СГО 123 клонов, при этом 10 кандидатов в элиту были отобраны в культурах Маньга и столько же в культурах Чепика.

Заключение

Обобщая имеющуюся информацию в той области знаний, которой посвящена данная статья, следует отметить следующее.

Неразвитость сети испытательных культур в системе единого генетико-селекционного комплекса РФ в ближайшей перспективе будет выступать серьезным ограничителем его дальнейшего развития, в частности, в аспекте создания ЛСП повышенной генетической ценности.

Очевидно, что в нормативные документы, определяющие порядок селекционно-генетической оценки плюсовых деревьев хвойных пород, в частности сосны обыкновенной, должны быть внесены серьезные изменения, касающиеся методики и сроков испытаний.

Результаты исследований, изложенные в настоящей статье, свидетельствуют в пользу того, что надежные предварительные оценки

полусибсовых потомств могут быть получены в испытательных культурах начиная с 7-летнего возраста, при общем сроке испытаний, не превышающем 25–30 лет.

Оценки успешности роста семенного потомства плюсовых деревьев в испытательных культурах в обязательном порядке следует дополнять оценками особенностей габитуса и репродуктивного потенциала вегетативного потомства этих деревьев на лесосеменных плантациях. Только в этом случае селекционно-генетическую оценку можно считать завершенной. Принципиально важно осуществлять селекционно-генетическую оценку плюсовых деревьев именно в системе: клоновые ЛСП (вегетативное потомство) – испытательные культуры (полусибсовое и полносибсовое потомство).

Необходимо безотлагательно приступить к созданию ЛСП 1,5 порядка, базируясь на данных, уже полученных в существующих испытательных культурах и лесосеменных плантациях.

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

Литература

- Ивантер Э. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию. Учебное пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 304 с.
- Котов М. М., Лебедева Э. П. Применение биометрических методов в лесной селекции. Горький: ГГУ, 1977. 119 с.
- Лесосеменное районирование основных лесобразующих пород в СССР. М.: Лесн. пром-ть, 1982. 368 с.
- Маслаков Е. Л. Формирование сосновых молодых. М.: Лесн. пром-ть, 1984. 168 с.
- Плюхинский Н. А. Биометрия. М.: Высш. школа, 1970. 343 с.
- Раевский Б. В. Селекция и семеноводство сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и сосны скрученной (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud. var. *latifolia* Engelm) на северо-западе таежной зоны России: автореф. дис. ... докт. с.-х. наук. Петрозаводск, 2015. 43 с.
- Раевский Б. В., Мордась А. А. Селекционно-генетическая оценка клонов сосны обыкновенной на лесосеменных плантациях первого порядка. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2006. 90 с.
- 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. № 224. С. 6–20.
- Раевский Б. В., Щурова М. Л. Методика селекционно-генетической оценки клонов сосны обыкновенной

венной на лесосеменных плантациях // Сибирский лесной журнал. 2016. № 5. С. 91–98.

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

Федорков А. Л., Туркин А. А. Возраст оценки потомств в испытательных культурах плюсовых деревьев сосны // Вестник ИБ Коми НЦ УрО РАН. 2005. № 4. С. 19–20.

Danell O. Possible gains in initial stages of a national tree improvement programme using different techniques // Proceed. from the Nordic tree breeders meeting. Denmark, 1990. P. 11–30.

Danell O. Tree breeding strategy: are we too concerned conservationists but inefficient breeders? // Progeny testing and breeding strategies, Proc. from a Meeting with the Nordic Group for Tree Breeding, Oct. 1993. Forestry Commission, Ediburg. P. 80–94.

Haapanen M. Evaluation of options for use in efficient genetic field testing of *Pinus sylvestris* (L.) // Finnish Forest Research Institute, Research Papers 826. 2002. 144 p.

Haapanen M. Forest Tree Breeding 2050 – Finland's New Tree Breeding Plan // Status, monitoring and tar-

gets for breeding programs: Proceed. Meeting of Nordic Tree Breeders and Forest Geneticists (Syktyvkar, Komi Republic, Russia, September 13–15, 2005). Syktyvkar, 2005. P. 102–103

Jansons A. Scots Pine breeding strategy in Latvia // Status, monitoring and targets for breeding programs: Proceed. Meeting of Nordic Tree Breeders and Forest Geneticists (Syktyvkar, Komi Republic, Russia, September 13–15, 2005). Syktyvkar, 2005. P. 104–105.

Lindgren D. Prediction and optimization of genetic gain with regard to genotype x environment interactions // Studia Forestalia Suecica. 1984. Vol. 166. P. 15–24.

Lindgren D., Prescher F. Clone number for seed orchards with tested clones // Silvae Genetica. 2005. No. 54. P. 80–92.

Nikkanen T., Antola J. Principles of establishment of elite seed orchards in Scots pine // Metsätieteen aikakauskirja. 1998. No. 3. P. 421–428. (In Finnish).

Squillace A. E., Gansel Ch. R. Juvenile: Mature correlations in Slash Pine // Forest Sci. 1974. Vol. 20, no. 30. P. 225–229.

Поступила в редакцию 18.11.2019

References

Fedorov A. L., Turkin A. A. Vozrast otsenki potomstv v ispytatel'nykh kul'turakh plyusovykh derev'ev sosny [The age of estimation of Scots pine families in progeny trials]. Vestnik IB Komi NTs UrO RAN [Proceed. Komi SC UrB RAS]. 2005. Vol. 4. P. 19–20.

Ivanter E. V., Korosov A. V. Vvedenie v kolichestvennyu biologiyu: Uch. posobie [Introduction to quantitative biology: a study guide]. Petrozavodsk: PetrGU, 2003. 304 p.

Kotov M. M., Lebedeva E. P. Primenenie biometricheskikh metodov v lesnoi selektsii [Application of statistical methods in forest tree breeding]. Gor'kii: GGU, 1977. 119 p.

Lesosemennoe raionirovanie osnovnykh lesoobrazuyushchikh porod v SSSR [Forest seed zoning for the main forests species in the USSR]. Moscow: Lesn. prom-t', 1982. 368 p.

Maslakov E. L. Formirovanie sosnovykh molodnyakov [The growth and development of young pine stands]. Moscow: Lesn. prom-t', 1984. 168 p.

Plokhinskii N. A. Biometriya [Biometry]. Moscow: Vyssh. shkola, 1970. 343 p.

Raevsky B. V. Seleksiya i semenovodstvo sosny obyknovennoi (*Pinus sylvestris* L.) i sosny skruchennoi (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud. var. *latifolia* Engelm) na severo-zapade taezhnoi zony Rossii [Breeding of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and lodgepole pine (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud. var. *latifolia* Engelm) in the North-West of Russia]: Dsc (Dr. of Agr.) thesis. Petrozavodsk, 2015. 43 p.

Raevsky B. V., Mordas' A. A. Seleksionno-geneticheskaya otsenka klonov sosny obyknovennoi na lesosemennyykh plantatsiyakh pervogo poryadka [Genetic and breeding assessment of Scots pine clones in seed orchards of the I generation]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2006. 90 p.

Raevsky B. V., Schurova M. L., Chepik F. A. Nekotorye rezul'taty seleksionno-geneticheskoi otsenki plyu-

sovykh derev'ev sosny obyknovennoi 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. [Proceed. St. Petersburg St. Forest Technical Acad.]. 2018. Vol. 224. P. 6–20.

Raevsky B. V., Schurova M. L. Metodika seleksionno-geneticheskoi otsenki klonov sosny obyknovennoi na lesosemennyykh plantatsiyakh [Method of genetic and breeding assessment of Scots pine clones in seed orchards]. Sibirskii lesnoi zhurnal [Siberian J. Forest Sci.]. 2016. No. 5. P. 91–98.

Ukazaniya po lesnomu semenovodstvu v Rossiiskoi Federatsii [Guidelines for forest tree breeding in the Russian Federation]. Moscow, 2000. 197 p.

Danell O. Possible gains in initial stages of a national tree improvement programme using different techniques. Proceed. from the Nordic tree breeders meeting. Denmark, 1990. P. 11–30.

Danell O. Tree breeding strategy: are we too concerned conservationists but inefficient breeders? Progeny testing and breeding strategies, Proc. from a Meeting with the Nordic Group for Tree Breeding, October 1993. Forestry Commission, Ediburg. P. 80–94.

Haapanen M. Evaluation of options for use in efficient genetic field testing of *Pinus sylvestris* (L.). Finnish Forest Research Institute, Research Papers, 826. 2002. 144 p.

Haapanen M. Forest Tree Breeding 2050 – Finland's New Tree Breeding Plan. Status, monitoring and targets for breeding programs: Proceed. Meeting of Nordic Tree Breeders and Forest Geneticists (Syktyvkar, Komi Republic, Russia, September 13–15, 2005). Syktyvkar, 2005. P. 102–103.

Jansons A. Scots Pine breeding strategy in Latvia. Status, monitoring and targets for breeding programs: Proceed. Meeting of Nordic Tree Breeders and Forest

Geneticists (Syktyvkar, Komi Republic, Russia, September 13–15, 2005). Syktyvkar, 2005. P. 104–105.

Lindgren D. Prediction and optimization of genetic gain with regard to genotype x environment interactions. *Studia Forestalia Suecica*. 1984. Vol. 166. P. 15–24.

Lindgren D., Prescher F. Clone number for seed orchards with tested clones *Silvae Genetica*. 2005. No. 54. P. 80–92.

Nikkanen T., Antola J. Principles of establishment of elite seed orchards in Scots pine. *Metsätieteen aikakauskirja*. 1998. No. 3. P. 421–428. (In Finnish).

Squillace A. E., Gansel Ch. R. Juvenile: Mature correlations in Slash Pine. *Forest Sci.* 1974. Vol. 20, no. 3. P. 225–229.

Received November 18, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Раевский Борис Владимирович

ведущий научный сотрудник лаб. лесных биотехнологий,
д. с.-х. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: borisraevsky@gmail.com
тел.: 89114014890

Куклина Кира Константиновна

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

Щурова Марина Львовна

инженер
Карельская лесосеменная станция – отдел
Центра защиты леса Ленинградской области
Южная промзона, а/я 392, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185035
эл. почта: czlspb.rk@rambler.ru

CONTRIBUTORS:

Raevsky, Boris

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

Kuklina, Kira

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

Schurova, Marina

Branch Office of Leningrad Forest Protection Centre,
“Karelian Tree Seed Station”
POB 392, Yuzhnaya Promzona, 185035 Petrozavodsk, Karelia,
Russia
e-mail: czlspb.rk@rambler.ru

УДК 581.1

РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА КРАТКОВРЕМЕННЫЕ ЕЖЕСУТОЧНЫЕ ПОНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ В РАЗНОЕ ВРЕМЯ ДНЯ И НОЧИ

Т. Г. Шibaева, Е. Г. Шерудило, А. Ф. Титов

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

Ежесуточные кратковременные понижения температуры (дроп-воздействия, от англ. *drop* – падение) в конце ночи или в начале дня применяются в растениеводстве с целью торможения роста растений для получения компактной рассады овощных и клумбовых растений, а также при выращивании цветочных растений, как альтернатива использованию ретардантов. В данной работе изучено влияние друп-воздействий, осуществляемых в разное время суток, на рост, фотосинтетическую активность и холодоустойчивость растений. Растения огурца (*Cucumis sativus* L.) и томата (*Solanum lycopersicum* L.) выращивали в камере искусственного климата при температуре воздуха 23 °С, фотосинтетически активной радиации (ФАР) 200 мкмоль/(м²·с), фотопериоде 12 ч. Начиная с 7-х (для огурца) или 14-х (для томата) суток от момента замачивания семян растения в течение 6 сут подвергали 2-часовому воздействию температуры 10 °С в начале, середине или в конце ночного периода, а также в начале, середине или в конце дневного периода. Показано, что друп-воздействия эффективны в отношении торможения линейного роста растений независимо от времени их применения в суточном цикле. Оптимальное время для друп-воздействий с целью получения компактных растений может не совпадать с периодами наибольшей скорости роста стебля, т. к. друп-воздействия сами по себе способны модифицировать суточную ритмику роста растений. Наличие или отсутствие света в период друп-воздействий оказывает намного более сильное влияние на ответную реакцию растений, чем суточная ритмика чувствительности растений к охлаждению. Полученные данные подтверждают наличие в реакции растений на друп-воздействия хорошо выраженной видоспецифичности.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; *Solanum lycopersicum* L.; низкая температура; суточная динамика роста; холодоустойчивость.

T. G. Shibaeva, E. G. Sherudilo, A. F. Titov. PLANT RESPONSES TO A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP AT DIFFERENT TIMES OF DAY AND NIGHT

A daily short-term temperature drop in the end of the night or in the morning is commonly used in greenhouse production of transplants of a number of vegetable and bedding plants and ornamental plants for plant height control as an alternative to chemical growth retardants. The aim of this work was to quantify the effects of a temperature drop at different times of the day and night on growth, photosynthetic activity and chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. Plants were grown under air temperature of 23 °C, a photoperiod of 12 h under controlled environmental conditions in growth chambers with a photosynthetic photon flux density of 200 μmol m⁻² s⁻¹. Starting from the 7th (for cucumber) or 14th (for tomato) day from

seed soaking, plants were on each of the following 6 days exposed to a temperature of 10 °C for 2 h at the beginning, in the middle and in the end of the night and at the beginning, in the middle and in the end of the day. The results show that temperature drop treatments retard the linear growth of the plants regardless of their timing in the daily cycle. The optimal time for temperature drop treatments in order to obtain compact plants may not coincide with the periods of the highest growth rate of the stem as a temperature drop itself is capable of modifying the course of plant growth in the daily cycle. Light conditions during the chilling treatment (light or darkness) rather than diurnal variation of plant sensitivity to chilling are responsible for plant response to temperature drop treatments. The resultant data confirm the presence of a well-pronounced species specificity in plant responses to a daily short-term temperature drop.

Keywords: *Cucumis sativus* L.; *Solanum lycopersicum* L.; low temperature; daily growth dynamics; chilling tolerance.

Введение

Одним из способов управления ростом растений с целью получения более компактных размеров является применение ретардантов. Однако во многих странах их использование при выращивании овощных культур запрещено из-за потенциальной опасности для здоровья человека и окружающей среды. В то же время уже давно известно, что рост растений в высоту можно тормозить не только с помощью ретардантов, но и путем изменения температуры в суточном цикле [Мое, Heins, 1990]. Ежесуточные кратковременные понижения температуры (дроп-воздействия, от англ. *drop* – падение) применяются как агротехнический прием под названием «temperature drop» (в Европе) и «temperature dip» или «cool morning pulse» (в США) для получения компактной рассады овощных и клумбовых растений, а также при выращивании цветочных растений [Myster, Мое, 1995; Berghage, 1998; Runcle, 2009]. В ряде экспериментов было показано, что время суток, когда происходит снижение температуры, оказывает вполне определенное влияние на степень торможения роста растений в высоту. Так, в первых работах на лилии (*Lilium longiflorum* Wiebe), бегонии (*Begonia* × *hiemalis* Everett) и томате (*Solanum lycopersicum* L.) было показано, что наиболее эффективным является снижение температуры в начале светового периода [Myster, Мое, 1995]. Позднее установлено, что друп-воздействия в конце ночного периода даже в большей степени тормозят рост растений в высоту у бегонии [Мое, Mortensen, 1992; Grindal, Мое, 1994, 1995; Bakken, Мое, 1995], пуансеттии (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) [Мое et al., 1992], томата и огурца (*Cucumis sativus* L.) [Grimstad, 1995].

С точки зрения практического применения это оказалось очень удобно, так как снижать температуру в конце ночного периода экономически более выгодно (менее энергозатратно),

чем в начале дня, особенно если утром включаются лампы досвечивания. В прохладное время снижение температуры на 5–15 °C в конце ночи легко осуществляется без излишних затрат за счет вентилирования, а затем утром, после закрытия форточек и включения ламп происходит нагрев воздуха до нужной температуры. Однако имеется крайне мало сведений о влиянии друп-воздействий на рост растений в другое время суток (кроме конца ночи и начала дня). Есть лишь данные о том, что друп-воздействия в середине ночи оказывали крайне незначительное влияние на высоту растений и длину черешков у пуансеттии [Мое et al., 1992] и бегонии [Мое, Mortensen, 1992; Grindal, Мое, 1994]. В наших работах ранее показано, что друп-воздействия в начале, середине и конце ночи одинаково эффективно уменьшают высоту растений и длину черешков у огурца [Sysoeva et al., 1997, 1999]. Что касается морфогенетического эффекта друп-воздействий в течение светового периода, то имеются только единичные данные о том, что для пуансеттии [Ueber, Hendriks, 1992] и пеларгонии (*Pelargonium* × *hortorum* L. H. Bailey) [Ueber, Hendriks, 1995] друп-воздействия в начале дня намного эффективнее, чем затем в течение дня, а для фуксии (*Fuchsia* × *hybrida*), львиного зева (*Antirrhinum majus* L.), петунии (*Petunia*) и шалфея (*Salvia splendens* Sellow ex Schult.) друп-воздействия в любое время светового периода были примерно одинаково эффективны, как и друп-воздействия в начале дня [Erwin, Heins, 1995]. Влияние друп-воздействий, осуществляемых в разное время суток, на другие показатели (помимо линейного роста) еще менее изучено и полученные данные носят фрагментарный и неоднозначный характер. Например, установлено, что друп-воздействия приводят к снижению биомассы растений у огурца и томата, но у огурца этот эффект был сильнее в конце ночи, а у томата в начале дня [Grimstad, 1995]. Растения бегонии под влия-

нием дроп-воздействий в конце ночи или утром накапливали меньшую биомассу по сравнению с контрольными, но дроп-воздействия в начале ночи увеличивали биомассу опытных растений. При этом дроп-воздействия в ночной период увеличивали долю сухой массы листьев, а при снижении температуры утром это не происходило [Bakken, Мое, 1995]. О влиянии дроп-воздействий на содержание хлорофилла имеются лишь единичные данные. В экспериментах с базиликом (*Ocimum basilicum* L.) отмечена тенденция снижения содержания хлорофилла, если дроп-воздействия осуществлялись в начале и в конце дня, а у холодостойкой фиалки (*Viola × wittrockiana* Gams) дроп-воздействия в первые утренние часы приводили к увеличению содержания в листьях хлорофилла, а в конце дня – к его снижению [Vågen et al., 2003].

Существование суточной ритмики в чувствительности растений к холоду показано в целом ряде работ на теплолюбивых видах – бегонии [Grindal, Мое, 1994], пуансеттии [Мое et al., 1992], лилии [Erwin, 1991], огурце [King et al., 1982; Alscher et al., 1988; Rietze, Wiebe, 1989; Grimstad, 1993], томате [King et al., 1982; Alscher et al., 1988; Grimstad, 1993], сладком перце (*Capsicum annuum* L.) [King et al., 1982; Alscher et al., 1988], фасоле (*Phaseolus vulgaris* L.) [King et al., 1982; Alscher et al., 1988], маше (*Phaseolus aureus* Roxb.), космее (*Cosmos bipinnatus* Cav.), баклажане (*Solanum melongena* L.), кукурузе (*Zea mays* L.) [King et al., 1982]. Все изученные виды оказались наиболее чувствительны к охлаждению, когда подвергались ему в самом конце ночи или в начале дня. Одни авторы [King et al., 1982, 1988; Kerdnaimongkol et al., 1997] считают, что суточный ритм чувствительности не эндогенный, а определяется режимом свет/темнота, другие же [Alscher et al., 1988; Rietze, Wiebe, 1989] полагают, что данный ритм находится под эндогенным контролем, но синхронизируется циклом свет/темнота. В целом же из-за фрагментарности и неоднозначности имеющихся в литературе сведений по этому вопросу трудно прийти к каким-то определенным выводам.

Исходя из вышеизложенного, цель данной работы заключалась в изучении влияния дроп-воздействий, осуществляемых в разное время суток (начало, середина и конец ночного и светового периодов), на рост, фотосинтетическую активность и холодоустойчивость растений огурца и томата.

Материалы и методы

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Зозуля F1) и томата (*Solanum lycopersicum* L.,

гибрид Верлиока F1) выращивали в камере искусственного климата (Vötsch, Германия) методом песчаной проливной культуры при поливе полным питательным раствором (рН 6,2–6,4), температуре воздуха 23 °С, фотосинтетически активной радиации (ФАР) 200 мкмоль/(м²·с), фотопериоде 12 ч, влажности воздуха 70 %.

Начиная с 7-х (для огурца) или 14-х (для томата) суток от момента замачивания семян (начало роста первого настоящего листа) растения в течение 6 суток подвергали 2-часовому действию температуры 10 °С в начале, середине или в конце ночного периода (варианты НН, СН, КН), а также в начале, середине или в конце дневного периода (варианты НД, СД, КД). Контролем служили растения, не подвергавшиеся дроп-воздействиям. По окончании дроп-воздействий растения всех вариантов переносили в оптимальные температурные условия (23 °С). Все измерения проводили через сутки после завершения дроп-воздействий. Определяли высоту растений, длину черешков листьев, площадь и число листьев (достигших длины 10 мм и более), сухую биомассу листьев, стеблей и корней. Общее содержание хлорофиллов *a* и *b* определяли с помощью измерителя уровня хлорофилла SPAD 502 Plus (Konica Minolta, Osaka, Япония). Для измерения флуоресценции хлорофилла использовали анализатор фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением (MINI-PAM, Walz, Германия). Определяли потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) после 20-минутной темновой адаптации листьев [Maxwell, Johnson, 2000]. Измерения проводили через 2 ч после начала светового периода.

Проницаемость мембран оценивали по относительному выходу электролитов (ОВЭ) из тканей листа [Нерburn et al., 1986]. Для этого по 10 высечек из листьев диаметром 4 мм промывали дистиллированной водой для удаления клеточного сока со срезов, обсушивали фильтровальной бумагой и заливали 10 мл дистиллированной воды. Электропроводность раствора (E1) определяли после 1,5 ч экспозиции пробирок с высечками на шейкере при комнатной температуре (23 °С) с помощью кондуктометра «Эксперт-002» с датчиком для микрообъемов УЭП-П-С («Эконикс-Эксперт», Россия). Затем пробирки с растительным материалом доводили до кипения, остужали до комнатной температуры и определяли полный выход электролитов (E2) по электропроводности раствора после разрушения мембраны кипячением. ОВЭ рассчитывали в процентах от полного по формуле:

$$\text{ОВЭ} = 100 \times E1/E2.$$

О холодоустойчивости клеток листа судили по температуре (LT_{50}), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток листовых высечек после их краткосрочного (5 мин) промораживания в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/-20 («Интерм», Россия) при последовательном понижении тестирующей температуры с шагом 0,4 °С [Дроздов и др., 1976]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) по коагуляции цитоплазмы и деструкции хлоропластов.

В статье представлены средние значения по двум независимым опытам (5 и более биологических повторностей в каждом варианте отдельного опыта) и их стандартные ошибки. Достоверность различий между средними значениями определяли на основе дисперсионного анализа (Bonferroni тест) ($p < 0,05$).

Результаты

Полученные результаты показали, что во всех вариантах опыта под влиянием дроб-воздействий происходило торможение роста растений в высоту – на 14–16 % у растений огурца и на 10–69 % у томата (табл., рис. 1 и 2). Длина черешков у всех растений, подвергавшихся дроб-воздействиям, была меньше, чем в контроле, – на 20–47 % у огурца и на 17–25 % у томата. Наибольшее торможение линейного роста стебля у томата и черешков листьев у огурца отмечено в вариантах с применением дроб-воздействий в дневное время.

Площадь листьев во всех вариантах с дроб-воздействиями была меньше по сравнению с контролем. Так, при дроб-воздействиях в дневное время площадь листьев у огурца и томата снижалась соответственно на 47–49 и 21–23 %, а при дроб-воздействиях в ночное время – на 25–29 и 8–16 %. При этом достоверных различий между разными вариантами дроб-воздействий в течение светового или темного периода (в начале, середине или конце) не обнаружено (табл.).

Аналогичная закономерность отмечена в отношении данных по сухой массе растений огурца. При применении дроб-воздействий в дневное время сухая масса была меньше, чем в контроле, на 51–53 %, в ночное время – на 21–30 % (табл.). При этом дроб-воздействия не оказывали влияния на распределение биомассы в целом растении (данные не приводятся). У томата достоверных различий по биомассе растений не выявлено.

Содержание хлорофилла в листьях растений, подвергавшихся дроб-воздействиям, не отличалось от контроля. Исключение составлял вариант с применением дроб-воздействий в начале дня, когда отмечено снижение содержания хлорофилла в листьях огурца (табл., рис. 2).

Значения F_v/F_m в вариантах с дроб-воздействиями в ночное время достоверно не отличались от контрольных у растений огурца и томата, а в вариантах с применением дроб-воздействий в дневное время были значительно ниже (табл.).

Выход электролитов из тканей листа у растений огурца и томата, подвергавшихся дроб-воздействиям, был ниже, чем в контроле, в двух вариантах – дроб в конце дня и дроб в начале ночи (табл.). Во всех других вариантах время суток, когда осуществлялись дроб-воздействия, не оказывало влияния на степень проницаемости мембран клеток листьев.

Реакция клеток листьев огурца на 5-минутное промораживание в вариантах с дроб-воздействиями в разное время суток не отличалась (табл.). Прирост холодоустойчивости по отношению к контролю был практически одинаковым, за исключением более низкого значения в варианте с применением дроб-воздействий в начале ночи. У листьев томата максимальный прирост холодоустойчивости наблюдался в результате дроб-воздействий, осуществляемых в конце дня, а минимальный – в конце ночи (табл.).

Обсуждение

Ранее утверждалось, что дроб-воздействия эффективны для управления ростом растений в высоту, только если они осуществляются за 30 мин до восхода солнца или включения света, а в другое время дня или ночи эффект отсутствует [Runkle, 2009]. Результаты проведенных нами опытов показали, что дроб-воздействия, независимо от времени суток (начало, середина и конец ночного и светового периодов), оказывают морфогенетический эффект, приводя к торможению линейного роста растений огурца и томата (табл.). Экспериментально показано, что наибольшая эффективность данного приема с точки зрения морфогенетического эффекта отмечена, когда дроб-воздействия осуществляют во время светового периода. Однако с практической точки зрения это малоприменимо, т. к. экономически целесообразнее понижать температуру в ночное время. В наших опытах дроб-воздействия в конце ночи и в начале дня оказывали сходный морфогене-

Влияние дроп-воздействий, осуществляемых в разное время в суточном цикле, на физиологические показатели растений *Cucumis sativus* и *Solanum lycopersicum*

The impact of temperature drop treatments at different times in the daily cycle on the physiological parameters of plants *Cucumis sativus* and *Solanum lycopersicum*

Показатель Parameter	К	НН	СН	КН	НД	СД	КД
<i>Cucumis sativus</i>							
Длина гипокотилия, мм Hypocotyl length, mm	42,0 ^a	35,7 ^b	35,8 ^b	35,5 ^b	36,0 ^b	35,4 ^b	35,4 ^b
Длина черешка 1-го листа, мм Petiole length of the 1 st leaf, mm	19,4 ^a	13,0 ^{bc}	15,5 ^b	15,6 ^b	13,8 ^{bc}	10,4 ^c	10,3 ^c
Площадь листьев, см ² Leaf area, cm ²	39,2 ^a	28,8 ^b	29,4 ^b	28,0 ^b	20,9 ^c	20,0 ^c	20,0 ^c
Сухая масса растения, мг Dry weight of the plant, mg	160 ^a	112 ^b	118 ^b	127 ^b	77 ^c	79 ^c	76 ^c
F_v/F_m	0,827 ^a	0,824 ^a	0,823 ^a	0,822 ^a	0,801 ^b	0,810 ^b	0,796 ^b
Относительное содержание хлорофилла, у. е. SPAD Relative chlorophyll content, SPAD units	47,3 ^a	51,0 ^a	47,3 ^a	48,5 ^a	36,4 ^b	47,0 ^a	46,8 ^a
Относительный выход электролитов, % Relative yield of electrolyte, %	14,6 ^a	11,1 ^b	12,5 ^a	13,0 ^a	12,3 ^a	12,5 ^a	10,5 ^b
Прирост холодоустойчивости, ΔЛТ50, °С Increase in cold resistance, ΔЛТ50, °С	-	2,0 ^b	2,6 ^a	2,6 ^a	2,7 ^a	2,7 ^a	2,5 ^a
<i>Solanum lycopersicum</i>							
Высота растения, см Plant height, cm	12,4 ^a	11,1 ^b	10,9 ^b	10,3 ^b	8,6 ^c	8,7 ^c	8,6 ^c
Длина черешка 1-го листа, мм Petiole length of the 1 st leaf, mm	52 ^a	40 ^b	43 ^b	39 ^b	39 ^b	40 ^b	41 ^b
Площадь листьев, см ² Leaf area, cm ²	141 ^a	124 ^a	130 ^a	118 ^a	109 ^b	107 ^b	112 ^b
Сухая масса побега, мг Dry weight of shoot, mg	284 ^a	266 ^a	307 ^a	240 ^a	225 ^a	256 ^a	291 ^a
F_v/F_m	0,824 ^a	0,828 ^a	0,821 ^a	0,820 ^a	0,799 ^b	0,781 ^c	0,783 ^c
Относительное содержание хлорофилла, у. е. SPAD Relative chlorophyll content, SPAD units	43,8 ^a	42,5 ^a	42,1 ^a	41,7 ^a	41,9 ^a	41,9 ^a	41,7 ^a
Относительный выход электролитов, % Relative yield of electrolyte, %	35,4 ^a	29,8 ^b	34,6 ^a	35,1 ^a	31,5 ^{ab}	31,7 ^{ab}	26,3 ^c
Прирост холодоустойчивости, ΔЛТ50, °С Increase in cold resistance, ΔЛТ50, °С	-	2,9 ^b	3,2 ^b	2,4 ^c	3,1 ^b	3,0 ^b	3,6 ^a

Примечание. К – контроль, НН – начало ночи, СН – середина ночи, КН – конец ночи, НД – начало дня, СД – середина дня, КД – конец дня. В пределах каждого показателя разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости $p < 0,05$.

Note. К – control, НН – beginning of the night, СН – middle of the night, КН – end of the night, НД – beginning of the day, СД – middle of the day, КД – end of the day. Within each parameter, different letters indicate the significance of differences in average values at $p < 0,05$.

тический эффект аналогично тому, что было показано ранее на огурце [Grimstad, 1995]. В отличие от работ на пуансеттии [Мое et al., 1992] и бегонии [Мое, Mortensen, 1992; Grindal, Мое, 1994], в которых дроп-воздействия в конце ночи уменьшали высоту растений, а в середине ночи оказывали лишь незначительное влияние на высоту растений и длину черешков, у растений огурца и томата нами не выявлено досто-

верных различий в реакции на дроп-воздействия, осуществляемые в разное время в рамках ночного периода (табл.). В связи с этим отметим, что уже в ранних работах по влиянию переменных температур на рост растений в качестве альтернативы применения ретардантов указывалось на то, что реакция растений весьма видоспецифична [Cuijpers, Vogelezang, 1992]. Поэтому неудивительно, что результаты, по-

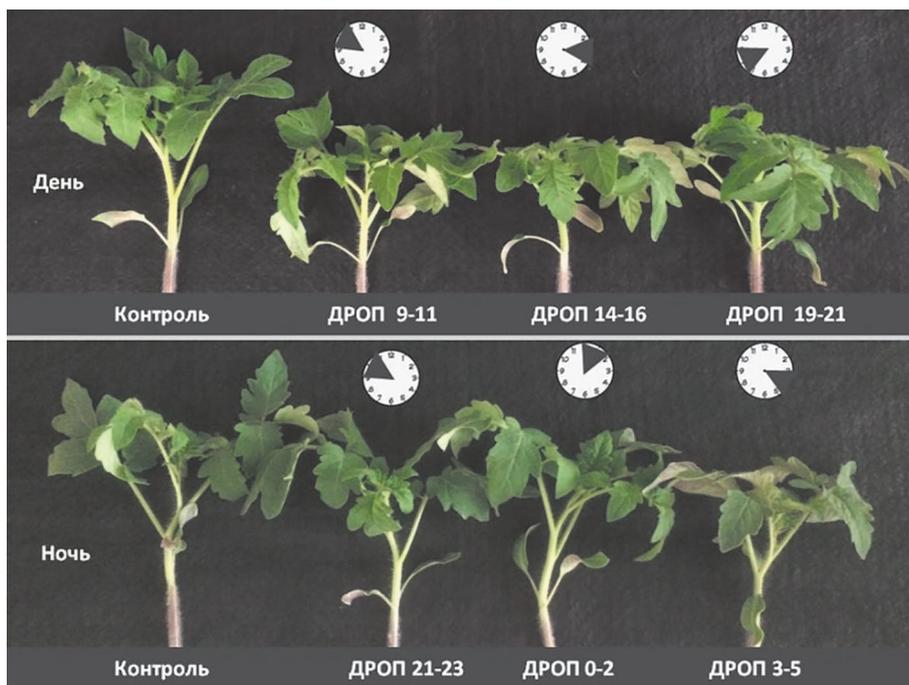


Рис. 1. Внешний вид контрольных растений *Solanum lycopersicum* и растений, подвергавшихся дроп-воздействиям (10 °С, 2 ч) в начале, середине и конце дня и ночи

Fig. 1. Tomato plants that are not treated (control) and treated by a temperature drop (10 °C, 2 h) at the beginning, in the middle and at the end of the day and night

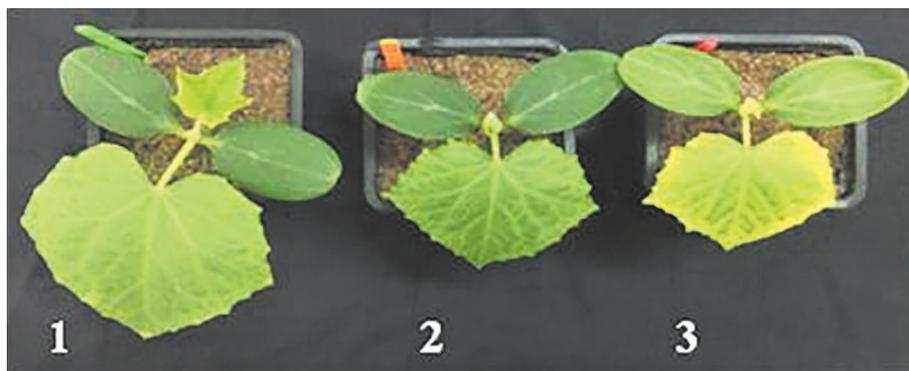


Рис. 2. Внешний вид контрольных растений *Cucumis sativus* (1) и растений, подвергавшихся дроп-воздействиям (10 °С, 2 ч) в конце ночи (2) и в начале дня (3)

Fig. 2. Cucumber plants that are not treated (control, 1) and treated by a temperature drop (10 °C, 2 h) at the end of the night (2) and at the beginning of the day (3)

лученные на разных видах, могут существенно различаться.

Известно, что рост стебля в длину происходит не с постоянной скоростью в суточном цикле, а имеет свои пики, преимущественно в ночное время [Lecharny et al., 1985; Sweeny, 1987; Erwin, Heins, 1988; Bertram, Karlsen, 1994; Tutty et al., 1994]. Хорошо выраженный морфогенетический эффект при применении дроп-воздействий в дневное время указывает на то, что оптимальное время для дроп-воздействий

с целью получения компактных растений может не совпадать с периодами наибольшей скорости роста стебля. Это, в частности, показано и в работах на томате [Gertsson, 1992; Grimstad, 1995]. Мнению о зависимости оптимального времени для дроп-воздействия от суточной динамики скорости роста стебля или черешков противоречат данные о том, что при увеличении длительности дроп-воздействий с 2 до 4 ч [Grimstad, 1995; Sysoeva et al., 2008] или с 1,5 до 3 ч [Mortensen, Moe, 1992] эффективность

дроп-воздействий снижается или остается прежней, хотя, казалось бы, логично ожидать ее увеличения. Пока объяснений этому факту не найдено, но можно отметить интересные результаты, полученные на растениях мари (*Chenopodium rubrum* L.), когда дроп-воздействия стимулировали удлинение стебля в течение 10 ч после окончания низкотемпературного воздействия [Lecharny et al., 1985], и на хризантеме (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitam.) [Tutty et al., 1994], у которой дроп-воздействия хотя и не нарушали суточный ритм роста стебля, но значительно повлияли на амплитуду изменений скорости роста в оставшуюся часть суток. На основе этого можно предположить, что дроп-воздействия сами по себе способны модифицировать динамику роста растений в суточном цикле. Возможно, именно с этим связано несоответствие получаемых результатов с ожидаемыми.

У растений огурца в вариантах с применением дроп-воздействий в дневное и ночное время наблюдалось существенное уменьшение площади листьев (до 49 и 30 % соответственно). При этом достоверных различий между разными вариантами дроп-воздействий в течение светового или темного периода (в начале, середине или конце) не выявлено. У растений томатов площадь листьев снижалась по отношению к контролю при дроп-воздействиях в конце ночи и в любое время дня. Тем не менее в более ранних работах отмечалось, что дроп-воздействия не влияют на длину и ширину листьев огурца, томата [Grimstad, 1995] и пуансеттии [Moe et al., 1992]. Причина этих различий может быть в том, что в нашем случае температуру снижали до 10, а не до 12 или 13 °С, как в упомянутых работах. Как известно, температура 10 °С является критической, при которой у теплолюбивых растений происходит фазовый переход липидов мембран из жидкокристаллического в гель-состояние и другие изменения, приводящие к многочисленным физиологическим нарушениям [Lyons, 1973; Salveit, Morris, 1990]. Различия в реакции растений на дроп-воздействия, применяемые в дневное и ночное время, отчасти могут быть связаны со снижением активности гиббереллинов (ГА) в результате быстрого увеличения экспрессии одного из генов, дезактивирующих ГА *PsGA2ox2* [Stavang et al., 2007]. Экспрессия этого гена происходит лишь при действии низкой температуры на свету. Поэтому реакция растений на дроп-воздействия на свету и в темноте может различаться не только количественно, но и качественно. То, что торможение скорости роста и уменьшение площади листьев происходит и при примене-

нии дроп-воздействий в темноте, а не только на свету, говорит о том, что в этом участвуют и другие, не связанные непосредственно с гиббереллинами механизмы. Поскольку при выращивании рассады овощных и цветочных растений нежелательное удлинение стебля происходит в основном в то время, когда листья соседних растений начинают затенять друг друга в условиях их плотной посадки, то уменьшение площади листьев под влиянием дроп-воздействий можно рассматривать как весьма важный в практическом смысле эффект.

На значительную разницу в реакции растений на дроп-воздействия на свету и в темноте указывают и данные по сухой массе, а именно то, что дроп на свету приводил к большему снижению биомассы. Не выявлено и различий по биомассе растений, связанных со временем применения дроп-воздействий в пределах светового или темного периодов. Ранее было показано, что дроп-воздействия на свету в большей степени, чем в темноте, вызывают снижение видимого квантового выхода фотосинтеза [Икконен и др., 2016]. При этом дроп-воздействия на свету снижают не только эффективность использования света фотосинтетическим аппаратом растений, но и скорость фотосинтеза, что не происходит у растений, подвергающихся дроп-воздействиям в темноте. Возможно, большее снижение биомассы при охлаждении растений на свету также связано с временным фотоингибированием, о чем свидетельствуют более низкие значения потенциального квантового выхода фотохимической активности ФС II (F_v/F_m). У растений томата достоверного снижения биомассы побегов под влиянием дроп-воздействий не происходило.

Содержание хлорофилла в листьях растений не изменялось под влиянием дроп-воздействий, за исключением его снижения у растений огурца в варианте с применением дроп-воздействий в начале дня, что также наблюдалось в опытах с базиликом [Vågen et al., 2003]. Потеря хлорофилла в охлажденных на свету листьях в отличие от листьев, испытывавших действие низкой температуры в темноте, может происходить, как предполагается, в результате деградации подверженного фотоингибированию комплекса ФС I [Hetherington et al., 1989]. Почему этого не происходит при охлаждении листьев в середине и конце дня, остается пока неясным. Нужно отметить, что после прекращения дроп-воздействий содержание хлорофилла довольно быстро (через сутки) достигает уровня контрольных значений [Шибалева и др., 2018].

Оценка степени проницаемости мембран по ОБЭ показала, что наименьшие значения от-

мечались у листьев растений, подвергавшихся дроп-воздействиям в конце дня или в начале ночи. Возможно, это связано с тем, что в указанное время в листьях находится максимальное количество углеводов, участвующих в стабилизации мембран в стрессовых условиях [Da Silva, Arrabaça, 2004; Hinch et al., 2006]. Как уже отмечалось во введении, существование суточной ритмики в чувствительности растений к холоду показано в ряде работ на теплолюбивых видах – бегонии [Grindal, Moe, 1994], пуансеттии [Moe et al., 1992], лилии [Erwin, 1991], огурце [King et al., 1982; Alscher et al., 1988; Rietze, Wiebe, 1989; Grimstad, 1993], томате [King et al., 1982; Alscher et al., 1988], перце сладком [King et al., 1982; Alscher et al., 1988], фасоли [King et al., 1982; Alscher et al., 1988] и др. Все виды оказались наиболее чувствительны к охлаждению, когда подвергались ему в самом конце ночи или в самом начале дня. Причинами изменения чувствительности могут быть суточный ритм содержания углеводов, количество которых становится минимальным к концу ночи [King et al., 1988; Pantin et al., 2011], а также суточный ритм содержания АБК, минимальное количество которой также отмечается в предрассветные часы [McMichael, Hanny, 1977; Nováková et al., 2005]. Однако детальное изучение этих механизмов показало, что они все же не могут полностью объяснить причин изменения чувствительности к охлаждению в суточном ритме и факта более высокой устойчивости к охлаждению на свету [King et al., 1982, 1988], также зафиксированной в нашей работе (прирост холодоустойчивости листьев по сравнению с контролем в целом был выше при дроп-воздействиях, осуществляемых в дневное время). Возможно, это объясняется участием сахаров, содержание которых возрастает уже через 15 минут после включения света, в стабилизации мембран и/или синтезе метаболитов, обеспечивающих повышение устойчивости к холоду у теплолюбивых растений [Stewart, Guinn, 1971; Yelenosky, 1979; Purvis, 1981; Rikin et al., 1981; King et al., 1988].

В целом результаты нашей работы показали, что дроп-воздействия эффективны в отношении торможения линейного роста растений независимо от времени их применения в суточном цикле. Оптимальное время для дроп-воздействий с целью получения компактных растений может не совпадать с периодами наибольшей скорости роста стебля, т. к. дроп-воздействия сами по себе способны модифицировать суточную ритмику роста растений. Наличие или отсутствие света в период дроп-воздействий оказывает намного более силь-

ное влияние на ответную реакцию растений, чем суточная ритмика чувствительности растений к охлаждению. С практической точки зрения применять дроп-воздействия в тепличном производстве предпочтительнее в конце ночи, но если речь идет о «фабриках растений», где связь с внешними климатическими условиями минимизирована [Graamans et al., 2018], то эта способность дроп-воздействий тормозить рост независимо от времени применения может быть использована в любое удобное время, исходя из производственных задач.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0074).

Литература

- Дроздов С. Н., Будыкина Н. П., Курец В. К., Балагурова Н. И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. Л.: Колос, 1976. С. 222–228.
- Икконен Е. Н., Шибаева Т. Г., Шерудило Е. Г., Титов А. Ф. Влияние ДРОП-воздействий на эффективность использования световой энергии в процессе фотосинтеза у растений огурца // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 6. С. 49–55. doi: 10.17076/eb319
- Шибаева Т. Г., Шерудило Е. Г., Титов А. Ф. Реакция растений *Cucumis sativus* L. на длительное постоянное и кратковременные ежесуточные воздействия низких температур // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 2. С. 143–152. doi: 10.7868/S0015330318020069
- Alscher G., Rietze E., Wiebe H.-J. Diurnal chilling sensitivity of some vegetable crops // Biotronics. 1988. Vol. 17. P. 17–20.
- Bakken A. K., Moe R. Height and quality control in Christmas begonia by growth-retarding temperature regimes // Acta Agric. Scand. Sect. B, Soil and Plant Sci. 1995. Vol. 45. P. 283–292.
- Berghage R. Controlling height with temperature // Hort. Technology. 1998. Vol. 8, no. 4. P. 535–539.
- Bertram L., Karlsen P. Patterns in stem elongation rate in chrysanthemum and tomato plants in relation to irradiance and day/night temperature // Sci. Hort. 1994. Vol. 58. P. 139–150. doi: 10.1016/0304-4238(94)90134-1
- Cuijpers L. H. M., Vogelesang J. V. M. DIF and temperature drop for short-day pot plants // Acta Hort., 1992. Vol. 327. P. 25–32. doi: 10.17660/ActaHortic. 1992.327.3
- Erwin J. E. Thermomorphogenesis in plants: PhD Dissertation. Michigan State University, East Lansing, 1991. 165 p.

- Erwin J. E., Heins R. D. Effect of diurnal temperature fluctuations on stem elongation circadian rhythms // *Hortic. Sci.* 1988. Vol. 23, no. 3. P. 164.
- Erwin J. E., Heins R. D. Thermomorphogenic responses in stem and leaf development // *Hort. Science.* 1995. Vol. 30, no. 5. P. 940–949.
- Graamans L., Baeza E., Dobbelsteen A. D., Tsafaras I., Stanghellini C. Plant factories versus greenhouses: Comparison of resource use efficiency // *Agric. Syst.* 2018. Vol. 160. P. 31–43. doi: 10.1016/j.agsy.2017.11.003
- Gertsson U. Influence of temperature on shoot elongation in young tomato plants // *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 71–76. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.8
- Grimstad S. O. The effect of a daily low temperature pulse on growth and development of greenhouse cucumber and tomato plants during propagation // *Sci. Hort.* 1993. Vol. 53. P. 53–62. doi: 10.1016/0304-4238(93)90137-F
- Grimstad S. O. Low-temperature pulse affects growth and development of young cucumber and tomato plants // *J. Hort. Sci.* 1995. Vol. 70, no. 1. P. 75–80. doi: 10.1080/14620316.1995.11515275
- Grindal G., Moe R. Effects of temperature-drop and a short dark interruption on stem elongation and flowering in *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. // *Sci. Hort.* 1994. Vol. 57. P. 123–132. doi: 10.1016/0304-4238(94)90040-X
- Grindal G., Moe R. Growth rhythm and temperature DROP // *Acta Hort.* 1995. Vol. 378. P. 47–52. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.6
- Hepburn H. A., Naylor F. L., Strokes D. I. Electrolyte leakage from winter barley tissue as indicator of winter hardiness // *Ann. Appl. Biol.* 1986. Vol. 108. P. 164–165.
- Hetherington S. E., He J., Smillie R. M. Photoinhibition at low temperature in chilling-sensitive and -resistant plants // *Plant Physiol.* 1989. Vol. 90. P. 1609–1615. doi: 10.1104/pp.90.4
- Hincha D. K., Popova A. V., Cacula C. Effect of sugars on the stability and structure of lipid membranes during drying // *Advances in planer lipid bilayers and liposomes* / A. Leitmannova Liu (Ed.). Vol. 3. Amsterdam: Elsevier, 2006. P. 189–217. doi: 10.1016/S1554-4516(05)03006-1
- Kerdnaimongkol K., Bhatia A., Joly R. J., Woodson W. R. Oxidative stress and diurnal variation in chilling sensitivity of tomato seedlings // *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 1997. Vol. 122. P. 485–490.
- King A. I., Joyce D. C., Reid M. Role of carbohydrates in diurnal chilling sensitivity of tomato seedlings // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 86. P. 764–768.
- King A. J., Reid M. S., Patterson B. D. Diurnal changes in the chilling sensitivity of seedlings // *Plant Physiol.* 1982. Vol. 70. P. 211–214. doi: 10.1104/pp.70.1.211
- Lecharyn A., Schwall M., Wagner E. Stem extension rate in light-grown plants // *Plant Physiol.* 1985. Vol. 79. P. 625–629.
- Lyons J. M. Chilling injury in plants // *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1973. Vol. 24. P. 445–466. doi: 10.1146/annurev.pp.24.060173.002305
- Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51, no. 345. P. 659–668. doi: 10.1093/jexbot/51.345.659
- McMichael B. L., Hanny B. W. Endogenous levels of abscisic acid in water-stressed cotton leaves // *Agro-nomy.* 1977. Vol. 69. P. 979–982.
- Moe R., Heins R. D. Control of plant morphogenesis and flowering by light quality and temperature // *Acta Hort.* 1990. Vol. 272. P. 81–90.
- Moe R., Gromsrud N., Bratberg I., Valsø S. Control of plant height in poinsettia by temperature drop and graphical tracking // *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 41–48. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.5
- Moe R., Mortensen L. M. Thermomorphogenesis in pot plants // *Acta Hort.* 1992. Vol. 305. P. 19–25. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.305.2
- Mortensen L. M., Moe R. Effects of various day and night temperature treatments on the morphogenesis and growth of some greenhouse and bedding plant species // *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 77–86. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.9
- Myster J., Moe R. Effect of diurnal temperature alternation on plant morphology in some greenhouse crops – a mini review // *Sci. Hort.* 1995. Vol. 62, iss. 4. P. 205–215. doi: 10.1016/0304-4238(95)00783-P
- Nováková M., Motyka V., Dobrev P. I., Malbeck J., Gaudinova A., Vankova R. Diurnal variation of cytokinin, auxin and abscisic acid level in tobacco leaves // *J. Exp. Bot.* 2005. Vol. 56, no. 421. P. 2877–2883. doi: 10.1093/jxb/eri282
- Pantin F., Simonneau T., Rolland G., Dauzat M., Muller B. Control of leaf expansion: a development switch from metabolic to hydraulics // *Plant Physiol.* 2011. Vol. 156, no. 2. P. 803–815. doi: 10.1104/pp.111.176289
- Purvis A. C. Free proline in peel of grapefruit and resistance to chilling injury during cold storage // *Hort. Sci.* 1981. Vol. 16. P. 160–161.
- Rietze E., Wiebe H.-J. Diurnal rhythm of chilling sensitivity of cucumbers in light // *Sci. Hort.* 1989. Vol. 38. P. 231–237. doi: 10.1016/0304-4238(89)90070-8
- Rikin A., Gitler C., Atsmon D. Chilling injury in cotton (*Gossypium hirsutum* L.): light requirement for the reduction of injury and for the protective effect of abscisic acid // *Plant Cell Physiol.* 1981. Vol. 22. P. 453–460. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076187
- Runkle E. Controlling height with temperature drops // *Greenhouse Product News.* 2009. April. P. 50.
- Salveit M. E. Jr., Morris L. L. Overview on chilling injury of horticultural crops. In: CY Wang, ed., *Chilling Injury of horticultural crops*. FL; Boca Raton: CRC Press, 1990. P. 3–15.
- Da Silva J. M., Arrabaça M. C. Contributions of soluble carbohydrates to the osmotic adjustment in the C₄ grass *Setaria sphacelata*: a comparison between rapidly and slowly imposed water stress // *J. Plant Physiol.* 2004. Vol. 161. P. 551–555. doi: 10.1078/0176-1617-01109
- Stavang J. A., Junttila O., Moe R., Olsen J. E. Differential temperature regulation of GA metabolism in light and darkness in pea // *J. Exp. Bot.* 2007. Vol. 58, no. 11. P. 3061–3069. doi: 10.1093/jxb/erm163
- Stewart J. M., Guinn G. Chilling injury and nucleotide changes in young cotton plants // *Plant Physiol.* 1971. Vol. 48. P. 166–170. doi: 10.1104/pp.48.2.166
- Sweeny B. M. Rhythmic phenomena in plants. San Diego, USA: Academic Press, 1987. 172 p.
- Sysoeva M. I., Markovskaya E. F., Kharkina T. G. Optimal temperature drop for the growth and development of young cucumber plants // *Plant Growth Regul.* 1997. Vol. 6. P. 1–5. doi: 10.1023/A:1005834702680

Sysoeva M. I., Markovskaya E. F., Kharkina T. G., Sherudilo E. G. Temperature drop, dry matter accumulation and cold resistance of young cucumber plants // *Plant Growth Regul.* 1999. Vol. 28. P. 89–94. doi: 10.1023/A:1006243230411

Sysoeva M. I., Patil G. G., Sherudilo E. G., Torre S., Markovskaya E. F., Moe R. Effect of temperature drop and photoperiod on cold resistance in young cucumber plants – involvement of phytochrome B // *Plant Stress.* 2008. Vol. 2, no. 1. P. 84–88.

Tutty J. R., Hicklenton P. R., Kristie D. N., McRae K. B. The influence of photoperiod and temperature on the kinetics of stem elongation in *Dendranthema grandiflorum* // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1994. Vol. 119. P. 138–143.

Ueber E., Hendriks L. Effects of intensity, duration and timing of a temperature drop on the growth and flowering of *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch.

// *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 33–40. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.4

Ueber E., Hendriks L. Intensity effects of a temperature drop on pelargoniums // *Acta Hort.* 1995. Vol. 378. P. 34. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.3

Vågen I. M., Moe R., Ronglan E. Diurnal temperature alternations (DIF/drop) affect chlorophyll content and chlorophyll a/chlorophyll b ratio in *Melissa officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L., but not in *Viola x wittrockiana* Gams. // *Sci. Hort.* 2003. Vol. 97. P. 153–162. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00141-3

Yelenosky G. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes // *Plant Physiol.* 1979. Vol. 64. P. 425–427. doi: 10.1104/pp.64.3.425

Поступила в редакцию 21.05.2019

References

Drozдов S. N., Budykina N. P., Kurets V. K., Balagurova N. I. Opredelenie ustoichivosti rastenii k zamorozkam [Determination of plant resistance to light frost]. *Metody otsenki ustoichivosti rastenii k neblagopriyatnym usloviyam sredy* [Methods for assessing plant tolerance to unfavorable conditions]. Leningrad: Kolos, 1976. P. 222–228.

Ikkonen E. N., Shibaeva T. G., Sherudilo E. G., Titov A. F. Vliyaniye DROP-vozdeistvii na effektivnost' ispol'zovaniya svetovoi energii v protsesse fotosinteza u rastenii ogurtsa [Effect of a temperature drop on the apparent quantum yield of photosynthesis in cucumber plants]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2016. No. 6. P. 49–55. doi: 10.17076/eb319

Shibaeva T. G., Sherudilo E. G., Titov A. F. Reaktsiya rastenii *Cucumis sativus* L. na dlitel'noe postoyannoe i kratkovremennye ezhesutochnye vozdeistviya nizkikh temperature [Response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants to prolonged permanent and short-term daily exposures to chilling temperature]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2018. Vol. 65, no. 2. P. 143–152. doi: 10.7868/S0015330318020069

Alscher G., Rietze E., Wiebe H.-J. Diurnal chilling sensitivity of some vegetable crops. *Biotronics.* 1988. Vol. 17. P. 17–20.

Bakken A. K., Moe R. Height and quality control in Christmas begonia by growth-retarding temperature regimes. *Acta Agric. Scand. Sect. B, Soil and Plant Sci.* 1995. Vol. 45. P. 283–292.

Berghage R. Controlling height with temperature. *Hort. Technology.* 1998. Vol. 8, no. 4. P. 535–539.

Bertram L., Karlsen P. Patterns in stem elongation rate in chrysanthemum and tomato plants in relation to irradiance and day/night temperature. *Sci. Hort.* 1994. Vol. 58. P. 139–150. doi: 10.1016/0304-4238(94)90134-1

Cuijpers L. H. M., Vogelesang J. V. M. DIF and temperature drop for short-day pot plants. *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 25–32. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.3

Erwin J. E. Thermomorphogenesis in plants: PhD Diss. Michigan State University, East Lansing, 1991. 165 pp.

Erwin J. E., Heins R. D. Effect of diurnal temperature fluctuations on stem elongation circadian rhythms. *Hort. Sci.* 1988. Vol. 23, no. 3. P. 164.

Erwin J. E., Heins R. D. Thermomorphogenic responses in stem and leaf development. *Hort. Sci.* 1995. Vol. 30, no. 5. P. 940–949.

Graamans L., Baeza E., Dobbelsteen A. D., Tsafaras I., Stanghellini C. Plant factories versus greenhouses: Comparison of resource use efficiency. *Agric Sys.* 2018. Vol. 160. P. 31–43. doi: 10.1016/j.agsy.2017.11.003

Gertsson U. Influence of temperature on shoot elongation in young tomato plants. *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 71–76. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.8

Grimstad S. O. The effect of a daily low temperature pulse on growth and development of greenhouse cucumber and tomato plants during propagation. *Sci. Hort.* 1993. Vol. 53. P. 53–62. doi: 10.1016/0304-4238(93)90137-F

Grimstad S. O. Low-temperature pulse affects growth and development of young cucumber and tomato plants. *J. Hort. Sci.* 1995. Vol. 70, no. 1. P. 75–80. doi: 10.1080/14620316.1995.11515275

Grindal G., Moe R. Effects of temperature-drop and a short dark interruption on stem elongation and flowering in *Begonia × hiemalis* Fotsch. *Sci. Hort.* 1994. Vol. 57. P. 123–132. doi: 10.1016/0304-4238(94)90040-X

Grindal G., Moe R. Growth rhythm and temperature DROP. *Acta Hort.* 1995. Vol. 378. P. 47–52. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.6

Hepburn H. A., Naylor F. L., Strokes D. I. Electrolyte leakage from winter barley tissue as indicator of winter hardiness. *Ann. Appl. Biol.* 1986. Vol. 108. P. 164–165.

Hetherington S. E., He J., Smillie R. M. Photoinhibition at low temperature in chilling-sensitive and -resistant plants. *Plant Physiol.* 1989. Vol. 90. P. 1609–1615. doi: 10.1104/pp.90.4

Hincha D. K., Popova A. V., Cacela C. Effect of sugars on the stability and structure of lipid membranes during drying. A. *Leitmannova Liu* (Ed.). *Advances in planar lipid bilayers and liposomes*. Vol. 3. Amsterdam: Elsevier, 2006. P. 189–217. doi: 10.1016/S1554-4516(05)03006-1

Kerdnaimongkol K., Bhatia A., Joly R. J., Woodson W. R. Oxidative stress and diurnal variation in chilling sensitivity of tomato seedlings. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 1997. Vol. 122. P. 485–490.

- King A. I., Joyce D. C., Reid M. Role of carbohydrates in diurnal chilling sensitivity of tomato seedlings. *Plant Physiol.* 1988. Vol. 86. P. 764–768.
- King A. J., Reid M. S., Patterson B. D. Diurnal changes in the chilling sensitivity of seedlings. *Plant Physiol.* 1982. Vol. 70. P. 211–214. doi: 10.1104/pp.70.1.211
- Lechary A., Schwall M., Wagner E. Stem extension rate in light-grown plants. *Plant Physiol.* 1985. Vol. 79. P. 625–629.
- Lyons J. M. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1973. Vol. 24. P. 445–466. doi: 10.1146/annurev.pp.24.060173.002305
- Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51, no. 345. P. 659–668. doi: 10.1093/jexbot/51.345.659
- McMichael B. L., Hanny B. W. Endogenous levels of abscisic acid in water-stressed cotton leaves. *Agro-nomy.* 1977. Vol. 69. P. 979–982.
- Moe R., Heins R. D. Control of plant morphogenesis and flowering by light quality and temperature. *Acta Hort.* 1990. Vol. 272. P. 81–90.
- Moe R., Gromsrud N., Bratberg I., Valsø S. Control of plant height in poinsettia by temperature drop and graphical tracking. *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 41–48. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.5
- Moe R., Mortensen L. M. Thermomorphogenesis in pot plants. *Acta Hort.* 1992. Vol. 305. P. 19–25. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.305.2
- Mortensen L. M., Moe R. Effects of various day and night temperature treatments on the morphogenesis and growth of some greenhouse and bedding plant species. *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 77–86. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.9
- Myster J., Moe R. Effect of diurnal temperature alternation on plant morphology in some greenhouse crops – a mini review. *Sci. Hort.* 1995. Vol. 62, iss. 4. P. 205–215. doi: 10.1016/0304-4238(95)00783-P
- Nováková M., Motyka V., Dobrev P. I., Malbeck J., Gaudinova A., Vankova R. Diurnal variation of cytokinin, auxin and abscisic acid level in tobacco leaves. *J. Exp. Bot.* 2005. Vol. 56, no. 421. P. 2877–2883. doi: 10.1093/jxb/eri282
- Pantin F., Simonneau T., Rolland G., Dauzat M., Muller B. Control of leaf expansion: a development switch from metabolic to hydraulics. *Plant Physiol.* 2011. Vol. 156, no. 2. P. 803–815. doi: 10.1104/pp.111.176289
- Purvis A. C. Free proline in peel of grapefruit and resistance to chilling injury during cold storage. *Hort. Sci.* 1981. Vol. 16. P. 160–161.
- Rietze E., Wiebe H.-J. Diurnal rhythm of chilling sensitivity of cucumbers in light. *Sci. Hort.* 1989. Vol. 38. P. 231–237. doi: 10.1016/0304-4238(89)90070-8
- Rikin A., Gitler C., Atsmon D. Chilling injury in cotton (*Gossypium hirsutum* L.): light requirement for the reduction of injury and for the protective effect of abscisic acid. *Plant Cell Physiol.* 1981. Vol. 22. P. 453–460. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076187
- Runkle E. Controlling height with temperature drops. *Greenhouse Product News.* 2009. April. P. 50.
- Salveit M. E. Jr., Morris L. L. Overview on chilling injury of horticultural crops. *CY Wang*, ed., Chilling Injury of horticultural crops. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990. P. 3–15.
- Da Silva J. M., Arrabaça M. C. Contributions of soluble carbohydrates to the osmotic adjustment in the C₄ grass *Setaria sphacelata*: a comparison between rapidly and slowly imposed water stress. *J. Plant Physiol.* 2004. Vol. 161. P. 551–555. doi: 10.1078/0176-1617-01109
- Stavang J. A., Junttila O., Moe R., Olsen J. E. Differential temperature regulation of GA metabolism in light and darkness in pea. *J. Exp. Bot.* 2007. Vol. 58, no. 11. P. 3061–3069. doi: 10.1093/jxb/erm163
- Stewart J. M., Guinn G. Chilling injury and nucleotide changes in young cotton plants. *Plant Physiol.* 1971. Vol. 48. P. 166–170. doi: 10.1104/pp.48.2.166
- Sweeny B. M. Rhythmic phenomena in plants. San Diego, USA: Academic Press, 1987. 172 p.
- Sysoeva M. I., Markovskaya E. F., Kharkina T. G. Optimal temperature drop for the growth and development of young cucumber plants. *Plant Growth Regul.* 1997. Vol. 6. P. 1–5. doi: 10.1023/A:1005834702680
- Sysoeva M. I., Markovskaya E. F., Kharkina T. G., Sherudilo E. G. Temperature drop, dry matter accumulation and cold resistance of young cucumber plants. *Plant Growth Regul.* 1999. Vol. 28. P. 89–94. doi: 10.1023/A:1006243230411
- Sysoeva M. I., Patil G. G., Sherudilo E. G., Torre S., Markovskaya E. F., Moe R. Effect of temperature drop and photoperiod on cold resistance in young cucumber plants – involvement of phytochrome B. *Plant Stress.* 2008. Vol. 2, no. 1. P. 84–88.
- Tutty J. R., Hicklenton P. R., Kristie D. N., McRae K. B. The influence of photoperiod and temperature on the kinetics of stem elongation in *Dendranthema grandiflorum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1994. Vol. 119. P. 138–143.
- Ueber E., Hendriks L. Effects of intensity, duration and timing of a temperature drop on the growth and flowering of *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch. *Acta Hort.* 1992. Vol. 327. P. 33–40. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.4
- Ueber E., Hendriks L. Intensity effects of a temperature drop on pelargoniums. *Acta Hort.* 1995. Vol. 378. P. 34. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.3
- Vågen I. M., Moe R., Ronglan E. Diurnal temperature alternations (DIF/drop) affect chlorophyll content and chlorophyll a/chlorophyll b ratio in *Melissa officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L., but not in *Viola x wittrockiana* Gams. *Sci. Hort.* 2003. Vol. 97. P. 153–162. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00141-3
- Yelenosky G. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes. *Plant Physiol.* 1979. Vol. 64. P. 425–427. doi: 10.1104/pp.64.3.425

Received May 21, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шибаета Татьяна Геннадиевна

старший научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: shibaeva@krc.karelia.ru

Шерудило Елена Георгиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sherudil@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706, +79217281651

Титов Александр Федорович

главный научный сотрудник 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:

Shibaeva, Tatyana

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

Sherudilo, Elena

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

Titov, Alexander

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

УДК 574.24: 57.017.322

ВЛИЯНИЕ МЕДИ НА КОМПОНЕНТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРЕСНОВОДНОГО ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANODONTA CYGNEA*

**И. В. Суховская¹, С. Р. Курпе², Е. В. Борвинская¹, А. А. Кочнева¹,
Н. Н. Фокина¹**

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

² Петрозаводский государственный университет, Россия

Исследованы эффекты аккумуляции меди и ее воздействия на работу некоторых компонентов системы антиоксидантной защиты (АОС) – CAT, GST, GSH – в пищеварительной железе пресноводного двустворчатого моллюска *Anodonta cygnea* в условиях аквариального эксперимента. После 12-дневной акклимации моллюсков рассадили по аквариумам с концентрацией Cu^{2+} 0, 5, 50, 100 и 250 мкг/л. Образцы тканей гепатопанкреаса для анализа отбирали через 1, 3 и 7 суток. В ткани определяли содержание ионов меди, активность GST и CAT, а также концентрацию GSH. Показано, что процесс накопления носит дозо- и времязависимый характер. Аккумулированный в данной концентрации металл не привел к гибели животных. Скорость накопления металла в исследованном органе увеличивалась с повышением концентрации ионов меди в воде. Воздействие повышенных концентраций меди приводит к адаптивному изменению активности ферментов АОС у беззубки, направленному на обезвреживание продуктов окислительных реакций. Изменения в активности ферментов АОС (CAT и GST) отмечены в основном на седьмые сутки эксперимента при самых высоких из протестированных концентрациях меди. GST проявила себя наиболее стабильным ферментом. Уровень GSH в пищеварительной железе менялся через одни сутки от начала эксперимента, подтверждая участие этого трипептида в первом эшелоне защиты от ксенобиотиков. Ионы меди обладают кумулятивным эффектом. Отмеченные на 7-е сутки изменения активности ферментов при концентрации Cu^{2+} 250 мкг/л позволяют предположить, что более длительное действие меди, даже в незначительных концентрациях, может приводить к негативным последствиям.

Ключевые слова: оксидативный стресс; система антиоксидантной защиты; адаптация; аккумуляция металла; медь.

**I. V. Sukhovskaya, S. R. Kurpe, E. V. Borvinskaya, A. A. Kochneva,
N. N. Fokina. COPPER EFFECT ON COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT
SYSTEM OF THE DIGESTIVE GLAND IN THE FRESHWATER MUSSEL
*ANODONTA CYGNEA***

The effects of copper accumulation and its impact on the functioning of some components of the antioxidant system (AOS) – CAT, GST, GSH – in the digestive gland of the freshwater mussel *Anodonta cygnea* were studied in an aquarium experiment. After a 12-day acclimation, the mussels were divided among aquariums with Cu^{2+} concentrations

of 0, 5, 50, 100, and 250 µg/L. Hepatopancreas tissue samples were taken for analysis after 1, 3, and 7 days. Copper ions content, GST and CAT activity, as well as GSH concentration were determined in the tissue. The accumulation process was shown to be dose- and time-dependent. The metal accumulated in this concentration was not lethal. The rate of the metal accumulation in the studied organ increased along with the concentration of copper ions in the water. The activity of AOS enzymes in the swan mussel is modified as an adaptation in response to elevated copper concentrations to neutralize the products of oxidative reactions. Changes in the activity of AOS enzymes (CAT and GST) were observed mainly on the seventh day of the experiment at the highest copper concentrations tested. GST proved to be the most stable enzyme. The GSH level in the digestive gland changed 1 day after the start of the experiment, corroborating this tripeptide is involved in the first wave of protection against xenobiotics. Copper ions have a cumulative effect. The changes in enzyme activity observed on day 7 at Cu²⁺ concentration of 250 µg/L suggest that a longer exposure to copper, even in low concentrations, can be detrimental.

Key words: oxidative stress; antioxidant system; adaptation; metal accumulation; copper.

Введение

Медь является распространенным элементом и в природных водах в основном обнаруживается в виде катиона Cu²⁺, обычно связанного с органическими веществами. В природных водах и источниках водоснабжения Российской Федерации медь, как правило, содержится в концентрациях около 1 мкг/л. В водоемах на территории европейской части России – в пределах 0,5–6,6 мкг/л [Моисеенко и др., 2006], в воде Онежского озера – 0,7–1,2 мкг/л, в воде Ладожского озера – 1,4 мкг/л [Озера..., 2013].

Однако вблизи меднорудных предприятий отмечаются значительные колебания концентрации металла в водоемах – от 1 до 980 мкг/л [Шилова, 2014; Государственный..., 2018].

Этот элемент необходим для живых организмов, однако избыточные концентрации меди чрезвычайно токсичны. Ионы Cu (II) образуют довольно стабильные комплексы с атомами O- и S- или N-, а соответственно, с лигандами белков, и поэтому с трудом выводятся из организма. Токсичность меди обусловлена ее способностью ингибировать ферменты и нарушать осморегуляцию [Viarengo et al., 1996], снижать иммунную функцию [Parry, Pipe, 2004], подавлять дыхание [Rao et al., 2000], вызывать повреждение мембран и другие вредные эффекты [Duffus, 2002]. Поэтому превышение фоновых значений концентраций меди в водоемах, подвергнутых антропогенному воздействию, особенно из-за добычи металлических руд, применения минеральных удобрений, использования средств против обрастания, фунгицидов и ларвицидов, несет угрозу для природных экосистем и человека [Sinicropi et al., 2010; Syversen, Kaur, 2012; Даувальтер, Ка-

шулин, 2015]. В Российской Федерации ПДК меди в питьевой воде установлена на уровне 1 мг/л, то есть на 1–2 порядка выше фоновых значений, тогда как в ряде стран ЕС (Финляндия, Норвегия и др.) этот показатель несколько ниже и находится в пределах 0,4 мг/л [Directive..., 2008; Мишукова и др., 2015]. В то же время ПДК_{вр} нормативами определена как 1 мкг/л [Приказ...]. Показано, что концентрации больше 1000 мкг Cu²⁺/л вызывают выраженное негативное воздействие на мидий [Sze, Lee, 2000; Parry, Pipe, 2004; Wang et al., 2007], рыбу [Larsen et al., 1997] и ракообразных [Ahsanullah, Williams, 1991; Conradi, Depledge, 1998; Wang et al., 2007; March et al., 2007], однако влияние более низких концентраций меди, особенно на пресноводных гидробионтов, изучено слабо.

Двустворчатые моллюски широко используются в качестве тестовых организмов в лабораторных и полевых экотоксикологических исследованиях [Radenac et al., 1997; Lysenko et al., 2015] для оценки качества воды и подсчета рисков для здоровья человека [Cajaraville et al., 2000; Chapman, 2008; Lyons et al., 2010; Guéguen et al., 2011]. В процессе фильтрации они способны изымать из воды растворенные тяжелые металлы, включая медь, и накапливать их в мягких тканях [Sze, Lee, 2000; Canesi et al., 2012]. Отдельные двустворчатые моллюски могут фильтровать более литра воды в час [Foster-Smith, 1975] и, следовательно, потребляют большое количество переносимых водой загрязнителей. В результате моллюски могут накапливать металлы в тканях до феноменальных концентраций [Wang et al., 2014]. В целом показано, что у двустворчатых моллюсков константы скорости поглощения металла сопоставимы с ракообразными и в десять раз выше, чем у рыб [Marigomez et al., 2002]. Опи-

сание биологических эффектов воздействия тяжелых металлов на моллюсков и выяснение молекулярных основ успешной адаптации этих животных к высоким концентрациям указанных загрязнителей имеет большое значение для прогнозирования состояния водных экосистем в условиях возрастающего антропогенного воздействия. При этом следует отметить, что большинство исследований посвящено изучению морских моллюсков, тогда как литературы, посвященной пресноводным моллюскам, значительно меньше, и эта тема продолжает вызывать интерес на протяжении многих лет [Huggett et al., 1992; Лукьянова, 2001; Чуйко, 2014].

Известно, что металлы с переходной валентностью, в том числе медь, могут стимулировать образование избытка активных форм кислорода (АФК) и нарушать баланс окислительно-восстановительных реакций, в норме поддерживаемый в аэробной клетке (окислительный стресс) [Regoli, Giuliani, 2014]. Для защиты от окислительного стресса живые организмы обладают различными биохимическими системами обезвреживания и выведения АФК. К компонентам антиоксидантной системы (АОС) относятся низкомолекулярные соединения, такие как восстановленный глутатион (GSH), витамины А и Е, антиоксидантные ферменты – супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), пероксидаза (Px), глутатион-S-трансфераза (GST) и др. [Regoli, Giuliani, 2014]. Показатели работы антиоксидантных ферментов могут быть использованы для оценки устойчивости организма к окислительному стрессу, вызванному накоплением тяжелых металлов [Vega-López et al., 2013].

Целью данного исследования было выявить возможные взаимосвязи между концентрацией металла в окружающей среде и активностью ферментов АОС у пресноводного двустворчатого моллюска беззубки *Anodonta cygnea* при разном уровне токсической нагрузки (при однократном и многократном добавлении в воду 0, 10, 50, 100 и 250 мкг/л Cu^{2+}). Также было исследовано накопление меди в пищеварительной железе (гепатопанкреасе) моллюска в зависимости от продолжительности воздействия и концентрации металла в воде. В эксперименте использовали как низкие концентрации меди, характерные для природных биотопов, так и концентрации, соответствующие среднему уровню антропогенного загрязнения. Учитывая, что беззубка является широко распространенным в Европе видом пресноводных моллюсков, важно оценить потенциал использования *A. cygnea* в качестве биоиндикатора для биомониторинга пресноводных экосистем.

Материалы и методы

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

Сбор тестовых организмов и описание аквариального эксперимента

Сбор моллюсков *A. cygnea* проводили в июле 2018 г. в русле реки Уссун (62°20'29" с. ш., 33°48'54" в. д.) в Северо-Западном регионе России, в котором этот вид не находится под охраной. В день вылова моллюски были перенесены в лабораторию в контейнере с водой с охлаждением. Для эксперимента сформировали однородную (CV = 5,4 %) размерную выборку животных, длина которых составляла $71,8 \pm 2,8$ мм.

Животных помещали в аквариумы с аэрируемой водопроводной водой объемом 18 л, по 10 моллюсков в каждый. На протяжении всего эксперимента в аквариумах с помощью термостатирующего устройства Hailea HC-250A поддерживалась постоянная температура +20 °С, соответствующая температуре в природном водоеме в период сбора моллюсков. Для поддержания в воде допустимого уровня соединений азота один раз в сутки в аквариумах проводили замену 10 л воды. Воду для замены с заданной температурой и оксигенацией готовили заранее.

После 12-дневной акклимации моллюсков к лабораторным условиям аквариумы были разделены на контрольные и опытные. В экспериментальные аквариумы добавили предварительно приготовленный стоковый раствор 250 мг/л CuCl_2 в дистиллированной воде до нужной концентрации. Каждые сутки из аквариумов сливали 10 л воды и сразу наполняли их новой порцией заранее приготовленной воды с заданной концентрацией меди. Часть животных извлекали для анализа через сутки после начала эксперимента, часть – после трехкратной (3 суток) и семикратной (7 суток) замены воды с добавлением металла. Моллюскам из контрольных групп добавляли подготовленную воду без дополнительного добавления солей меди. На протяжении всего периода акклимации и эксперимента моллюски не получали корм.

Гидрохимический анализ

Ежедневный контроль уровня pH в воде проводили с помощью pH-метра Hanna HI 2210.

Концентрацию кислорода измеряли с помощью оксигметра ССО-505 «Elementron». Содержание ионов аммония, нитриты и нитраты определяли с помощью аквариумных экспресс-тестов НИЛПА «НеваТропик». Используя систему капиллярного электрофореза «Капель-104Т», оснащенного кварцевым капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, эффективная длина 50 см), определяли содержание сульфатов, фосфатов и хлоридов в аквариумной воде каждой исследуемой группы. Пробы в соответствии с требованиями методики были проанализированы при 20 °С и длине волны 254 и 374 нм в течение 24 часов после отбора. Перед анализом пробы центрифугировали в течение 5 мин при 5000 g. После регистрации электрофореграммы пики были идентифицированы с применением программного обеспечения по ТУ 4215-023-20506233-2006. Концентрацию определяемых в воде анионов вычисляли по градуировочному графику, построенному с помощью стандартных растворов.

Содержание основных катионов (Na, Ca, K, Mg) и меди в аквариумной воде определяли масс-спектральным методом, используя прибор XSeries-2 ICP-MS (Thermo) [Слуковский, Полякова, 2017]. Отбор проб воды для определения содержания в ней меди проводили перед заменой воды, т. е. спустя сутки после добавления соли. Основные показатели воды в аквариумах представлены в таблице.

Определение содержания меди в тканях моллюска

Для определения количества аккумулярованной меди в моллюсках по окончании эксперимента из каждого аквариума брали двух моллюсков, отделяли мягкие ткани от раковины и после глубокой заморозки при –80 °С сушили с помощью лиофильной сушки FreeZone (Labconco). Помимо этого, в качестве контрольной точки взяли моллюска (n=1) сразу после вылова из водоема.

Высушенные образцы массой 0,1 г разлагали смесью кислот в открытой системе [Слуковский, 2015]. Образцы помещали в тefлоновые стаканы, добавляли 0,1 мл раствора, содержащего 8 мкг/л 161 Dy (контроль химического выхода при проведении процедуры разложения образцов), смачивали несколькими каплями деионизованной воды. Затем добавляли 0,5 мл 70% HClO₄ (Supratur, Merck), 3 мл HF, 0,5 мл HNO₃ и выпаривали до появления интенсивных белых паров. Кислоты HF, HNO₃, HCl были подвергнуты дополнительной очистке в перегонном аппарате PTFE/PFA Subboiling

Ecol R. Стаканы охлаждали, их стенки обмывали водой и раствор снова упаривали до влажных солей. Затем добавляли 2 мл HCl и 0,2 мл 0,1М раствора H₃BO₃ и упаривали до объема 0,5–0,7 мл. Полученные растворы переносили в полиэтиленовые бюксы, разбавляли деионизованной водой до объема 20 мл. Далее образцы разбавляли в 20 раз и определяли в них содержание меди масс-спектральным методом на приборе XSeries-2 ICP-MS.

Биохимический анализ

После завершения эксперимента моллюсков извлекали из аквариума, вскрывали и вырезали пищеварительную железу. Непосредственно после изъятия ткани были заморожены в жидком азоте и хранились при температуре –80 °С до анализа. В день исследования замороженные образцы пищеварительной железы массой 0,1–0,4 г гомогенизировали с помощью гомогенизатора Digital Disruptor Genie в 50 мМ буферном растворе Трис-HCl (pH 7,5) при 5-кратном разбавлении. Гомогенат центрифугировали при 60 000 g в течение 1 часа при 4 °С на центрифуге Beckman Coulter Allegra 64R. Полученный супернатант использовали для определения биохимических показателей.

Активность глутатион-S-трансферазы (GST) определяли по скорости связывания восстановленного глутатиона (GSH) с субстратом 1-хлор-2,4-динитробензолом (CDNB) [Habis et al., 1974]. В лунку планшета вносили 0,225 мкл реакционной смеси, содержавшей 1 мМ CDNB и 1 мМ GSH в 0,125 М фосфатном буфере (pH 6,5). Реакцию начинали добавлением 0,025 мкл раствора гомогената. Увеличение оптической плотности раствора при длине волны 340 нм фиксировали непрерывно в течение пяти минут при 25 °С с помощью планшетного ридера CLARIOstar Basic Unit (BMG Labtech). Относительную активность фермента в тканях рыб представляли как количество μМ продукта реакции, образовавшихся за минуту, в пересчете на мг растворимого белка в ткани (μМ/мг белка*мин).

Активность каталазы (CAT) определяли согласно Beers и Sizer [1952] с модификациями. Для определения активности фермента использовали заранее приготовленный 0,05 М трис-HCl буфер, pH 7,4. В день анализа готовили реакционную смесь, которая содержала 25 мМ перекиси водорода в 0,05 М фосфатном буфере. После добавления гомогената разложение перекиси водорода измеряли по уменьшению оптической плотности раствора при длине волны 240 нм в течение 3 минут

Гидрохимическая характеристика аквариумной воды

Hydrochemical description of the aquarium water

Номер аквариума Aquarium No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Конц. вносимого Cu^{2+} , мкг/л Contrib. Cu^{2+} conc., $\mu\text{g/l}$	0	10	50	100	250	0	5	50	100	250	0	5	50	100	250
Экспозиция опыта, дни Exp. exposure, days	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	7	7	7	7	7
Длит. воздействия, часы Time of exposure, hrs	24	24	24	24	24	72	72	72	72	72	168	168	168	168	168
pH	6,9–7,0	6,9–7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	6,9–7,0	6,9–7,0	6,9–7,0	7,2	7,3	7,0	6,9	7,0	7,2
Темп. воды, °C Water temp., °C	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1
Конц. кислорода, мг/л Oxygen conc., mg/l	7,0 ± 0,1	7,8 ± 0,5	7,1 ± 0,1	7,7 ± 0,4	7,0	7,1 ± 0,3	7,2 ± 0,3	7,6 ± 0,6	7,4 ± 0,3	7,1 ± 0,3	7,2 ± 0,3	7,6 ± 0,6	7,2 ± 0,3	7,1 ± 0,1	7,1 ± 0,3
Конц. NO_2^- , мг/л NO_2^- conc., mg/l	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1
Конц. NO_3^- , мг/л NO_3^- conc., mg/l	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5	≤ 5
Конц. NH_4^+ , мг/л NH_4^+ conc., mg/l	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0
Конц. SO_4^{2-} , мг/л SO_4^{2-} conc., mg/l	12,81 ± 1,28	13,01 ± 1,3	13,01 ± 1,3	12,59 ± 1,26	13,47 ± 1,35	16,5 ± 1,7	16,3 ± 1,6	16,6 ± 1,7	16,5 ± 1,7	16,6 ± 1,7	16,1 ± 1,6	16,3 ± 1,6	16,2 ± 1,6	16,0 ± 1,6	16,3 ± 1,6
Конц. Cl ⁻ , мг/л Cl ⁻ conc., mg/l	4,54 ± 1,09	5,35 ± 0,54	5,35 ± 0,54	5,31 ± 0,53	5,77 ± 0,58	6,1 ± 0,6	5,6 ± 0,6	5,9 ± 0,6	5,3 ± 0,5	6,3 ± 0,6	5,9 ± 0,6	6,2 ± 0,6	6,3 ± 0,6	5,9 ± 0,6	6,1 ± 0,6
Конц. PO_4^{3-} , мг/л PO_4^{3-} conc., mg/l	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25
Конц. HCO_3^- , мг/л HCO_3^- conc., mg/l	17,7 ± 3,7	17,7 ± 3,7	20,7 ± 4,3	17,7 ± 3,7	17,7 ± 3,7	17,6 ± 3,7	20,5 ± 4,3	17,7 ± 3,7	17,6 ± 3,7	20,5 ± 4,3	17,6 ± 3,7	17,6 ± 3,7	20,5 ± 4,3	26,4 ± 5,5	38,1 ± 4,6
Конц. Mg, мг/л Mg conc., mg/l	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,04
Конц. Ca, мг/л Ca conc., mg/l	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21	16 ± 0,21
Конц. Cu, мг/л Cu conc., mg/l	1,54	2,12	9,40	10,39	23,42	3,01	4,14	13,07	20,78	47,83	2,32	5,03	19,54	39,10	89,84

при 25 °С. Относительную активность фермента выражали как μM перекиси водорода/мг белка*мин.

Концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) определяли согласно методике Hissin и Hilf [1976] с модификациями. Растворимые белки гомогената осаждали с помощью трихлоруксусной кислоты (конечная конц. 5 %). Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием при 2500 g в течение 15 мин. Полученный супернатант нейтрализовали до pH 8,5 с помощью 5 NNaOH, затем добавляли 0,4 M трис-HCl буфер (pH 8,5), содержащий 5 mM EDTA (Sigma-Aldrich). Затем в реакционную смесь добавляли 0,01% раствор ортофталевого альдегида (Sigma-Aldrich) в метаноле, приготовленный непосредственно перед использованием. После перемешивания смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин и затем измеряли ее флуоресценцию (E_m – 420 нм, E_x – 350 нм) при 25 °С. Концентрацию глутатиона вычисляли согласно калибровочному графику, построенному по результатам измерений растворов с разной концентрацией GSH (Sigma-Aldrich) в 0,4 M трис-HCl буфере (pH 8,5) с добавлением 5 mM EDTA. Относительную концентрацию глутатиона выражали как мкг GSH/мг белка.

Концентрацию белка определяли в супернатанте спектрофотометрически при 26 °С, по величине поглощения при 220 нм (длина волны поглощения пептидных связей) [Noble, Bailey, 2009; Суховская и др., 2010].

Статистическая обработка данных

Различия между выборками оценивались с помощью непараметрического однофакторного анализа (PERMANOVA). Апостериорный анализ осуществляли с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни. Обработка данных проводилась с использованием пакета программ Excel и Past 3. Анализ корреляций между исследуемыми показателями осуществляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Данные на рисунках и в таблице представлены в виде медианы \pm половина межквартильного размаха. Достоверными различия считались при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Во время эксперимента концентрация кислорода, температура, pH воды и содержание в воде биогенных соединений (аммиак, нитриты, нитраты, фосфаты), основных анионов

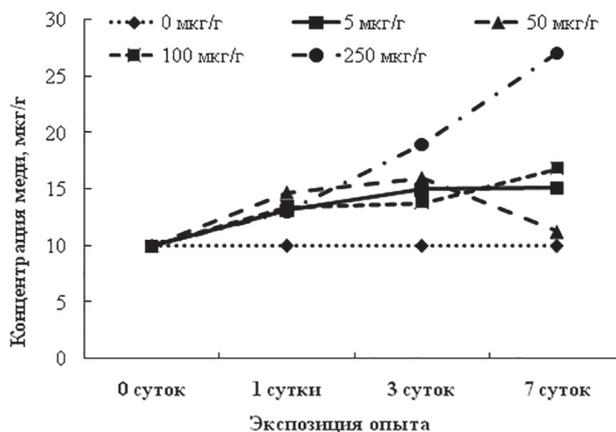


Рис. 1. Содержание ионов меди в пищеварительной железе двусторчатого моллюска *Anodonta cygnea*:

по оси ординат – концентрация меди в гепатопанкреасе моллюска мкг/г

Fig. 1. Content of copper ions in the digestive gland of the mussel *Anodonta cygnea*:

along the ordinate axis – the concentration of copper in the hepatopancreas of the mussel, $\mu\text{g/g}$

(сульфаты, фосфаты, хлориды, гидрокарбонаты) и катионов (Ca, Mg) варьировали не более чем на 10 % (табл.). Количество дополнительных хлорид-ионов, которые вносили в воду в составе хлорида меди, было незначительным (4,5–6,0 мкг/л) и составляло 0,1–1,0 % от фоновой концентрации хлорид-ионов в аквариумной воде (табл.).

Исследование содержания меди в мягких тканях тела показало, что моллюски аккумулируют этот металл из воды. Накопление меди в ткани зависело от концентрации ионов меди в воде (коэффициент корреляции $r = 0,86$), а также от длительности воздействия ($r = 0,52$) (рис. 1). Несмотря на поступление меди в организм, животные в аквариумах со всеми протестированными концентрациями не умирали и продолжали активно фильтровать.

Самая высокая скорость накопления металла в тканях моллюска, достигшая максимума на 7-е сутки эксперимента, отмечена у беззубки из аквариума с наибольшей концентрацией металла в воде (250 мкг/л). При этом у моллюсков из аквариумов, в которые добавляли более низкие концентрации меди (5, 50 и 100 мкг/л), значительных различий в скорости накопления металла в тканях выявлено не было. Более того, в пищеварительной железе этих моллюсков после кратковременного увеличения концентрации меди в конце первых суток экспозиции аккумуляция металла резко замедлялась или даже происходило уменьшение концентрации загрязнителя (при добавлении 50 мкг Cu^{2+} /л на 7-е сутки). Похожая динамика аккумуляции

меди была показана в гепатопанкреасе мидий *Mytilus galloprovincialis*: очень медленное накопление металла происходит из воды с концентрацией меди 0,2–20 мг Cu^{2+} /л, тогда как при воздействии 50 мг/л Cu^{2+} накопление Cu резко возрастает [Peric et al., 2017].

Замедление аккумуляции меди может свидетельствовать о наличии у *A. cygnea* пути активного выведения ионов меди из организма, который нарушается при воздействии избыточных концентраций меди. Возможные пути экскреции меди у моллюсков изучены плохо. Отмечают усиление секреции слизи у моллюсков, подверженных умеренным дозам металла, однако анализы элементного состава слизи отсутствуют [Sze, Lee, 1995; Vosloo et al., 2012]. Вероятность выведения тяжелых металлов с фекалиями, а также через почки и железы, вырабатывающие биссусные нити, была показана у мидий, однако для меди этот механизм не изучался [George et al., 1976, 1982]. Кроме того, известно, что присутствие органических хелатов в водном растворе заметно увеличивает выживаемость организмов, а присутствие в воде комплексообразующих агентов значительно снижает токсичность меди. Водопроводная вода, которая была использована в нашем эксперименте, содержала минимальное количество органических соединений. Следовательно, ионы меди, добавленные в нее, находились в наиболее токсичной форме, в отличие от меди, попадающей в природную воду.

Полученные результаты и их сравнение с данными литературы свидетельствуют о том, что эффективность поглощения меди у двустворчатых моллюсков зависит от количества растворенного металла и от формы, в которой он находится в воде, от видовой принадлежности живого организма, а также, как уже было показано ранее, от скорости фильтрации, зависящей от температуры среды [Cosson et al., 2008].

Биохимические показатели в гепатопанкреасе *A. cygnea*

Известно, что медь, как металл с переходной валентностью, участвует в окислительно-восстановительной реакции Фентона, источника опасных гидроксильных радикалов, провоцирующих окислительный стресс. Окислительный стресс, в свою очередь, означает запуск каскада окисления липидов биомембран, которое вызывает серьезное нарушение работы клетки [Regoli, Giuliani, 2014]. Также медь имеет высокое сродство к тиольным группам белков и оказывает ингибирующее действие на различные

ферменты, что приводит к негативным последствиям на клеточном уровне. Оба эти свойства меди в первую очередь должны отражаться на показателях работы антиоксидантной системы (АОС), в том числе активности ферментов GST и CAT. Например, у морских беспозвоночных *Ruditapes decussates* [Geret et al., 2002] и *M. galloprovincialis* [Canesi et al., 1998] под воздействием меди (0–25 и 60 мкг/л соответственно) изменялась активность антиоксидантных ферментов, таких как SOD, CAT и GPx. В жабрах моллюсков после 1, 3, 7, 14, 21 и 28 дней воздействия Cu отмечались индукция металлотионеинов и увеличение малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов. Металлотионеины являются основным механизмом детоксикации микроэлементов (включая Cu) у животных [Wang, Rainbow, 2010]. Они связывают свободные металлы, тем самым снижая их внутриклеточные концентрации и предотвращая нежелательные взаимодействия с другими клеточными компонентами [Klaassen et al., 1999; Wang, Rainbow, 2010].

У *M. galloprovincialis* при действии меди в концентрации 40 мкг/л также обнаружено усиление интенсивности перекисного окисления липидов [Viarengo et al., 1993] и изменения в содержании низкомолекулярного антиоксиданта – тиолсодержащего пептида глутатиона [Regoli, Principato, 1995]. У мидий *Mytilus edulis* после кратковременного воздействия меди в той же концентрации обнаружили изменение транскрипции другого низкомолекулярного тиолсодержащего пептида металлотионеина [Dondero et al., 2005; Zorita et al., 2007].

Известно, что у моллюсков медь в первую очередь накапливается в пищеварительной железе [Marigómez et al., 2002]. На рис. 2 представлены графики изменения активности GST и CAT и содержания GSH в гепатопанкреасе беззубки через 1, 3 и 7 суток от начала эксперимента по добавлению в аквариумы разных концентраций меди.

Спустя сутки после начала воздействия достоверные изменения выявлены в содержании восстановленного глутатиона. Его концентрация в гепатопанкреасе понижалась по сравнению с контрольными значениями при действии 50 и 250 мкг/л меди. Данные изменения, вероятно, вызваны связыванием меди с SH-группами GSH, что является одним из основных механизмов обезвреживания тяжелых металлов в клетке. Уже на третьи сутки воздействия воды с добавлением 50 и 100 мкг/л меди наблюдалось повышение уровня GSH, вероятно, за счет компенсаторного усиления синтеза этого пептида. Изменение уровня GSH в гепатопанкреа-

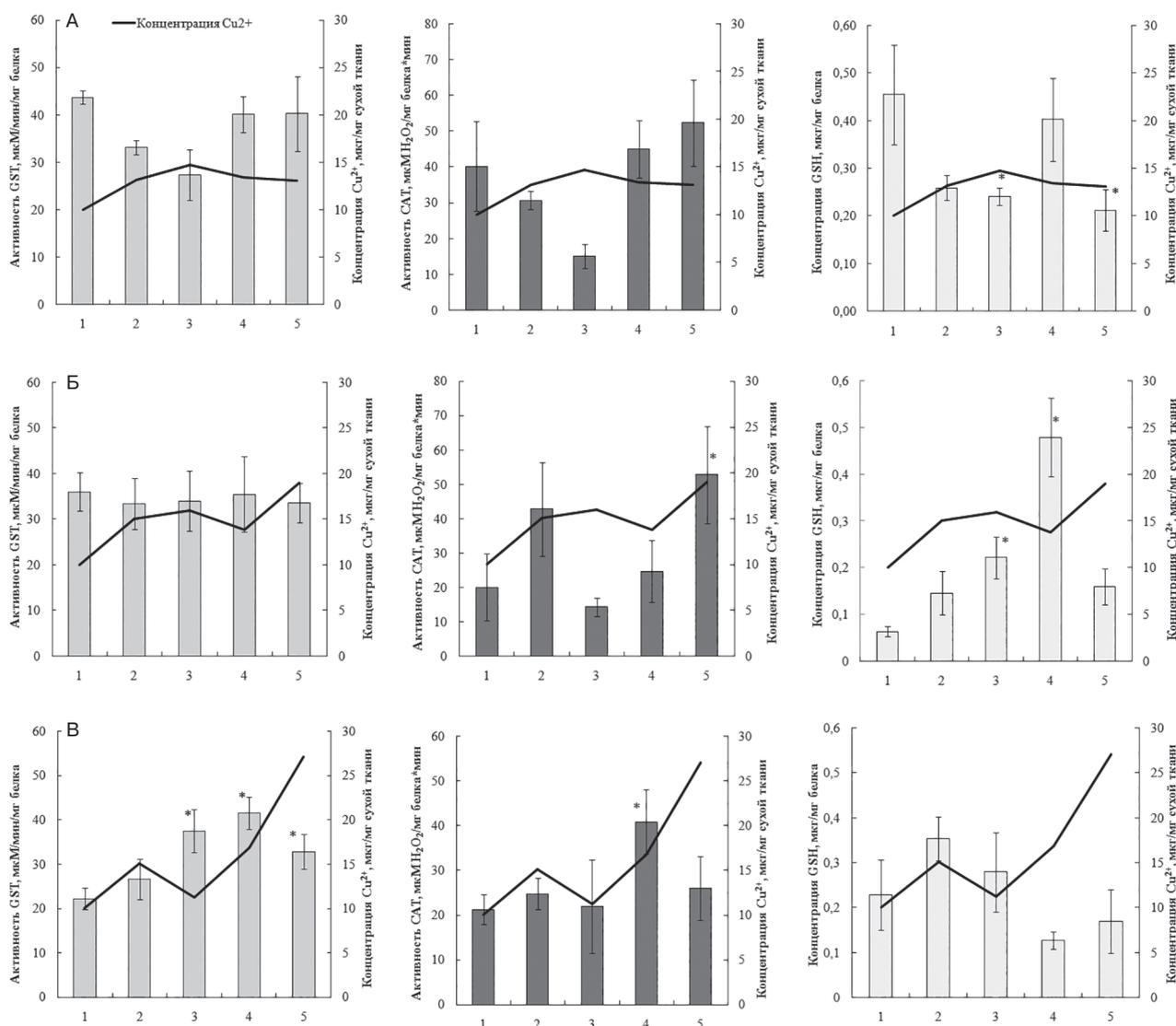


Рис. 2. Активность глутатион-S-трансферазы и каталазы и концентрация GSH в гепатопанкреасе двустворчатых моллюсков *A. cygnea* при добавлении соли меди (II) с экспозицией опыта 1 (А), 3 (Б) и 7 (В) суток:

по оси абсцисс: маркировка аквариума в зависимости от количества добавленной меди (1 – 0, 2 – 5, 3 – 50, 4 – 100, 5 – 250 мкг/л); * – статистически значимые различия по отношению к моллюскам из аквариума 1

Fig. 2. Activity of glutathione-S-transferase and catalase and GSH concentration in the hepatopancreas of the mussels *A. cygnea* in the presence of copper (II) salt with an exposure of 1 (A), 3 (Б), and 7 (B) days:

along the abscissa: marking of the aquarium depending on the amount of added copper (1 – 0, 2 – 5, 3 – 50, 4 – 100, 5 – 250 µg/l); * – statistically significant differences in relation to the mussels from aquarium 1

се уже через сутки от начала эксперимента подтверждает участие этого трипептида в первом эшелоне защиты от тяжелых металлов.

Активность GST на первые и третьи сутки оставалась на уровне контроля во всех аквариумах. Известно, что отсутствие повышения активности GST в пищеварительной железе при действии металла (рис. 2, А, Б) может быть связано с ингибированием GR либо с транскрипцией гена GST- π [Hoarau et al., 2006]. На седьмые сутки наблюдали активацию этого фермента в пищеварительной железе моллю-

сков из аквариумов, в которые добавляли медь в концентрации 50, 100 и 250 мкг/л по сравнению с аквариумом № 1 (0 мкг/л Cu^{2+}) (рис. 2, В).

Активность CAT в пищеварительной железе беззубок также не изменялась при низких концентрациях меди в воде по сравнению с моллюсками из контроля, и только при самой высокой из протестированных концентраций и длительной экспозиции (250 мкг/л на 3-и сутки и 100 мкг/л на 7-е сутки) активность этого фермента повышалась. Кроме того, можно отметить снижение активности CAT на 7-е сутки

у моллюсков из аквариума, в который добавляли 250 мкг/л ионов меди, по сравнению с животными из этой же группы через 1 и 3 суток. Снижение активности САТ у моллюсков может быть следствием структурных изменений белков, в том числе самого фермента [Yan et al., 2007].

Таким образом, длительное воздействие повышенных концентраций меди приводит к адаптивному изменению активности ферментов АОЗ у беззубки, направленному на обезвреживание продуктов окислительных реакций. При этом такой ответ занимает довольно много времени, так как требует синтеза новых молекул белка, который происходит через регуляцию активности соответствующих генов.

Заключение

В целом изменения параметров исследованных компонентов АОС можно охарактеризовать как умеренные. Статистический анализ не выявил достоверных корреляций между концентрациями меди в воде и изменениями в активности GST и САТ и концентрацией GSH. Показано, что ионы меди в небольших количествах (на один-два порядка ниже ПДК) не оказывают индуцирующего действия на компоненты АОС и базальный уровень антиоксидантов (САТ, GST и GSH) оказался достаточным для обезвреживания производных метаболизма меди.

Показано, что при воздействии концентраций меди в воде в диапазоне, характерном для большинства природных пресноводных водоемов России (1–100 мкг/л), происходит очень медленное накопление меди в тканях *A. sуглеа*.

В свою очередь, накопление металла в концентрациях, превышающих фоновые значения, со временем линейно возрастает. Таким образом, скорость накопления увеличивается с повышением концентрации загрязнителя, что потенциально создает угрозу не только для самих моллюсков, но и для консументов, находящихся выше по пищевой цепи, в том числе для человека. Изменения в активности ферментов АОС (САТ и GST) были отмечены в основном на седьмые сутки эксперимента при самых высоких из протестированных концентрациях меди. Отмеченные на 7-е сутки изменения активности ферментов при концентрации Cu^{2+} 250 мкг/л позволяют предположить, что более длительное действие меди, даже в концентрациях ниже установленного ПДК для водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (ПДК_{вп}) и в 100 раз выше ПДК_{вп}, обладает кумулятивным эффектом, который в дальнейшем может иметь негативные последствия.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0076) и при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-01431_а.

Литература

Государственный доклад «О состоянии и использовании водных ресурсов Российской Федерации в 2017 году». М.: НИИ-Природа, 2018. 298 с.

Даувальтер В. А., Кашулин Н. А. Изменение концентраций никеля и меди в поверхностных слоях донных отложений оз. Имандра за последние полвека // Вестник МГТУ. 2015. Т. 18, № 2. С. 307–321.

Лукьянова О. Н. Молекулярные биомаркеры. Владивосток: ДВГАЭУ, 2001. 196 с.

Мишукова Т. Г., Осипов А. А., Сальников И. А. Определение содержания микроэлементов в питьевых водах Оренбургской области // Вестник Оренбургского гос. университета. 2015. Т. 10, № 185. С. 303–307

Моисеенко Т. И., Кудрявцева Л. Н., Гашкина Н. А. Рассеянные элементы в поверхностных водах суши: технофильность, биоаккумуляция и экотоксикология. М.: Наука, 2006. 261 с.

Озера Карелии: Справочник / Ред. Н. Н. Филатов, В. И. Кухарев. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 464 с.

Приказ от 13 декабря 2016 года № 552 «Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (с изменениями на 12 октября 2018 года)» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации // Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации [Электронный ресурс]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/420389120> (дата обращения 15.11.2019).

Слуковский З. И. Нормирование по литию концентраций тяжелых металлов в донных отложениях озер Ладожское и Четырехверстное (Республика Карелия) // Химия в интересах устойчивого развития. 2015. Т. 23, № 4. С. 397–408. doi: 10.15372/KhUR20150409

Слуковский З. И., Полякова Т. Н. Анализ накопления тяжелых металлов в организме олигохет из речных донных отложений урбанизированной среды // Биология внутренних вод. 2017. № 3. С. 73–82. doi: 10.7868/S032096521703010X

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 Брэдфорд // Труды КарНЦ РАН. 2010. № 2. С. 68–71.

Чуйко Г. М. Биомаркеры в гидроэкологической: принципы, методы и методология, практика использования // Экологический мониторинг. Ч. VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: учебное пособие / Ред. Д. Б. Гелашви-

ли, Г. В. Шурганова. Нижний Новгород: ННГУ, 2014. С. 309–326.

Шилова Н. А. Влияние тяжелых металлов на представителей пресноводного фито- и зоопланктона в условиях засоления: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2014. 133 с.

Ahsanullah M., Williams A. R. Sublethal effects and bioaccumulation of cadmium, chromium, copper and zinc in the marine amphipod *Allorchestes compressa* // Mar. Biol. 1991. Vol. 108. P. 59–65. doi: 10.1007/BF01313471

Beers R. F. Jr., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase // Biol. Chem. 1952. Vol. 195, no. 1. P. 133–140.

Cajaraville M. P., Bebianno M. J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach // Sci. Total. Environ. 2000. Vol. 247, no. 2–3. P. 295–311. doi: 10.1016/S0048-9697(99)00499-4

Canesi L., Ciacci C., Fabbri R., Marcomini A., Pojana G., Gallo G. Bivalve mollusks as a unique target group for nanoparticle toxicity // Mar. Environ. Res. 2012. Vol. 76. P. 16–21. doi: 10.1016/j.marenvres.2011.06.005

Canesi L., Malatesta M., Battistelli S., Gallo G., Gazzanelli G. Identification of epidermal growth factor receptors by immunoelectron microscopy in isolated mussel digestive gland cells // Abstracts 19th Conference of European Comparative Endocrinologists (Nijmegen, The Netherlands, September 1–5, 1998).

Chapman P. M. Environmental risks of inorganic metals and metalloids: A continuing, evolving scientific odyssey // Human Ecol. Risk Assess. 2008. Vol. 14, no. 1. P. 5–40. doi: 10.1080/10807030701790272

Conradi M., Depledge M. H. Population responses of the marine amphipod *Corophium volutator* (Pallas, 1766) to copper // Aquat. Toxicol. 1998. Vol. 44. P. 31–45. doi: 10.1016/S0166-445X(98)00069-1

Cosson R. P., Thiébaud E., Company R., Castrec-Rouelle M., Colaço A., Martins I., Sarradin P. M., Bebianno M. J. Spatial variation of metal bioaccumulation in the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus* // Mar. Environ. Res. 2008. Vol. 65, no. 5. P. 405–415. doi: 10.1016/j.marenvres.2008.01.005

Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council // Official J. of the European Union. 2008. Vol. L 348. P. 84–97.

Dondero F., Piacentini L., Banni M., Rebelo M., Burlando B., Viarengo A. Quantitative PCR analysis of two molluscan metallothionein genes unveils differential expression and regulation // Gene. 2005. Vol. 345, no. 2. P. 259–270. doi: 10.1016/j.gene.2004.11.031

Duffus J. H. “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. 2002. Vol. 74, no. 5. P. 793–807.

Foster-Smith R. L. The effect of concentration of suspension of the filtration rates and pseudofaecal pro-

duction for *Mytilus edulis* L., *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pullastra* (Montagu) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1975. Vol. 17. P. 1–22. doi: 10.1016/0022-0981(75)90075

George S. G., Coombs T. L., Pirie B. J. S. Characterization of metal-containing granules from the kidney of the common mussel, *Mytilus edulis* // Biochim. Biophys. Acta (BBA) – General Subjects. 1982. Vol. 716, no. 1. P. 61–71. doi: 10.1016/0304-4165(82)90203-3

George S. G., Pirie B. J. S., Coombs T. L. The kinetics of accumulation and excretion of ferric hydroxide in *Mytilus edulis* (L.) and its distribution in the tissues // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1976. Vol. 23, no. 1. P. 71–84. doi: 10.1016/0022-0981(76)90086-1

Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M. J. Effects of cadmium on anti-oxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam, *Ruditapes decussates* // Biomarkers. 2002. Vol. 7, no. 3. P. 242–256.

Guéguen M., Amiard J. C., Arnich N., Badot P. M., Claisse D., Guérin T., Vernoux J. P. Shellfish and residual chemical contaminants: hazards, monitoring, and health risk assessment along French coasts // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2011. Vol. 213. P. 55–111. doi: 10.1007/978-1-4419-9860-6_3

Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. 1974. Vol. 249, no. 22. P. 7130–7139.

Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // Anal. Biochem. 1976. Vol. 74, no. 1. P. 214–226.

Hoarau P., Damiens G., Roméo M., Gnassia-Barelli M., Bebianno M. J. Cloning and expression of a GST-pi gene in *Mytilus galloprovincialis*. Attempt to use the GST-pi transcript as a biomarker of pollution // Comp. Biochem. Physiol. 2006. Vol. 143. P. 196–203.

Huggett R. J., Kimerle R. A., Mehrle P. M., Bergman H. L. Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. FL, Boca Raton: Lewis Publ., 1992.

Klaassen C. D., Liu J., Choudhuri S. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1999. Vol. 39. P. 267–294.

Larsen B. K., Pörtner H. O., Jensen F. B. Extra- and intracellular acid-base balance and ionic regulation in cod (*Gadus morhua*) during combined and isolated exposures to hypercapnia and copper // Mar. Biol. 1997. Vol. 128. P. 337–346. doi: 10.1007/s002270050099

Lyons B. P., Thain J. E., Stentiford G. D., Hylland K., Davies I. M., Vethaak A. D. Using biological effects tools to define Good Environmental Status under the European Union Marine Strategy Framework Directive // Mar. Pollut. Bull. 2010. Vol. 60, no. 10. P. 1647–1651. doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.06.005

Lysenko L., Sukhovskaya I., Borvinskaya E., Krupnova M., Kantserova N., Bakhmet I., Nemova N. Detoxification and protein quality control markers in the mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus) exposed to crude oil: Salinity-induced modulation // Estuar. Coast. Shelf Sci. 2015. Vol. 167. P. 220–227.

March F. A., Dwyer F. J., Augspurger T., Ingersoll C. G., Wang N., Mebane C. A. An evaluation

of freshwater mussel toxicity data in the derivation of water quality guidance and standards for copper // *Environ. Toxicol. Chem.* 2007. Vol. 26. P. 2066–2074. doi: 10.1897/06-560R.1

Marigomez I., Soto M., Cajaraville M. P., Angulo E., Giamberini L. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs // *Microsc. Res. Tech.* 2002. Vol. 56. P. 358–392. doi: 10.1002/jemt.10040

Noble J. E., Bailey M. A. Quantitation of protein // *Methods Enzymol.* 2009. Vol. 463. P. 73–95. doi: 10.1016/S0076-6879(09)63008-1

Parry H. E., Pipe R. K. Interactive effects of temperature and copper on immunocompetence and disease susceptibility in mussels (*Mytilus edulis*) // *Aquat. Toxicol.* 2004. Vol. 69. P. 311–325. doi: 10.1016/j.aquatox.2004.06.003

Perić L., Nerlović V., Žurga P., Žilić L., Ramšak A. Variations of biomarkers response in mussels *Mytilus galloprovincialis* to low, moderate and high concentrations of organic chemicals and metals // *Chemosphere.* 2017. Vol. 174. P. 554–562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.01.138

Radenac G., Miramand P., Tardy J. Search for impact of a dredged material disposal site on growth and metal contamination of *Mytilus edulis* L. in Charente Maritime (France) // *Mar. Pollut. Bull.* 1997. Vol. 34. P. 721–729. doi: 10.1016/S0025-326X(97)00011-8

Rao D. G. V. P., Khan M. A. Q. Zebra mussels: Enhancement of copper toxicity by high temperature and its relationship with respiration and metabolism // *Water Environ. Res.* 2000. Vol. 72. P. 175–178. doi: 10.2175/106143000X137257

Regoli F., Giuliani M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms // *Mar. Environ. Res.* 2014. Vol. 93. P. 106–117. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.07.006

Regoli F., Principato G. Glutathione, Glutathione-Dependant and Antioxidant Enzymes in Mussel, *Mytilus Galloprovincialis* Exposed to Metals in Different Field and Laboratory Condition. Implications for a Proper Use of Biochemical Markers // *Aquatic Toxicology.* 1995. Vol. 31. P. 143–164. doi: 10.1016/0166-445X(94)00064-W

Sinicropi M. S., Amantea D., Caruso A., Saturnino C. Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning // *Arch. Toxicol.* 2010. Vol. 84, no. 7. P. 501–520. doi: 10.1007/s00204-010-0544-6

Syversen T., Kaur P. The toxicology of mercury and its compounds // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2012. Vol. 26, no. 4. P. 215–226. doi: 10.1016/j.jtemb.2012.02.004

Sze P. W. C., Lee S. Y. Effects of chronic copper exposure on the green mussel *Perna viridis* // *Mar. Biol.* 2000. Vol. 137. P. 379–392. doi: 10.1007/s002270000350

Sze P. W. C., Lee S. Y. The potential role of mucus in the depuration of copper from the mussels *Perna viridis* (L.) and *Septifer virgatus* (Wiegmann) // *Marine Pollution Bull.* 1995. Vol. 31, no. 4–12. P. 390–393. doi: 10.1016/0025-326X(95)00140-1

Vega-López A., Ayala-López G., Posadas-Espadas B. P., Olivares-Rubio H. F., Dzul-Caamal R. Relations of oxidative stress in freshwater phytoplankton with heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2013. Vol. 165, no. 4. P. 498–507. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.01.026

Viarengo A., Mancinelli G., Pertica M., Fabbri R., Orunesu M. Effects of heavy metals on the Ca (2+) – ATPase activity present in gill cell plasma-membrane of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) // *Comp. Biochem. Physiol. C.* 1993. Vol. 106, no. 3. P. 655–660. doi: 10.1016/0742-8413(93)90223-8

Viarengo A., Pertica M., Mancinelli G., Burlando B., Canesi L., Orunesu M. In vivo effects of copper on the calcium homeostasis mechanisms of mussel gill cell plasma membranes // *Comp. Biochem. Physiol. C.* 1996. Vol. 113. P. 421–425. doi: 10.1016/0742-8413(96)00004-7

Vosloo D., Sara J., Vosloo A. Acute responses of brown mussel (*Perna perna*) exposed to sub-lethal copper levels: integration of physiological and cellular responses // *Aquat. Toxicol.* 2012. Vol. 15, no. 106–107. P. 1–8. doi: 10.1016/j.aquatox.2011.10.001

Wang N., Ingersoll C. G., Greer I. E., Hardesty D. K., Ivey C. D., Kunz J. L., Brumbaugh W. G., Dwyer F. J., Roberts A. D., Augspurger T., Kane C. M., Neves R. J., Barnhart M. C. Chronic toxicity of copper and ammonia to juvenile freshwater mussels (Unionidae) // *Environ. Toxicol. Chem.* 2007. Vol. 26. P. 2048–2056. doi: 10.1897/06-524R.1

Wang W.-X., Rainbow P. S. Significance of metallothioneins in metal accumulation kinetics in marine animals // *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.* 2010. Vol. 152. P. 1–8.

Wang W. X., Pan K., Tan Q. G., Guo L., Simpson C. L. Estuarine pollution of metals in China: science and mitigation // *Environ. Sci. Technol.* 2014. Vol. 48. P. 9975–9976.

Yan B., Wang L., Li Y., Liu N., Wang Q. Effects of cadmium on hepatopancreatic antioxidant enzyme activity in freshwater crab (*Sinopotamon yangtsekiense*) // *Acta Zool. Sin.* 2007. Vol. 53(6). P. 1121–1128.

Zorita I., Bilbao E., Schad A., Cancio I., Soto M., Cajaraville M. P. Tissue- and cell-specific expression of metallothionein genes in cadmium- and copper-exposed mussels analyzed by in situ hybridization and RT-PCR // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007. Vol. 220, no. 2. P. 186–196.

Поступила в редакцию 04.11.2019

References

Chuiko G. M. Biomarkery v gidroekotoksikologii: printsipy, metody i metodologiya, praktika ispol'zovaniya [Biomarkers in hydroecotoxicology: principles,

methods and methodology, practice of use]. *Ekol. monitoring.* Ch. VIII. Sovr. probl. monitoringa presnovodnykh ekosistem: ucheb. posobie [Ecol. monitoring.

Part VIII. Current probl. of monitoring freshwater ecosystems: A Study guide]. Nizhnii Novgorod: NNGU, 2014. P. 309–326.

Dauval'ter V. A., Kashulin N. A. Izmenenie kontsentratsii nikelya i medi v poverkhnostnykh sloyakh donnykh otlozhenii oz. Imandra za poslednie polveka [Changes in concentrations of nickel and copper in the surface layers of sediments of Lake Imandra for the last half century]. *Vestnik MGTU [Vestnik MSTU]*. 2015. Vol. 18, no. 2. P. 307–321.

Gosudarstvennyi doklad "O sostoyanii i ispol'zovanii vodnykh resursov Rossiiskoi Federatsii v 2017 godu" [State report 'On the state and use of water resources of the Russian Federation in 2017']. Moscow: NIA-Priroda, 2018. 298 p.

Luk'yanova O. N. Molekulyarnye biomarkery [Molecular biomarkers]. Vladivostok: DVGAEU, 2001. 196 p.

Mishukova T. G., Osipov A. A., Sal'nikov I. A. Opreделение soderzhaniya mikroelementov v pit'evykh vodakh Orenburgskoi oblasti [Determination of trace elements in drinking waters of the Orenburg Region]. *Vestnik Orenburgskogo gos. univ.* [Proceed. Orenburg St. Univ.]. 2015. Vol. 10, no. 185. P. 303–307.

Moiseenko T. I., Kudryavtseva L. N., Gashkina N. A. Rasseyannye elementy v poverkhnostnykh vodakh su-shii: tekhnofil'nost', bioakkumulyatsiya i ekotoksikologiya [Scattered elements in surface land waters: Technophilicity, bioaccumulation, and ecotoxicology]. Moscow: Nauka, 2006. 261 p.

Ozera Karelii: Spravochnik [Lakes of Karelia: A Reference book]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2013. 464 p.

Prikaz ot 13 dekabrya 2016 goda N 552 "Ob utverzhdenii normativov kachestva vody vodnykh ob'ektov rybokhozyaistvennogo znacheniya, v tom chisle normativov predel'no dopustimyykh kontsentratsii vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh ob'ektov rybokhozyaistvennogo znacheniya (s izmeneniyami na 12 oktyabrya 2018 goda)" [Order No. 552 of December 13, 2016 'On approval of water quality standards for fishery water bodies, including maximum permissible concentrations of harmful substances in the waters of fishery water bodies (as amended on October 12, 2018)']. Ministry of Agriculture of the Russian Federation. *Elektronnyi fond pravovoi inormativno-tekhnicheskoi dokumentatsii* [Electronic fund of legal and regulatory technical documentation]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/420389120> (accessed: 15.11.2019).

Slukovskii Z. I. Normirovanie po litiyu kontsentratsii tyazhelykh metallov v donnykh otlozheniyakh ozer Ladozhscoe i Chetyrekhverstnoe (Respublika Kareliya) [Normalization of the concentrations of heavy metals with respect to lithium in bottom sediments of Lakes Ladoga and Chetyrekhverstnoye (Republic of Karelia)]. *Khimiya v interesakh ustoichivogo razvitiya* [Chemistry for Sustainable Development]. 2015. Vol. 23, no. 4. P. 397–408. doi: 10.15372/KhUR20150409

Slukovskii Z. I., Polyakova T. N. Analiz nakopleniya tyazhelykh metallov v organizme oligokhet iz rechnykh donnykh otlozhenii urbanizirovannoi sredy [Analysis of accumulation of heavy metals from river bottom sediments of the urban environment in the bodies of oligochaetes]. *Biol. vnutr. vod* [Inland Water Biol.]. 2017. Vol. 3. P. 73–82. doi: 10.7868/S032096521703010X

Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Smirnov L. P., Nemova N. N. Sravnitel'nyi analiz metodov opredele-niya kontsentratsii belka – spektrofotometrii v diapazone 200–220 nm i po Bredford [Comparative analysis of the methods for determining protein concentration – spectrophotometry in the 200–220 nm range and the Bradford protein assay]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2010. Vol. 2. P. 68–71.

Shilova N. A. Vliyanie tyazhelykh metallov na predstavitelei presnovodnogo fito- i zooplanktona v usloviyakh zasoleniya [Effect of metal concentration on freshwater phyto – and zooplankton under salinization conditions]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Saratov, 2014. 133 p.

Ahsanullah M., Williams A. R. Sublethal effects and bioaccumulation of cadmium, chromium, copper and zinc in the marine amphipod *Allorchestes compressa*. *Mar. Biol.* 1991. Vol. 108. P. 59–65. doi: 10.1007/BF01313471

Beers R. F. Jr., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biol. Chem.* 1952. Vol. 195, no. 1. P. 133–140.

Cajaraville M. P., Bebianno M. J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci. Total. Environ.* 2000. Vol. 247, no. 2–3. P. 295–311. doi: 10.1016/S0048-9697(99)00499-4

Canesi L., Ciacci C., Fabbri R., Marcomini A., Pojana G., Gallo G. Bivalve mollusks as a unique target group for nanoparticle toxicity. *Mar. Environ. Res.* 2012. Vol. 76. P. 16–21. doi: 10.1016/j.marenvres.2011.06.005

Canesi L., Malatesta M., Battistelli S., Gallo G., Gazzanelli G. Identification of epidermal growth factor receptors by immunoelectron microscopy in isolated mussel digestive gland cells. *Abstracts 19th Conference of European Comparative Endocrinologists* (Nijmegen, The Netherlands, September 1–5, 1998).

Chapman P. M. Environmental risks of inorganic metals and metalloids: A continuing, evolving scientific odyssey. *Human Ecol. Risk Assess.* 2008. Vol. 14, no. 1. P. 5–40. doi: 10.1080/10807030701790272

Conradi M., Depledge M. H. Population responses of the marine amphipod *Corophium volutator* (Pallas, 1766) to copper. *Aquat. Toxicol.* 1998. Vol. 44. P. 31–45. doi: 10.1016/S0166-445X(98)00069-1

Cosson R. P., Thiébaud E., Company R., Castrec-Rouelle M., Colaço A., Martins I., Sarradin P. M., Bebianno M. J. Spatial variation of metal bioaccumulation in the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Mar. Environ. Res.* 2008. Vol. 65, no. 5. P. 405–15. doi: 10.1016/j.marenvres.2008.01.005

Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. *Official J. of the European Union*. 2008. Vol. L 348. P. 84–97.

Dondero F., Piacentini L., Banni M., Rebelo M., Burlando B., Viarengo A. Quantitative PCR analysis of two

molluscan metallothionein genes unveils differential expression and regulation. *Gene*. 2005. Vol. 345, no. 2. P. 259–270. doi: 10.1016/j.gene.2004.11.031

Duffus J. H. "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem*. 2002. Vol. 74, no. 5. P. 793–807.

Foster-Smith R. L. The effect of concentration of suspension of the filtration rates and pseudofaecal production for *Mytilus edulis* L., *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pullastra* (Montagu). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1975. Vol. 17. P. 1–22. doi: 10.1016/0022-0981(75)90075

George S. G., Coombs T. L., Pirie B. J. S. Characterization of metal-containing granules from the kidney of the common mussel, *Mytilus edulis*. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – General Subjects*. 1982. Vol. 716, no. 1. P. 61–71. doi: 10.1016/0304-4165(82)90203-3

George S. G., Pirie B. J. S., Coombs T. L. The kinetics of accumulation and excretion of ferric hydroxide in *Mytilus edulis* (L.) and its distribution in the tissues. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1976. Vol. 23, no. 1. P. 71–84. doi: 10.1016/0022-0981(76)90086-1

Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M. J. Effects of cadmium on anti-oxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam, *Ruditapes decussates*. *Biomarkers*. 2002. Vol. 7, no. 3. P. 242–256.

Guéguen M., Amiard J. C., Arnich N., Badot P. M., Claisse D., Guérin T., Vernoux J. P. Shellfish and residual chemical contaminants: hazards, monitoring, and health risk assessment along French coasts. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 2011. Vol. 213. P. 55–111. doi: 10.1007/978-1-4419-9860-6_3

Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249, no. 22. P. 7130–7139.

Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74, no. 1. P. 214–226.

Hoarau P., Damiens G., Roméo M., Gnassia-Barelli M., Bebianno M. J. Cloning and expression of a GST-pi gene in *Mytilus galloprovincialis*. Attempt to use the GST-pi transcript as a biomarker of pollution. *Comp. Biochem. Physiol.* 2006. Vol. 143. P. 196–203.

Huggett R. J., Kimerle R. A., Mehrle P. M., Bergman H. L. Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. FL, Boca Raton: Lewis Publ., 1992.

Klaassen C. D., Liu J., Choudhuri S. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1999. Vol. 39. P. 267–294.

Larsen B. K., Pörtner H. O., Jensen F. B. Extra- and intracellular acid-base balance and ionic regulation in cod (*Gadus morhua*) during combined and isolated exposures to hypercapnia and copper. *Mar. Biol.* 1997. Vol. 128. P. 337–346. doi: 10.1007/s002270050099

Lyons B. P., Thain J. E., Stentiford G. D., Hylland K., Davies I. M., Vethaak A. D. Using biological effects tools to define Good Environmental Status under the European Union Marine Strategy Framework Directive. *Mar. Pollut. Bull.* 2010. Vol. 60, no. 10. P. 1647–51. doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.06.005

Lysenko L., Sukhovskaya I., Borvinskaya E., Krupnova M., Kantserova N., Bakhmet I., Nemova N. Detoxification and protein quality control markers in the mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus) exposed to crude oil: Salinity-induced modulation. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 2015. Vol. 167. P. 220–227.

March F. A., Dwyer F. J., Augspurger T., Ingersoll C. G., Wang N., Mebane C. A. An evaluation of freshwater mussel toxicity data in the derivation of water quality guidance and standards for copper. *Environ. Toxicol. Chem.* 2007. Vol. 26. P. 2066–2074. doi: 10.1897/06-560R.1

Marigomez I., Soto M., Cajaraville M. P., Angulo E., Giamberini L. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microsc. Res. Tech.* 2002. Vol. 56. P. 358–392. doi: 10.1002/jemt.10040

Noble J. E., Bailey M. A. Quantitation of protein. *Methods Enzymol.* 2009. Vol. 463. P. 73–95. doi: 10.1016/S0076-6879(09)63008-1

Parry H. E., Pipe R. K. Interactive effects of temperature and copper on immunocompetence and disease susceptibility in mussels (*Mytilus edulis*). *Aquat. Toxicol.* 2004. Vol. 69. P. 311–325. doi: 10.1016/j.aquatox.2004.06.003

Perić L., Nerlović V., Žurga P., Žilić L., Ramšak A. Variations of biomarkers response in mussels *Mytilus galloprovincialis* to low, moderate and high concentrations of organic chemicals and metals. *Chemosphere*. 2017. Vol. 174. P. 554–562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.01.138

Radenac G., Miramand P., Tardy J. Search for impact of a dredged material disposal site on growth and metal contamination of *Mytilus edulis* L. in Charente Maritime (France). *Mar. Pollut. Bull.* 1997. Vol. 34. P. 721–729. doi: 10.1016/S0025-326X(97)00011-8

Rao D. G. V. P., Khan M. A. Q. Zebra mussels: Enhancement of copper toxicity by high temperature and its relationship with respiration and metabolism. *Water Environ. Res.* 2000. Vol. 72. P. 175–178. doi: 10.2175/106143000X137257

Regoli F., Giuliani M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Mar. Environ. Res.* 2014. Vol. 93. P. 106–117. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.07.006

Regoli F., Principato G. Glutathione, Glutathione-Dependant and Antioxidant Enzymes in Mussel, *Mytilus Galloprovincialis* Exposed to Metals in Different Field and Laboratory Condition. Implications for a Proper Use of Biochemical Markers. *Aquatic Toxicology*. 1995. Vol. 31. P. 143–164. doi: 10.1016/0166-445X(94)00064-W

Sinicropi M. S., Amantea D., Caruso A., Saturnino C. Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning. *Arch. Toxicol.* 2010. Vol. 84, no. 7. P. 501–20. doi: 10.1007/s00204-010-0544-6

Syversen T., Kaur P. The toxicology of mercury and its compounds. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2012. Vol. 26, no. 4. P. 215–26. doi: 10.1016/j.jtemb.2012.02.004

Sze P. W. C., Lee S. Y. Effects of chronic copper exposure on the green mussel *Perna viridis*.

Mar. Biol. 2000. Vol. 137. P. 379–392. doi: 10.1007/s002270000350

Sze P. W. C., Lee S. Y. The potential role of mucus in the depuration of copper from the mussels *Perna viridis* (L.) and *Septifer virgatus* (Wiegmann). *Marine Pollution Bull.* 1995. Vol. 31, no. 4–12. P. 390–393. doi: 10.1016/0025-326X(95)00140-1

Vega-López A., Ayala-López G., Posadas-Espadas B. P., Olivares-Rubio H. F., Dzul-Caamal R. Relations of oxidative stress in freshwater phytoplankton with heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2013. Vol. 165, no. 4. P. 498–507. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.01.026

Viarengo A., Mancinelli G., Pertica M., Fabbri R., Orunesu M. Effects of heavy metals on the Ca (2+) – ATPase activity present in gill cell plasma-membrane of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 1993. Vol. 106, no. 3. P. 655–660. doi: 10.1016/0742-8413(93)90223-8

Viarengo A., Pertica M., Mancinelli G., Burlando B., Canesi L., Orunesu M. In vivo effects of copper on the calcium homeostasis mechanisms of mussel gill cell plasma membranes. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 1996. Vol. 113. P. 421–425. doi: 10.1016/0742-8413(96)00004-7

Vosloo D., Sara J., Vosloo A. Acute responses of brown mussel (*Perna perna*) exposed to sub-lethal copper levels: integration of physiological and cellular

responses. *Aquat. Toxicol.* 2012. Vol. 15, no. 106–107. P. 1–8. doi: 10.1016/j.aquatox.2011.10.001

Wang N., Ingersoll C. G., Greer I. E., Hardesty D. K., Ivey C. D., Kunz J. L., Brumbaugh W. G., Dwyer F. J., Roberts A. D., Augspurger T., Kane C. M., Neves R. J., Barnhart M. C. Chronic toxicity of copper and ammonia to juvenile freshwater mussels (Unionidae). *Environ. Toxicol. Chem.* 2007. Vol. 26. P. 2048–2056. doi: 10.1897/06-524R.1

Wang W. X., Pan K., Tan Q. G., Guo L., Simpson C. L. Estuarine pollution of metals in China: science and mitigation. *Environ. Sci. Technol.* 2014. Vol. 48. P. 9975–9976.

Wang W.-X., Rainbow P. S. Significance of metallo-thioneins in metal accumulation kinetics in marine animals. *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.* 2010. Vol. 152. P. 1–8.

Yan B., Wang L., Li Y., Liu N., Wang Q. Effects of cadmium on hepatopancreatic antioxidant enzyme activity in freshwater crab (*Sinopotamon yangtsekiense*). *Acta Zool. Sin.* 2007. Vol. 53(6). P. 1121–1128.

Zorita I., Bilbao E., Schad A., Cancio I., Soto M., Cajaraville M. P. Tissue- and cell-specific expression of metallothionein genes in cadmium- and copper-exposed mussels analyzed by in situ hybridization and RT-PCR. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007. Vol. 220, no. 2. P. 186–196.

Received November 04, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Суховская Ирина Викторовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sukhovskaya@inbox.ru
тел.: (8142) 769810

Курпе Станислав Ремасо

студент
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия, 185910
эл. почта: mvteam7@gmail.com

Борвинская Екатерина Витальевна

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: katsu@inbox.ru

Кочнева Альбина Александровна

аспирант
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: kochnevaalbina@gmail.com

CONTRIBUTORS:

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

Kurpe, Stanislav Remaso

Petrozavodsk State University
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Russia
e-mail: mvteam7@gmail.com

Borvinskaya, Ekaterina

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

Kochneva, Albina

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

Фокина Наталья Николаевна

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

Fokina, Natalia

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

УДК 577.115

ОЦЕНКА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ РЫБ ИЗ ОЗЕР СИСТЕМЫ РЕКИ КЕНТИ, РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ

О. Б. Васильева¹, М. А. Назарова², Н. Н. Немова¹

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

² Вологодский государственный университет, Россия

Установлено, что в тканях щуки *Esox lucius* Linnaeus, 1758 и плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758), обитающих в озере Костомукшское, которое является местом захоронения техногенных отходов переработки сырья Костомукшского горно-обогатительного комбината, перекисное окисление липидов протекает активнее, чем у рыб, обитающих ниже по течению реки Кенти. Установлен высокий уровень первичных продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов и диенкетонов в печени плотвы и щуки из хвостохранилища, что отражает активацию начальных этапов пероксидации в тканях рыб при влиянии техногенных стоков Костомукшского ГОКа. Наличие мелкодисперсной взвеси в озере Костомукшском приводит к уменьшению оксигенации жабр плотвы и щуки, что влияет на интенсивность перекисных процессов. У рыб в озере Койвас, наиболее удаленном от предприятия, степень пероксидации тканей наименьшая. Активность перекисных процессов снижается в ряду: жабры – печень – мышцы. Наиболее выраженные различия в содержании продуктов перекисного окисления липидов обнаружены в печени рыб, что, возможно, определяется высокой метаболической и детоксикационной активностью этого органа. Исходя из анализа изученных параметров у двух видов рыб, наиболее устойчивой к техногенному влиянию является щука, что, вероятно всего, объясняется особенностями ее экологии.

Ключевые слова: антропогенное влияние; щука; плотва; перекисное окисление липидов; малоновый диальдегид.

О. В. Vasil'eva, М. А. Nazarova, N. N. Nemova. ESTIMATION OF LIPID PEROXIDATION IN TISSUES OF FISH FROM LAKES OF THE KENTI RIVER SYSTEM, REPUBLIC OF KARELIA

Lipid peroxidation in tissues of pike *Esox lucius* Linnaeus, 1758 and roach *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) from Lake Kostomukshskoe (storing tailings from the Kostomuksha ore mining and processing enterprise) was found to be more intensive than in fish living downstream the Kenti River. The content of lipid peroxidation products in the liver of fish from Lake Koivas was significantly lower than in fish living higher up the Kenti River. This may be due to significant differences in the concentration of ions in these water bodies. A high level of primary lipid peroxidation products – diene conjugates and diene ketones, was detected in the liver of roach and pike from the tailing pond, indicating the activation of the initial stages of peroxidation in fish tissues in response to a high level of minerals from the tailings pond. Among all the studied fish tissues the highest level of lipid peroxidation products was found in gills. This can be explained by the higher degree of oxygenation in this organ and, as a consequence, enhanced oxidation of membrane lipids

in gills. The high mineralization of the Kostomuksha mining plant's tailing dump creates an unusual, hypertonic habitat for freshwater fish. This affects, above all, the functioning of their gills, which regulate the body's water-salt balance. Fine suspended solids in Lake Kostomukshskoe reduce the oxygenation of gills in roach and pike, thus affecting the rate of peroxidation processes. The tissue with the lowest content of lipid peroxidation products was muscles. The activity of peroxidation processes in muscles showed no significant variation among fish from different waterbodies. Fish from Lake Koivas (the farthest away from the industrial source) demonstrated the lowest degree of tissue peroxidation. The activity of peroxidation processes declines in the following sequence: gills-liver-muscles. The most pronounced variation in the content of lipid peroxidation products was found in the liver, presumably due to the high metabolic and detoxification activity of this organ. Based on the analysis of the studied parameters in the two fish species, pike is more resistant to industrial impact, most likely due to the characteristics of its ecology.

Key words: human impact; pike; roach; lipid peroxidation; malondialdehyde.

Введение

Местом захоронения техногенных отходов переработки сырья (хвостов) одного из крупнейших промышленных предприятий Северо-Западного региона России – Костомукшского горно-обогатительного комбината (ГОК) является озеро Костомукшское, что привело к изменению основных физико-химических характеристик этого водоема. В настоящее время вода в озере Костомукшское (хвостохранилище) является высокоминерализованной (свыше 600 мг/л) со слабощелочной реакцией среды, сульфатного класса группы калия с низким содержанием органического вещества и железа, а также характеризуется повышенным уровнем взвешенных в воде частиц (табл. 1) [Биота..., 2012]. Химический состав поступающей в водоем взвеси вследствие выщелачивания различных компонентов непосредственно влияет на химические показатели воды Костомукшского водохранилища и озер, расположенных ниже. Сточные воды Костомукшского ГОКа из озера Костомукшское поступают в ближайшее к хвостохранилищу озеро Окуновое и затем через ряд водоемов – в озеро Койвас, которое находится ниже по течению реки Кенти (рис.). Сток органических и биогенных веществ в водоемы озерно-речной системы реки Кенти незначителен. Эти водоемы служат природным модельным объектом для изучения влияния антропогенного загрязнения на гидробионтов, поскольку все озера находятся в непосредственной близости друг от друга, имеют одинаковое происхождение, но отличаются гидрохимическими и гидрологическими показателями воды (табл. 1). Общая длина исследуемой озерно-речной системы составляет 75 км, она представляет собой каскад из 10 озер, чередующихся с порожистыми участками.

Биоиндикация техногенных воздействий на организмы, обитающие в водоемах с высокой антропогенной активностью, включает исследования, связанные с поиском наиболее информативных критериев оценки состояния гидробионтов. Одним из инструментов такой оценки является характеристика биохимического статуса рыб, который может изменяться в ответ на токсическое воздействие [Биота..., 2012]. К классическим биохимическим показателям состояния животных, которые используются при оценке влияния различных токсикантов на организм, относятся продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), оценить которое можно по накоплению первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) и диенкетонов (Д), а также одного из конечных метаболитов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) [Hochachka, Somero, 2002; Lushchak, 2011]. В данной работе впервые изучены продукты ПОЛ для оценки влияния техногенных стоков Костомукшского ГОКа на биохимический статус тканей щуки *Esox lucius* Linnaeus, 1758 и плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758), которые, по данным ихтиологических наблюдений [Биота..., 2012], относятся к наиболее распространенным видам рыб озерно-речной системы Кенти.

Материалы и методы

Сбор проб органов и тканей щуки *Esox lucius* Linnaeus, 1758 и плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) из трех водоемов – озер Костомукшское, Окуновое и Койвас – проводили в июне. Исследования осуществляли на самцах рыб 3–4 стадии зрелости гонад; их линейно-весовые характеристики, возраст и количество в выборках приведены в табл. 2.

Содержание ДК и Д оценивали, используя методику В. Б. Гаврилова с соавт. [1987]:

Таблица 1. Гидрологические и гидрохимические показатели озер системы р. Кенти

Table 1. Hydrological and hydrochemical indicators of lakes of the Kenti River system

Показатели Index	Водоёмы Lakes		
	Костомукшское Kostomukshskoe	Окунеевое Okunevoe	Койвас Koivas
Площадь зеркала, км ² Lake area, km ²	34,2	0,3	21,4
Площадь водосбора, км ² Catchment area, km ²	68,4	51,0	356,0
Средняя глубина, м Average depth, m	-	2,6	4,1
Максимальная глубина, м Maximum depth, m	25	5,6	21,0
Объем водной массы, млн м ³ Volume of water mass, mln m ³	430	0,86	89,6
Период условного водообмена, сут. Period of conditional water exchange, days	-	15	285
Ca ²⁺ , мг/л Ca ²⁺ , mg/l	40,1	36,7	21,9
Mg ²⁺ , мг/л Mg ²⁺ , mg/l	17,8	14,7	9,3
K ⁺ , мг/л K ⁺ , mg/l	154,5	155,9	91,4
Na ⁺ , мг/л Na ⁺ , mg/l	17,9	20,8	11,7
HCO ₃ ⁻ , мг/л HCO ₃ ⁻ , mg/l	124,8	103,4	61,8
SO ₄ ²⁻ , мг/л SO ₄ ²⁻ , mg/l	270,4	305,6	198,6
Cl ⁻ , мг/л Cl ⁻ , mg/l	6,9	5,6	3,2
Σ ионов, мг/л Σ ions, mg/l	632,4	642,7	397,9
pH	7,6–7,7	7,42	7,05

их экстрагировали смесью гептан : изопропиловый спирт (1 : 1) и затем фотометрировали гептановую фракцию. Концентрацию ДК и Д рассчитывали с учетом разведения с использованием молярного коэффициента. Концентрацию МДА определяли по методике И. Д. Стальной и Т. Г. Гаришвили [1977] путем взаимодействия гомогената тканей исследуемых образцов с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) в кислой среде. Экспозиция опыта составляла 45 минут. Количественное содержание экстрагированных бутанолом ТБК-продуктов оценивали спектрофотометрически при длине волны 352 нм и рассчитывали с учетом разведения и коэффициента пересчета. Концентрацию продуктов ПОЛ выражали в нмоль/г ткани. Обработку данных выполняли статистическими методами, оценку нормальности распределения проводили тестом Колмогорова – Смирнова и Лиллифорса, сравнение двух выборок осуществляли при помощи критерия Стьюдента ($p \leq 0,05$).

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

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что уровень ДК и Д в печени плотвы и щуки из хвостохранилища и озера Окунеевое достоверно не различался и был значительно выше концентрации данных показателей у рыб из озера Койвас (табл. 3, 4). Вероятно, это объясняется высоким уровнем начальных этапов пероксидации в тканях рыб при влиянии техногенных стоков Костомукшского ГОКа, поскольку накопление ДК и Д в тканях гидробионтов отражает раннюю стадию ПОЛ. Концентрация МДА была одинакова в печени рыб из озер Окунеевое и Койвас и при этом ниже, чем у рыб из хвостохранилища. МДА является одним из конечных продуктов ПОЛ, и его уро-

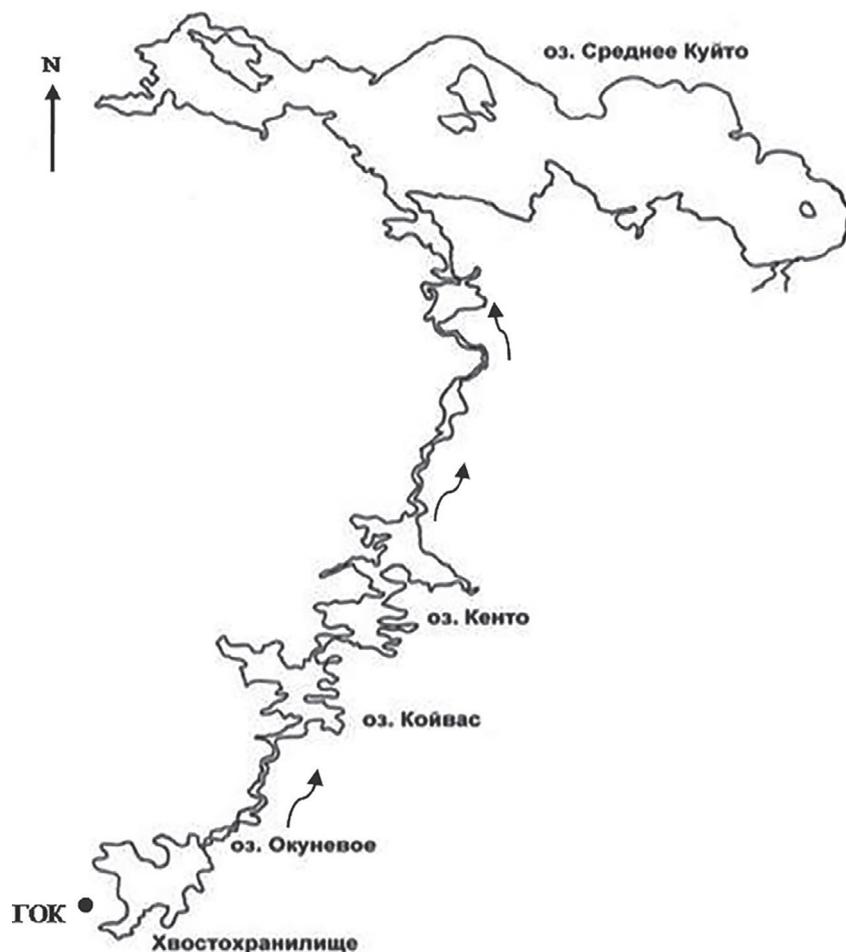


Схема озерно-речной системы Кенти
Map of the lake-river system of the Kenti River

вень в тканях может служить критерием оценки степени интенсивности данных процессов.

Перекисное окисление липидов характеризуется образованием большого числа чрезвычайно реакционноспособных свободных радикалов, оказывающих разрушительное воздействие на биологические структуры, и неконтролируемым развитием по типу цепной реакции [Владимиров, Арчаков, 1972; Rahman, 2007; Голованова, 2008; Моисеенко, 2009]. Увеличенное образование свободных радикалов и связанное с этим усиление процессов перекисидации липидов может привести к изменению физико-химических свойств мембранных белков и липидов, активности мембраносвязанных ферментов, нарушению проницаемости мембран (в т. ч. для протонов и ионов кальция), ионного транспорта (ингибирование Na^+ , K^+ -АТФазы), уменьшению электрической стабильности липидного бислоя мембран [Владимиров, Арчаков, 1972; Пименов и др., 2004].

Озеро Окуневое топографически занимает промежуточное положение между озерами

Костомукшское и Койвас и по своим гидрохимическим характеристикам близко к озеру Костомукшское. В печени рыб из озера Койвас содержание продуктов ПОЛ значительно ниже, чем у рыб, обитающих выше по течению реки Кенти (табл. 3, 4), что может быть связано с существенными различиями в концентрации ионов в воде данных водоемов. Таким образом, установлена взаимосвязь степени перекисидации липидов в печени плотвы и щуки с концентрацией минеральных ионов в исследованных озерах.

Среди всех изученных тканей рыб наибольший уровень продуктов ПОЛ установлен в жабрах (табл. 3, 4). Вероятно, это объясняется повышенной степенью оксигенации в данном органе, что, как следствие, приводит к усиленному окислению мембранных липидов жабр. Исключение составили рыбы из озера Костомукшское, где концентрация МДА, ДК и Д в жабрах была ниже, чем в печени рыб (табл. 3, 4). Вероятно, это объясняется тем, что взмученность хвостохранилища способствует механи-

Таблица 2. Возраст и линейно-весовые параметры рыб из озер системы р. Кенти

Table 2. Age and linear-weight parameters of fish from the lakes of the Kenti River system

Показатели Index	Щука Pike			Плотва Roach		
	Костомукшское Kostomukshskoe	Окуневое Okunevoe	Койвас Koivas	Костомукшское Kostomukshskoe	Окуневое Okunevoe	Койвас Koivas
Выборка, n Sample, n	10	10	10	10	10	10
Возраст рыб, лет Age of fish, years	4+ – 5+	4+ – 5+	4+ – 5+	4+ – 5+	4+ – 5+	4+ – 5+
Масса рыб, г Weight, g	473 ± 11,6	612,8 ± 12,2	723,8 ± 18,1	48,9 ± 4,7	54,3 ± 5,1	58,6 ± 7,3
Длина рыб, см Length, cm	48,1 ± 3,2	50,5 ± 4,7	53,8 ± 4,3	13,9 ± 1,7	14,8 ± 1,5	15,2 ± 1,1

Таблица 3. Содержание продуктов перекисного окисления липидов (в нмоль/г ткани) в тканях плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)

Table 3. Content of lipid peroxidation products (nmol/g of tissue) in the tissues of roach *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)

Показатели Index	Жабры Gills			Печень Liver			Мышцы Muscles		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Малоновый диальдегид Malonic dialdehyde	86,8 ± 1,7	114,3 ± 1,8 ^a	86,2 ± 2,1 ^{a,b}	142,6 ± 3,2	80,4 ± 2,1 ^a	77,3 ± 2,8 ^a	25,4 ± 2,3	22,7 ± 2,5	21,7 ± 2,7
Диеновые конъюгаты Diene conjugates	107,6 ± 3,4	120,8 ± 3,8 ^a	76,9 ± 2,8 ^{a,b}	113,7 ± 4,4	108,3 ± 3,1	39,7 ± 2,9 ^{a,b}	29,6 ± 2,6	27,3 ± 2,3	24,9 ± 3,1
Диенкетоны Dienketons	91,3 ± 2,8	117,6 ± 2,9 ^a	80,8 ± 1,9 ^{a,b}	106,3 ± 2,6	101,7 ± 3,4	68,1 ± 3,0 ^{a,b}	28,1 ± 3,3	25,9 ± 1,9	25,7 ± 2,2

Примечание. Здесь и в табл. 4: 1 – оз. Костомукшское; 2 – оз. Окуневое; 3 – оз. Койвас; а – различия достоверны при сравнении рыб из данного озера и оз. Костомукшское, при $p \leq 0,05$; b – различия достоверны при сравнении рыб из оз. Койвас и оз. Окуневое, при $p \leq 0,05$.

Note. Here and in Tab. 4: 1 – Lake Kostomukshskoe; 2 – Lake Okunevoe; 3 – Lake Koivas; a – differences are significant when comparing fishes from this lake and Lake Kostomukshskoe, at $p \leq 0.05$; b – differences are significant when comparing fishes from Lake Koivas and Lake Okunevoe, at $p \leq 0.05$.

ческому забиванию тычинок жабр мелкодисперсной взвесью, приводящему к уменьшению оксигенации ткани, снижению аэробного обмена и, как следствие, снижению активности перекисных процессов [Моисеенко, 2009]. Недостаток поступления кислорода приводит к накоплению в жабрах триацилглицеринов и низкому уровню холестерина [Васильева и др., 2012]. Снижение холестерина в жабрах влияет на изменение микровязкости биомембран, что может стать причиной нарушения осморегуляторной функции данного органа. Подобные модификации липидных компонентов при влиянии техногенного загрязнения были установлены в ранее проведенных исследованиях [Tkacheva et al., 2004; Zaman et al., 2008; Биота..., 2012]. У пресноводных рыб, обитающих в гипотоничной среде, вода проникает в организм через жабры, кожу и перорально с пищей. Для предупреждения обводнения организма в почках

хорошо развит фильтрационный аппарат (многочисленные клубочки и канальцы) и выделяется большое количество гипотоничной мочи. Потеря солей компенсируется реабсорбцией их в дистальных почечных канальцах, а также проникновением через жабры и поступлением с кормом [Анисимова, Лавровский, 1983]. Высокая минерализация хвостохранилища Костомукшского ГОКа создает непривычную – гипертоничную – среду обитания для пресноводных рыб, что влияет прежде всего на функционирование их жабр, регулирующих водно-солевой баланс организма. Интересно отметить, что уже в озере Окуневое уровень МДА в жабрах плотвы и щуки значительно выше, чем в жабрах рыб из хвостохранилища, что может быть связано с отсутствием в озере Окуневое мелкодисперсной взвеси.

В мышцах рыб обнаружено самое низкое содержание продуктов ПОЛ по сравнению с дру-

Таблица 4. Содержание продуктов перекисного окисления липидов (в нмоль/г ткани) в тканях щуки *Esox lucius* Linnaeus, 1758

Table 4. Content of lipid peroxidation products (nmol/g of tissue) in the tissues of pike *Esox lucius* Linnaeus, 1758

Показатели Index	Жабры Gills			Печень Liver			Мышцы Muscles		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Малоновый диальдегид Malonic dialdehyde	50,7 ± 3,1	77,3 ± 1,9 ^a	53,1 ± 2,3 ^{a,b}	74,3 ± 3,2	46,6 ± 2,8 ^a	40,3 ± 2,5 ^a	17,1 ± 1,9	17,5 ± 2,1	15,3 ± 2,3
Диеновые конъюгаты Diene conjugates	88,9 ± 6,4	119,6 ± 5,7 ^a	85,4 ± 2,8 ^{a,b}	96,7 ± 4,2	94,9 ± 2,4	60,4 ± 3,5 ^{a,b}	20,5 ± 2,0	18,3 ± 1,5	17,4 ± 2,2
Диенкетоны Dienketons	90,4 ± 2,9	104,8 ± 3,3 ^a	86,3 ± 2,5 ^{a,b}	95,4 ± 6,1	94,6 ± 2,3	52,4 ± 3,5 ^{a,b}	15,3 ± 1,5	15,9 ± 1,7	14,8 ± 1,4

гими тканями (табл. 3, 4). Активность перекисных процессов в данной ткани у рыб из разных водоемов достоверно не различалась. Учитывая крайнюю чувствительность перекисных процессов к различного рода воздействиям, можно сделать предположение о достаточно высоких адаптивных способностях мышц у изученных видов рыб.

Заключение

Таким образом, наибольшая активность перекисных процессов была установлена в печени рыб, обитающих в озере Костомукшское. Наименьшая степень перекисной окисления установлена в тканях рыб из озера Койвас, которое географически наиболее удалено от Костомукшского горно-обогатительного комбината. Активность перекисных процессов снижается в ряду: жабры – печень – мышцы. Наиболее выраженные различия в содержании продуктов ПОЛ обнаружены в печени рыб, что, возможно, определяется высокой метаболической и детоксикационной активностью этого органа. Исходя из анализа уровня изученных параметров ПОЛ у двух видов рыб, наиболее устойчивой к техногенному влиянию является щука, что, вероятнее всего, объясняется особенностями ее экологии. Щука, в отличие от плотвы, относится к консументам более высокого порядка, и можно полагать, что в процессе эволюции у нее сформировались особые приспособительные механизмы, позволяющие пластичнее адаптироваться к меняющимся условиям внешней среды.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0076).

Литература

Анисимова И. М., Лавровский В. В. Ихтиология. М.: Высш. шк., 1983. 255 с.

Биота северных озер в условиях антропогенного воздействия / Ред. Н. Н. Немова и др. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2012. 230 с.

Васильева О. Б., Назарова М. А., Рипатти П. О., Немова Н. Н. Липидный состав и некоторые показатели перекисного окисления липидов в печени рыб в условиях антропогенной нагрузки // Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации гидробионтов: Мат-лы Всерос. конф. с междунар. участием (Борок, 22–27 сентября 2012 г.). Борок, 2012. С. 60–65.

Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов. М.: Академия, 1972. 252 с.

Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопросы медицинской химии. 1987. № 1. С. 118–121.

Голованова И. Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутренних вод. 2008. № 1. С. 99–108. doi: 10.1007/s12212-008-1014-1

Моисеенко Т. И. Водная экотоксикология: теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.

Пименов Ю. Т., Осипова В. П., Дьякова Л. А., Берберова Н. Т., Милаева Е. Р., Филиппова Л. А., Броцман И. В. Определение скорости перекисного окисления липидов в печени русского осетра (*Acipenser güldenstädti* Brandt) *in vitro* в присутствии соединений ртути и порфиринов // Вестник АГТУ. 2004. № 4. Т. 23. С. 46–51.

Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.

Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution. New York: Oxford University Press, 2002. 466 p.

Lushchak V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals // Aquatic Toxicol. 2011. Vol. 101. P. 13–30. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006

Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors // *Clin. Interv. Aging*. 2007. Vol. 2. P. 219–236.

Tkacheva V., Hyvärinen H., Kukkonen J., Ryzhkov L. P., Holopainen I. J. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2004. No. 57. P. 278–289. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00079-4

Zaman M. U., Sarker S. R., Hossain S. The effects of industrial effluent discharge on lipid peroxide levels of punti fish (*Puntius sophore*) tissue in comparison with those of freshwater fish // *J. Food Lipids*. 2008. Vol. 15, no. 2. P. 198–208.

Поступила в редакцию 08.07.2019

References

Anisimova I. M., Lavrovskii V. V. *Ikhtiologiya* [Ichthyology]. Moscow: Vyssh. shk., 1983. 255 p.

Biota severnykh ozer v usloviyakh antropogennogo vozdeistviya [Biota of Northern Lakes under human impact]. Eds. N. N. Nemova et al. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2012. 230 p.

Gavrilov V. B., Gavrilova A. R., Mazhul' L. M. Analiz metodov opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v syvorotke krvi po testu s tiobarbiturovoi kislotoi [Analysis of methods for determining the products of lipid peroxidation in serum according to the test with thiobarbituric acid]. *Voprosy med. khim.* [Issues of Med. Chem.]. 1987. No. 1. P. 118–121.

Golovanova I. L. Vliyaniye tyazhelykh metallov na fiziologo-biokhimeskii status ryb i vodnykh bespozvochnykh [Effects of heavy metals on the physiological and biochemical status of fishes and aquatic invertebrates]. *Biol. vnutr. vod* [Inland Water Biol.]. 2008. No. 1. P. 99–108. doi: 10.1007/s12212-008-1014-1

Moiseenko T. I. *Vodnaya ekotoksikologiya: teoreticheskie i prikladnye aspekty* [Aquatic ecotoxicology: Theoretical and applied aspects]. Moscow: Nauka, 2009. 400 p.

Pimenov Yu. T., Osipova V. P., D'yakova L. A., Berberova N. T., Milaeva E. R., Filippova L. A., Brotsman I. V. Opredelenie skorosti peroksidnogo okisleniya lipidov v pecheni russkogo osetra (*Acipenser güldenstädti* Brandt) *in vitro* v prisutstvii soedineniy rtuti i porfirinov [Determination of the rate of lipid peroxidation in the liver of Russian sturgeon (*Acipenser güldenstädti* Brandt) *in vitro* in the presence of mercury compounds and porphyrins]. *Vestnik AGTU* [Vestnik ASTU]. 2004. Vol. 23, no. 4. P. 46–51.

Stal'naya I. D., Garishvili T. G. Metod opredeleniya malonovogo dial'degida [A method for determining malonic dialdehyde]. *Sovr. metody v biokhim.* [Modern Methods in Biochem.]. Moscow: Meditsyna, 1977. P. 66–68.

Vasil'eva O. B., Nazarova M. A., Ripatti P. O., Nemova N. N. Lipidnyi sostav i nekotorye pokazateli perekisnogo okisleniya lipidov v pecheni ryb v usloviyakh antropogennoi nagruzki [Lipid composition and some indicators of lipid peroxidation in fish liver under the conditions of anthropogenic load]. *Fiziol., biokhim. i molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy adaptatsii gidrobiontov*: Mat-ly Vseros. konf. s mezhdunarod. uch. (Borok, 22–27 sent. 2012 g.) [Physiol., biochem., and molecular genetic mechanisms of aquatic organisms adaptation: Proceed. All-Russ. conf. with int. part. (Borok, Sept. 22–27, 2012)]. Borok, 2012. P. 60–65.

Vladimirov Yu. A., Archakov A. I. Perekisnoe okislenie lipidov [Lipid peroxidation]. Moscow: Akademiya, 1972. 252 p.

Hochachka P. W., Somero G. N. *Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution*. New York: Oxford Univ. Press, 2002. 466 p.

Lushchak V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicol.* 2011. Vol. 101. P. 13–30. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006

Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin. Interv. Aging*. 2007. Vol. 2. P. 219–236.

Tkacheva V., Hyvärinen H., Kukkonen J., Ryzhkov L. P., Holopainen I. J. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2004. No. 57. P. 278–289. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00079-4

Zaman M. U., Sarker S. R., Hossain S. The effects of industrial effluent discharge on lipid peroxide levels of punti fish (*Puntius sophore*) tissue in comparison with those of freshwater fish. *J. Food Lipids*. 2008. Vol. 15, no. 2. P. 198–208.

Received July 08, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Васильева Ольга Борисовна

старший научный сотрудник лаб. 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: vasil@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Vasil'eva, Olga

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

Назарова Марина Александровна

доцент кафедры химии, к. б. н.
Вологодский государственный университет
ул. Ленина, 15, Вологда, Россия, 160000
эл. почта: marinamarina35@yandex.ru

Немова Нина Николаевна

руководитель научного направления КарНЦ РАН,
главный научный сотрудник лаб. экологической биохимии,
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: nemova@krc.karelia.ru

Nazarova, Marina

Vologda State University
15 Lenina St., 160000 Vologda, Russia
e-mail: marinamarina35@yandex.ru

Nemova, Nina

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

УДК 619.615: 371/075.5/

ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У ПЕСЦОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА

**И. И. Окулова, И. А. Домский, Ю. А. Березина, З. Н. Бельтюкова,
М. А. Кошурникова**

*Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова, Киров, Россия*

Борьба с сальмонеллезом всегда была важной и актуальной задачей, а в последнее время сальмонеллезная инфекция среди сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей широко распространена и имеет тенденцию к дальнейшему росту. Помимо этого переболевшие сальмонеллезом звери в 85 % случаев остаются бактерионосителями. Вспышки сальмонеллеза у пушных зверей регистрируют с начала апреля до конца сентября, на некоторых фермах смертность животных достигает 30 %. Указанные обстоятельства обеспечивают длительное существование эпизоотического очага сальмонеллезной инфекции. В связи с этим большое значение имеют мероприятия, направленные на своевременную специфическую профилактику, снижение и ликвидацию потерь животных от сальмонеллеза. Используемые до последнего времени инактивированные вакцины против сальмонеллеза по результатам многолетнего их применения оказались недостаточно эффективными. При вакцинации происходят сложные структурные и функциональные изменения в органах иммунной системы животных. Многократное введение препарата согласно соответствующим наставлениям по применению делает процесс иммунизации длительным и трудоемким. В работе использованы песцы клеточного разведения, привитые инактивированной вакциной. Животных опытной группы вакцинировали ассоциированной инактивированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных и пушных зверей, изготовленной ФГУП «Покровский завод биопрепаратов» и ООО «Агровет» (вакцина ОКЗ ТУ 9384-047-00008064-99). Песцы были привиты подкожно двукратно с интервалом 14 дней согласно наставлению по применению препарата. Животных контрольной группы не вакцинировали. После планового убоя песцов клеточного разведения из каждой группы брали по пять зверей на 7, 14, 21 и 28-й день после вакцинации. Для гистологического исследования брали следующие органы: подчелюстные лимфатические узлы, селезенку, которые фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. Оценку клеточного иммунитета проводили с помощью реакций Е- и ЕАС-роzetkoобразования, опсонофагоцитарной реакции, реакции агглютинации. При гистологическом исследовании селезенки песцов после вакцинации на срезе хорошо различимы красная и белая пульпа. При гистологическом изучении нижнечелюстных лимфатических узлов у песцов в корковом слое хорошо просматривались первичные и вторичные лимфоидные узелки. Мякотные шнуры за счет скопления лимфоцитов утолщены. В результате иммунизации песцов против сальмонеллеза инактивированной вакциной в периферических органах иммунитета происходит пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток, характеризующаяся увеличением иммунобла-

стов и зрелых плазмочитов, характерных как для клеточного, так и для гуморального иммунного ответа.

Ключевые слова: инактивированная вакцина; ОФР; E- и EAC-розеткообразование; подчелюстные лимфатические узлы; селезенка; иммунобласты; проплазмочиты; плазмочиты.

I. I. Okulova, I. A. Domskey, Yu. A. Berezina, Z. N. Bel'tyukova, M. A. Koshurnikova. POST-VACCINATION IMMUNITY IN ARCTIC FOXES VACCINATED AGAINST SALMONELLA

Combating salmonellosis has always been an important task. This infection has been widespread among farm and fur animals, as well as poultry, and tends to be on a rise lately. Furthermore, 85 % of animals continue to carry the bacteria after recovery. Salmonellosis outbreaks are registered among fur animals from early April to late September. In some farms, mortality is up to 30 %. As a result, epizootic hotbeds of salmonella infection are persistent. It is therefore important to take timely and specific actions to prevent, reduce and eliminate animal losses to salmonellosis. The inactivated salmonellosis vaccines used until lately proved to be not very effective. Vaccination of animals induces complex structural and functional changes in the immune system organs. Repeated administration of the drug, as instructed, turns immunization into a lengthy and laborious process. This study was carried out with cage-reared Arctic foxes treated with inactivated vaccine. Animals in the experimental group were vaccinated with an associated inactivated vaccine against colibacillosis, salmonella, klebsiella and protozoa infections manufactured by the Pokrovsky Biologics Plant and LLC AgroVet (vaccine OKZ TU-9384-047-00008064-99). The animals were vaccinated subcutaneously twice with an interval of 14 days according to the instruction for the drug. Animals in the control group were not vaccinated. After the scheduled slaughter of cage-reared Arctic foxes, 5 animals from each group in their 7th, 14th, 21st, and 28th days after vaccination were taken. Their spleens and submandibular lymph nodes were extracted for histological examination and fixed in 10% aqueous solution of neutral formalin. Cellular immunity was assessed using opsonophagocytic assay (OPA), E- and EAC-rosette formation, and agglutination test. Morphological and morphometric measurements of the peripheral immune organs were taken. Spleen tissue sections from vaccinated Arctic foxes had red and white pulp clearly visible during histological examination. Histological examination of mandibular lymph nodes of the Arctic foxes revealed primary and secondary lymphoid nodules in the cortical layer. Medullary cords are thickened due to the accumulation of lymphocytes. Immunization of Arctic foxes with inactivated vaccine against salmonellosis results in the proliferation and differentiation of immunocompetent cells in peripheral immune organs, which involves an increase in the number of immunoblasts and mature plasmocytes. This change is characteristic of both cellular and humoral immune response.

Key words: inactivated vaccine; OPA; E- and EAC-rosette formation; submandibular lymph nodes; spleen; immunoblasts; proplasmocytes; plasmocytes.

Введение

В настоящее время в звероводческих хозяйствах ежегодно проводятся плановые профилактические мероприятия по формированию у животных специфического иммунитета к актуальным для данной местности инфекционным заболеваниям. При вакцинации животных в организме происходят сложные структурные и функциональные изменения в органах иммунной системы [Домский, Кульминский, 1997; Домский, 2002]. Используемые до последнего времени инактивированные вакцины против сальмонеллеза по результатам многолетнего их

применения оказались недостаточно эффективными [Макаров и др., 1994] из-за деградации антигенных свойств под влиянием физико-химических воздействий на микробную клетку в процессе инактивации, ограниченной циркуляции антигена в организме и, как следствие, слабого и недостаточного стимулирования иммунной системы в процессе иммуногенеза [Матвиенко, 1986]. Периферические органы обеспечивают процессы антигензависимой пролиферации и дифференцировки клеток, мигрирующих из центральных органов, где они ранее приобрели специфические рецепторы к данному антигену. Для обеспечения контакта с антигенами

эти органы расположены на пути их поступления через лимфу или кровь [Носсел, 1973; Бородин, 1987]. После иммунизации в организме происходит поэтапное включение всех фаз иммунного ответа. Возникает ряд иммунных процессов, начиная с опсоно-фагоцитарной реакции (ОФР), как показателя естественной резистентности, активации Т-, а затем и В-лимфоцитов и нарастания титра антител, с которыми связывают поствакцинальный иммунитет [Fioretti, 1961; Батуев, 1979; Першин, 1980].

Таким образом, оценка состояния органов иммунной системы после иммунизации заключается в выявлении специфических иммунных процессов, происходящих в организме животного после введения антигенов. При этом важно оценить качество вакцин и способов их применения с точки зрения иммунологической эффективности.

Основная цель исследования – морфологические особенности органов иммунной системы у песцов, вакцинированных против сальмонеллеза.

Материалы и методы

Исследование проведено в лаборатории ветеринарии ФГБНУ ВНИИОЗ им проф. Б. М. Житкова, ООО Племзверохозяйство «Вятка». В работе использовали молодняк песцов (*Aloplex lagopus*) в возрасте 60 дней. Было сформировано две группы: контрольная (n=100) и опытная (n=100).

Животных опытной группы вакцинировали ассоциированной инактивированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных и пушных зверей клеточного содержания, изготовленной ФГУП «Покровский завод биопрепаратов» и ООО «Агровет» (вакцина ОКЗ ТУ-9384-047-00008064-99). Вакцину применяли на молодняке песцов согласно наставлению по применению. Песцы в возрасте шестидесяти дней были иммунизированы двукратно с интервалом 14 дней подкожно в дозе 0,3 мл. Как правило, болезненности, воспаления, повышения температуры на месте введения препарата не отмечалось. За привитыми животными наблюдали в течение месяца, за весь этот период у них не было отмечено отказа от корма, угнетения, заболевания и падежа.

Формирование поствакцинального иммунитета у песцов оценивали с помощью ряда методик.

Клеточный иммунитет. Оценку клеточного иммунитета проводили с помощью ОФР, реак-

ций Е- и ЕАС-роzetkoобразования [Bianco et al., 1970; Jondall et al., 1972].

Опсоно-фагоцитарная реакция. ОФР ставили по А. С. Лабинской [1978]. Параллельно проводили подсчет общего количества лейкоцитов и лимфоцитов. Оценка поствакцинального иммунитета при помощи реакций розеткообразования имеет большое научное и практическое значение. Эти реакции способны в достаточно короткие сроки и без больших затрат дать возможность представить картину формирования иммунитета и его напряженности у вакцинированных животных. При постановке ОФР использовали вирулентный полевой штамм *Sal. typhimurium*, что выгодно охарактеризовало специфичность и направленность выявленных изменений. Клеточная иммунная реакция представляет собой образование ретикулоэндотелиальной системой в ответ на введение антигена мелких долгоживущих лейкоцитов – сенсibilизированных лимфоцитов, которые принимают активное участие в нейтрализации болезнетворного антигена. Приобретение специфического активного иммунитета сопровождается повышением фагоцитарной активности лейкоцитов. Явление фагоцитоза филогенетически является одним из защитных механизмов животных и человека и характеризующим его иммунную реакцию. Реакцию ставили по общепринятой методике, для оценки реакции использовали числовой показатель Штритера, представляющий собой сумму произведений, полученных в результате перемножения количества лейкоцитов на число соответствующих их оценок фагоцитоза, характеризующих его интенсивность. Поэтому полученные результаты можно рассматривать как специфические показатели, характеризующие состояние вакцинированных зверей.

Реакция агглютинации (РА). Исследования гуморального иммунитета проводили с помощью РА к возбудителям сальмонеллеза [по: Антонов, Блинова, 1971]. В качестве антигена для постановки РА использовали живые гомологические штаммы сальмонелл, выращенные на мясо-пептонном агаре в течение 20 часов и смытые физраствором. Антитела играют основную роль в иммунитете потому, что являются молекулами-эффекторами гуморального иммунитета. Также они участвуют в распознавании чужеродных молекул, локализуясь на внешней стороне мембраны лимфоидных и фагоцитирующих клеток. Результаты РА представлены в виде среднегеометрических титров специфических антител по Лярски [Сюрин и др., 1984].

Морфологические методы исследования. После планового убоя песцов из каждой группы брали по пять животных на 7, 14, 21 и 28-й день после вакцинации. Для гистологического исследования брали следующие органы: подчелюстные лимфатические узлы, селезенку, которые фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. Материал обрабатывали по общепринятым методикам [Меркулов, 1969]. Окрашивание проводили гематоксилином и эозином. Морфометрические показатели и фотографии были сделаны с использованием системы Vision Bio (Epi 2014 г.) с автоматической обработкой сигнала и выводением на дисплей. Для подсчета иммунокомпетентных клеток использовали сетку случайного шага с 110 равноудаленными точками (перекрестками линий), встроенную в окуляр-микрометр Л. Б. Левинсона, по Автандилову [1990]. Сетка накладывалась на срез органа при увеличении микроскопа МБИ-3У42 (окуляр WF-10x; объектив x4/0.10; x10/0.25). Срез органа при таком увеличении целиком находился в поле зрения и был целиком закрыт сеткой. При учете структурных компонентов подсчитывалось количество пересечений сетки, проходящихся на весь срез целиком и отдельно на каждый структурный компонент органа. Положение сетки на препарате произвольно менялось 5–10 раз с повторением подсчета.

Проведены иммуногистохимические исследования с использованием маркеров CD3 Polyclonal Rabbit Anti-Human T-клеток [Руководство..., 2012]. Работа выполнена в Кировском НИИ гематологии и переливания крови. Наиболее специфичным и основным маркером Т-лимфоцитов является CD3. Зрелые Т-клетки покидают тимус через сосуды кортико-медуллярной зоны, поступают в кровоток, Т-лимфоциты становятся частью единого пула рециркулирующих Т-клеток. В периферических лимфоидных органах (лимфоузлы, селезенка, лимфатические фолликулы) Т-лимфоциты занимают преимущественно тимусзависимые зоны: паракортикальные зоны лимфатических узлов, периартериальные муфты селезенки и групповых лимфатических фолликулов. Эксперименты на животных проводили в соответствии с основами опытного дела в животноводстве [Овсянников, 1976]. Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС), Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [1977]. Полученные цифровые материалы об-

работаны с использованием пакета статистических программ Statgraphics и HG.

Результаты и обсуждение

Показатели титра специфических антител-агглютининов в сыворотке крови вакцинированных животных также дали возможность оценить активность иммунного ответа. Антитела играют основную роль в иммунитете потому, что являются молекулами-эффекторами гуморального иммунитета. Свою защитную функцию иммуноглобулины зачастую осуществляют в синергизме с комплементом и лизоцимом. Антитела синтезируются в организме в ответ на внедрение инфекционного возбудителя или антигенного раздражения.

Серологические и иммунологические показатели. Во все сроки исследований у вакцинированных песцов отмечалось увеличение специфических антител-агглютининов в сыворотке крови. Максимальное значение титра специфических антител в сыворотке крови у песцов наблюдали через 14 дней после иммунизации, что в 4 раза выше (105,7), чем в контроле (11,89) (табл. 1). Через 28 дней после иммунизации песцов активность антителообразования снижается, оставаясь в 3,4 раза выше показателей контрольной группы. По данным Международного эпизоотического бюро, реакция агглютинации является методом оценки поствакцинального сальмонеллезного иммунитета и должным образом характеризует его напряженность.

Показатель Штритера в опсоно-фагоцитарной реакции (активность нейтрофилов) на 14-й день после вакцинации достиг максимальных значений по сравнению с контролем ($16,8 \pm 7,56$) и составил $39,2 \pm 3,23$ ($p < 0,001$). К 28-му дню после иммунизации животных активность фагоцитоза снижается до уровня физиологической нормы, соответствующей уровню показателей у контрольных песцов (табл. 1).

Из данных табл. 1 видно, что показатели ОФР незначительно повышаются к 7-му дню, достигая максимальных значений к 14-му дню после вакцинации, затем происходит снижение значений. Иммунизация песцов инактивированной вакциной против сальмонеллеза вызывает в организме животного ответные иммунобиологические перестройки.

После применения инактивированной вакцины для профилактики сальмонеллеза у песцов наблюдается выраженный лейкоцитоз и лимфоцитоз (табл. 2). Повышение общего количества лейкоцитов у вакцинированных зверей особенно выражено на 7–14-й дни после вакцинации ($p < 0,05$). Достоверное ($p < 0,001$)

Таблица 1. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов в ОФР и показатели титра антител в РА у песцов, вакцинированных против сальмонеллеза инактивированной вакциной

Table 1. Indicators of phagocytic activity of neutrophils b OFR and antibody titer b RA in Arctic foxes vaccinated against salmonellosis with inactivated vaccines

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment: Титр антител в РА Antibody titer in RA	76,5	349,26	299,23	117,5
Показатель Штритера в ОФР Schtroeter Index in OFR	23,0 ± 3,44	30,2 ± 3,23	26,6 ± 4,75	24,4 ± 3,45*
Контрольная группа / Control group: Титр антител в РА Antibody titer in RA	10	20	20	10
Показатель Штритера в ОФР Schtroeter Index in OFR	22,0 ± 4,53	16,8 ± 7,56	16,0 ± 4,16	12,8 ± 1,64

Примечание. *P < 0,001 по сравнению с контролем.

Note. *P < 0.001 compared to control.

Таблица 2. Изменение показателей лейкоцитарных клеток у песцов в норме и после иммунизации инактивированной вакциной против сальмонеллеза

Table 2. Changes in leukocyte cell counts in Arctic foxes in normal condition and after immunization with inactivated salmonellosis vaccine

Группы животных (n=5) Group of animals (n=5)	Показатели Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
		7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт, вакцинированные Experiment, vaccinated	Лейкоциты (тыс./мкл) White blood cells (ths/μl)	10,14 ± 1,02*	9,46 ± 0,61*	6,66 ± 0,36	7,78 ± 0,37**
	Лимфоциты Lymphocytes (%)	70,2 ± 3,72*	75,4 ± 2,87**	62,4 ± 5,93	72,0 ± 2,25**
	(10 ⁹ /л)	7,11 ± 0,472**	7,08 ± 0,35**8	4,15 ± 0,26*	5,95 ± 0,42**
	Е-РОК (Т-лимф-ты / Т-Lymph) (%)	56,4 ± 1,86*	53,6 ± 2,11**	53,4 ± 1,12*	50,4 ± 3,6
	(10 ⁹ /л)	4,01 ± 0,346**	3,77 ± 0,16***	2,21 ± 0,22	2,99 ± 0,29**
Контроль, невакцинированные Control, unvaccinated	Лейкоциты (тыс./мкл) White blood cells (ths/μl)	7,4 ± 0,17	7,4 ± 0,17	7,4 ± 0,17	7,4 ± 0,17
	Лимфоциты Lymphocytes (%)	61,0 ± 0,85	61,0 ± 0,85	61,0 ± 0,85	61,0 ± 0,85
	(10 ⁹ /л)	4,48 ± 0,169	4,75 ± 0,12	4,72 ± 0,04	4,1 ± 0,16
	Е-РОК (Т-лимф-ты / Т-Lymph) (%)	48,83 ± 1,22	49,8 ± 0,79	49,3 ± 1,14	50,1 ± 0,83
	(10 ⁹ /л)	2,19 ± 0,113	2,36 ± 0,07	2,32 ± 0,06	2,05 ± 0,07
ЕАС-РОК (В-лимф-ты / В-Lymph) (%)	32,2 ± 3,12*	36,4 ± 0,81***	35,8 ± 1,15***	30,6 ± 1,36**	
	(10 ⁹ /л)	2,28 ± 0,236**	2,57 ± 0,18***	1,48 ± 0,14*	1,83 ± 0,17***
ЕАС-РОК (В-лимф-ты / В-Lymph) (%)	21,5 ± 1,08	22,1 ± 1,22	22,6 ± 0,95	23,5 ± 1,25	
	(10 ⁹ /л)	0,95 ± 0,041	1,05 ± 0,06	1,06 ± 0,04	0,95 ± 0,06

Примечание. Здесь и далее различия с контрольной группой достоверны: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.

Note. Hereinafter the differences with control group are significant at: *p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0,001.

увеличение количества лимфоцитов происходит к 7-му дню исследований, максимальных значений они достигают к 14-му дню. Затем к 28-му дню происходит достоверное (p < 0,01) снижение их количества у всех вакцинированных животных. В последующие сроки наблю-

дений показатели выравниваются с показателями в контрольной группе, которые характеризуют физиологическую норму. Через 7 дней после иммунизации песцов инактивированной вакциной против сальмонеллеза наблюдается достоверное (p < 0,05) увеличение количест-

ва Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой, достигая при этом максимальных значений. Количество Т-лимфоцитов увеличивается к 7-му дню на 7,57 %. Далее происходит постепенное снижение показателей. К моменту последнего исследования (через 28 дней) их количество снижается на 4,3 %. Увеличение количества В-лимфоцитов происходит также к 7-му дню после иммунизации, достигая максимальных значений у зверей опытной группы к 14-му дню ($p < 0,001$). Их количество к этому сроку увеличивается на 14,3 %. В следующие сроки исследований наблюдается достоверное ($p < 0,01$) снижение этих показателей. К концу опыта количество ЕАС-РОК снижается на 7,1 %. В контрольной группе животных существенных изменений количества лимфоцитов не произошло, выявленные различия оказались недостоверными (табл. 2).

Морфологические методы. Селезенка – важный орган лимфоцитобразования и иммунитета, в котором под влиянием антигенов, присутствующих в крови, происходит образование клеток либо продуцирующих гуморальные антитела, либо участвующих в реакциях клеточного иммунитета. Антигены фагоцитируются и разрушаются в красной пульпе, а их оставшаяся часть прикрепляется к клеткам краевого синуса белой пульпы. Затем они постепенно переходят в лимфоидные узелки, в которых позднее появляются плазматические клетки, содержащие антитела к антигену [Миллер, Дукор, 1967; Герберт, 1974].

При гистологическом исследовании селезенки песцов после вакцинации на срезе хорошо различимы красная и белая пульпа. Белая пульпа представлена лимфоидными узелками, как с герминативным центром, так и без него. При иммуноморфологическом исследовании через 14 дней после иммунизации песцов в селезенке наблюдали формирование вторичных лимфоидных узелков, диаметр которых по сравнению с контролем достоверно увеличился в 1,3 раза ($p < 0,001$). Через 21 день после иммунизации диаметр вторичных лимфоидных узелков увеличился в 1,5 раза ($p < 0,001$), а их количество возросло в 1,2 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Как видно из табл. 4, в центре лимфоидных узелков и в периартериальной зоне отмечалось скапливание иммунобластов, плазмобластов, количество которых по сравнению с контролем увеличилось в 1,2–2,3 раза ($p < 0,001$).

В красной пульпе селезенки отмечали выраженную плазмоцитарную реакцию с увеличением количества зрелых плазмоцитов через 21 день в 1,2 раза по сравнению с контролем (рис. 1) и на 28-й день отмечали снижение показателей.

Результаты исследований показывают, что вакцина существенно стимулирует гиперплазию лимфоидных узелков в селезенке и пролиферацию иммунокомпетентных клеток. Лимфоидная ткань селезенки участвует преимущественно в иммунных реакциях гуморального типа, обеспечивая накопление больших плазматиче-

Таблица 3. Морфометрические показатели в селезенке у песцов после иммунизации инактивированной вакциной

Table 3. Morphometric parameters in the spleen of polar foxes after immunization with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment: Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	14,8 ± 0,37 10,0 ± 0,44	14,1 ± 0,37 12,6 ± 0,40**	14,6 ± 0,42 19,2 ± 0,35***	14,4 ± 0,51 11,4 ± 0,24**
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	365,10 ± 9,20** 138,96 ± 7,88	298,12 ± 8,66** 141,6 ± 3,40**	279,6 ± 9,27 148,0 ± 9,31**	275,48 ± 8,23 137,24 ± 5,33
Контрольная группа / Control group: Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	13,6 ± 0,24 7,8 ± 0,37	-	-	-
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	271,28 ± 12,3 134,64 ± 6,93	-	-	-

Таблица 4. Динамика иммунокомпетентных клеток в селезенке у песцов после иммунизации против сальмонеллеза инактивированной вакциной

Table 4. Dynamics of immunocompetent cells in the spleen of Arctic foxes after immunization against salmonellosis with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment количество клеток / number of cells:				
иммунобластов / immunoblasts	19,5 ± 0,5**	17,9 ± 0,32	17,3 ± 0,22	16,9 ± 0,40
плазмобластов / plasmoblasts	21,3 ± 0,43	23,3 ± 0,11***	19,5 ± 0,33	18,9 ± 0,25
незрелых плазматических клеток / immature plasma cells	27,2 ± 0,23	29,7 ± 0,32***	27,4 ± 0,6	27,3 ± 0,20
зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	17,9 ± 0,22	29,5 ± 0,92	27,3 ± 0,41***	27,0 ± 0,18***
Контрольная группа / Control group количество клеток / number of cells:				
иммунобластов / immunoblasts	16,2 ± 0,33	-	-	-
плазмобластов / plasmoblasts	18,4 ± 0,31	-	-	-
незрелых плазматических клеток / immature plasma cells	25,8 ± 0,42	-	-	-
зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	17,4 ± 0,24	-	-	-

ских клеток, синтезируя антитела [Сапин, 1983; Кириллов, 1994].

При гистологическом изучении нижнечелюстных лимфатических узлов у песцов в корковом слое хорошо просматривались первичные и вторичные лимфоидные узелки. Мякотные шнуры за счет скопления лимфоцитов утолщены. В корковом слое наблюдали формирование лимфоидных узелков. В нижнечелюст-

ных лимфатических узлах количество вторичных лимфоидных узелков и их диаметр на 7-й день после вакцинации увеличились в 1,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (табл. 5).

Клеточная реакция в нижнечелюстных лимфатических узлах характеризовалась увеличением иммунобластов (рис. 2), количество которых достигло максимума по сравнению с контролем на 14-й день после вакцинации (табл. 6).

На 14-й день после вакцинации клеточная реакция характеризовалась увеличением количества плазмобластов и зрелых

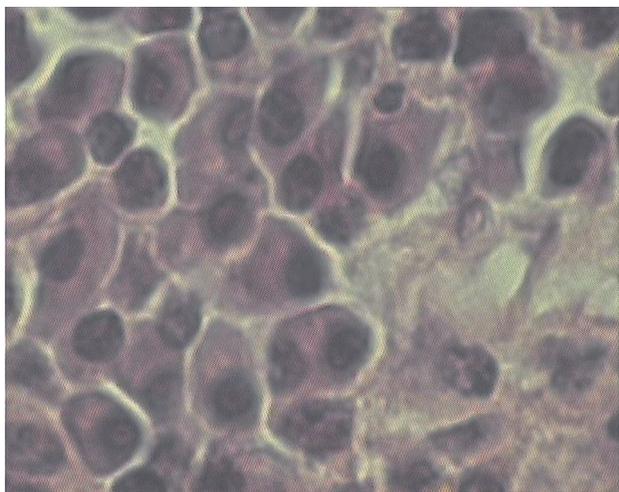


Рис. 1. Плазмоциты в красной пульпе селезенки через 14 дней после вакцинации.

Здесь и на рис. 2: увеличение микроскопа – окуляр GF-Pw 10x, объектив HI 40x/1,25. Окраска гематоксилином Майера и эозином

Fig. 1. Plasmocytetes in the red pulp of the spleen, 14 days after vaccination.

Here and in Fig. 2: microscope magnification: eyepiece – GF-Pw 10x; lens HI 40x/1.25. Staining with Mayer hematoxylin and eosin

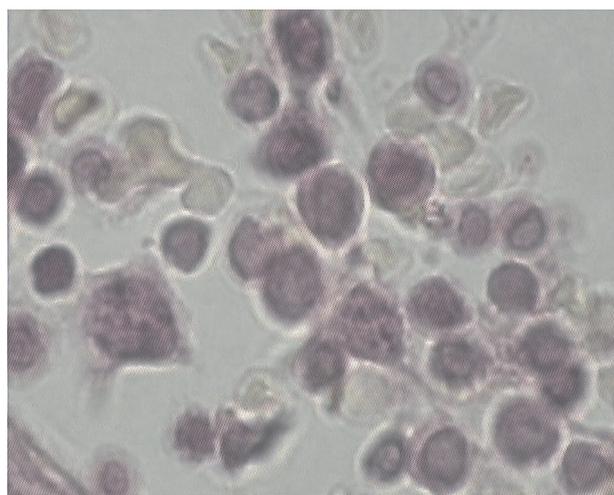


Рис. 2. Иммунобласты и плазмоциты в мозговом слое нижнечелюстных л/узлов под капсулой в корковом слое через 14 дней после вакцинации

Fig. 2. Immunoblasts and plasmocytetes in the brain layer of the mandibular l/nodes under the capsule in the cortical layer, 14 days after vaccination

Таблица 5. Морфометрические показатели в нижнечелюстных лимфатических узлах у песцов после иммунизации инактивированной вакциной

Table 5. Morphometric parameters in mandibular lymph nodes of Arctic foxes after immunization with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	6,8 ± 0,200*** 6,9 ± 0,316	7,4 ± 0,678*** 7,6 ± 0,748	8,2 ± 0,374*** 6,8 ± 0,583	7,4 ± 0,678*** 4,22 ± 0,437
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	305,0 ± 5,375 170,68 ± 5,244	330,88 ± 7,72*** 180,6 ± 6,361	321,48 ± 8,75 164,0 ± 4,72	300,88 ± 9,25 14076 ± 5,196
Контрольная группа / Control group Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	4,8 ± 0,56 6,2 ± 0,31	-	-	-
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	291,7 ± 7,79 116,4 ± 2,18	-	-	-

Таблица 6. Динамика иммунокомпетентных клеток в нижнечелюстных лимфатических узлах у песцов после иммунизации против сальмонеллеза инактивированной вакциной

Table 6. Dynamics of immunocompetent cells in mandibular lymph nodes in Arctic foxes after immunization against salmonellosis with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment количество клеток / number of cells: иммунобластов / immunoblasts плазмобластов / plasmoblasts незрелых плазматических клеток / immature plasma cells зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	13,6 ± 0,32** 28,4 ± 0,45** 18,6 ± 0,54** 17,6 ± 0,34**	14,6 ± 0,32*** 27,6 ± 0,25* 19,4 ± 0,43** 18,5 ± 0,45**	13,4 ± 0,32* 26,8 ± 0,37* 18,4 ± 0,35** 20,4 ± 0,52*	12,9 ± 0,34* 25,4 ± 0,32* 17,6 ± 0,35* 18,6 ± 0,36*
Контрольная группа / Control group количество клеток / number of cells: иммунобластов / immunoblasts плазмобластов / plasmoblasts незрелых плазматических клеток / immature plasma cells зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	12,2 ± 0,24 10,3 ± 0,21 17,2 ± 0,21 16,7 ± 0,24	-	-	-

плазмочитов, число которых по сравнению с контролем увеличилось в 1,5 раза ($p < 0,01$) (табл. 6).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров к CD3 Т-клеткам реакция положительная. Т-лимфоциты скапливались в периартериальной зоне узелка селезенки (рис. 3), в паракортикальной зоне лимфатических узлов (рис. 4).

Изучение механизмов формирования иммунитета и роли иммунных реакций в органах иммунитета позволяет выявить общие закономерности, происходящие в селезенке и лимфатических узлах после вакцинации. Последовательность события начала антителообразования в лимфоидном узелке, которая происходит после введения антигена в лимфатический узел, стала известна благодаря исследованиям

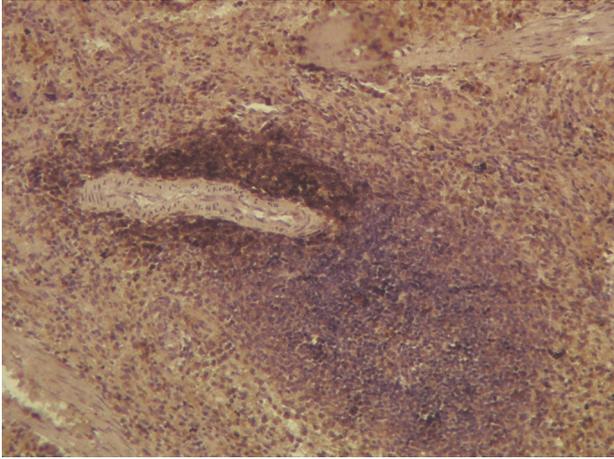


Рис. 3. Скопление CD3 T-клеток в периартериальной зоне селезенки

Fig. 3. Accumulation of CD3 T cells, the reaction is positive. T cells accumulated in the periarterial zone of the spleen

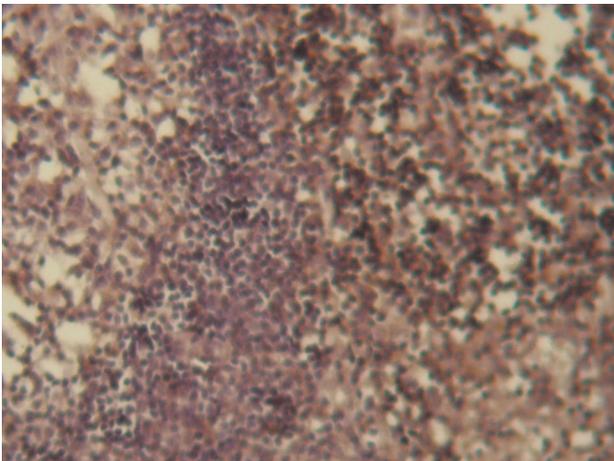


Рис. 4. Скопление CD3 T-клеток в паракортикальной зоне лимфоидного узелка

Fig. 4. Accumulation of CD3 T-cells, in the paracortical zone of a lymphatic nodule

Носсела и Айда из Мельбурна [Герберт, 1974]. В работе [Nossal, Mäkelä, 1962] представлены данные о структуре лимфатических узлов, играющих важную роль в иммуногенезе, развивающемся в результате иммунизации. К 28-му дню после вакцинации показатели сравнялись с контрольной группой.

Заключение

Таким образом, в ходе исследований отмечали увеличение в динамике Т- и В-лимфоцитов, изменения титра антител, а также фагоцитарной активности нейтрофилов. Представлены данные о структуре селезенки и лимфатических узлов, играющих важную роль в иммуногенезе. В результате иммунизации песцов против сальмонеллеза инактивиро-

ванной вакциной в периферических органах иммунитета происходит пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток, характеризующаяся увеличением иммунобластов и зрелых плазмочитов, характерных как для клеточного, так и для гуморального иммунного ответа.

Литература

Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство. М.: Медицина, 1990. 384 с.

Антонов В. Я., Блинова П. Н. Лабораторные исследования в ветеринарии. 1971. М.: Колос, 1971. 640 с.

Батуев К. М. Морфология лимфоидных фолликулов тонкой кишки человека // Тр. Пермского медицинского института. 1979. Т. 106. С. 53–57.

Бородин Ю. И. Функциональная морфология иммунной системы. М.: Наука, 1987. 229 с.

Герберт У. Д. Ветеринарная иммунология. М.: Колос, 1974. 303 с.

Домский И. А., Кульминский А. Н. Сальмонеллез пушных зверей // Кролиководство и звероводство. 1997. № 4. С. 24–25.

Домский И. А. Оральная вакцинация пушных зверей против сальмонеллеза // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию ВНИИОЗ. (28–31 мая 2002 г.) / ВНИИОЗ, РАСХН. Киров, 2002. С. 548–551.

Кириллов А. К. Иммунопрофилактика инфекционных болезней // Кролиководство и звероводство. 1994. № 3. 22 с.

Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978. 392 с.

Макаров В. В., Бакулов И. А., Филиппов В. В. Внутриклеточный паразитизм и протективный иммунитет // Вестник РАСХН. 1994. № 3. С. 45–49.

Матвиенко Б. А. Сальмонеллезы животных // Болезни сельскохозяйственных животных. Алма-Ата, 1986. С. 53–66.

Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. Л.: Медицина, 1969. 402 с.

Миллер Д., Дукор П. Биология тимуса / пер. с нем. М.: Мир, 1967. 93 с.

Носсел Г. Антитела и иммунитет. М.: Медицина, 1973. 176 с.

Овсянников А. И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: Колос, 1976. 304 с.

Першин Б. Б. Вакцинация и местный иммунитет. Л.: Медицина, 1980. 210 с.

Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных: Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12 авг. 1977 г. № 755.

Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Ред. С. В. Петров, Н. Г. Райхлин. Казань: Титул, 2012. 624 с.

Сагин М. Р. О закономерностях строения и развития органов иммунной системы // Функциональная морфология лимфатических узлов и других органов иммунной системы и их роль в иммунных

процессах: тез. докл. всесоюз. науч. конф. М., 1983. С. 148–149.

Сюрин В. Н., Фомина Н. В., Белоусова Р. В. Частная ветеринарная вирусология. М.: Колос, 1984. 427 с.

Bianco C., Prilrick R., Nussenzweig V. Population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody complex // *J. Exp. Med.* 1970. Vol. 134, no. 4. P. 702–720.

Fioretti A. Die Gaumenmandel Darstellung der Biologie und Physiopathologie. Stuttgart, 1961. 234 p.

References

Antonov V. Ya., Blinova P. N. Laboratornye issledovaniya v veterinarii [Laboratory studies in veterinary science]. 1971. Moscow: Kolos, 1971. 640 p.

Avtandilov G. G. Meditsinskaya morfometriya: rukovodstvo [Medical morphology: guidelines]. Moscow: Meditsina, 1990. 384 p.

Batuev K. M. Morfologiya limfoidnykh follikulov tonkoi kishki cheloveka [Morphology of lymphoid follicles of the human small intestine]. *Tr. Permskogo meditsinskogo inst.* [Proceed. Perm Medical Inst.]. 1979. Vol. 106. P. 53–57.

Borodin Yu. I. Funktsional'naya morfologiya immuno sistemy [Functional morphology of the immune system]. Moscow: Nauka, 1987. 229 p.

Domskii I. A., Kul'minskii A. N. Sal'monellez pushnykh zveri [Salmonellosis of fur animals]. *Krolikovodstvo i zverovodstvo* [Rabbit and Fur Farming]. 1997. No. 4. P. 24–25.

Domskii I. A. Oral'naya vaktsinatsiya pushnykh zveri protiv sal'monelleza [Oral vaccination of fur-bearing animals against salmonellosis]. *Sov. probl. Prirodopol'zovaniya, oxotovedeniya i zverovodstva: mat. Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashh. 80-letiyu VNIIOZ (28–31 maya 2002 g.)* [Modern problems of nature management, hunting and animal breeding: Proceed. Int. scientific-pract. conf. 80th anniv. of All-Russ. Research Inst. for Hunting Husbandry and Livestock Breeding (VNIIOZ) (May 28–31, 2002)]. Kirov, 2002. P. 548–551.

Gerbert U. D. Veterinarnaya immunologiya [Veterinary immunology]. Moscow: Kolos, 1974. 303 p.

Kirillov A. K. Immunoprofilaktika infektsionnykh boleznei [Immunological prophylaxis of infectious diseases]. *Krolikovodstvo i zverovodstvo* [Rabbit and Fur Farming]. 1994. No. 3. 22 p.

Labinskaya A. S. Mikrobiologiya s tekhnikoi mikrobiologicheskikh issledovaniy [Microbiology with a method of microbiological research]. Moscow: Meditsina, 1978. 392 p.

Makarov V. V., Bakulov I. A., Filippov V. V. Vnutrikletchnyi parazitizm i protektivnyi immunitet [Intracellular parasitism and protective immunity]. *Vestnik RASKhN* [Bull. Russ. Acad. Agricultural Sci.]. 1994. No. 3. P. 45–49.

Matvienko B. A. Sal'monellezy zhivotnykh [Salmonellosis in animals]. *Bolezni sel'skokh. zhivotnykh* [Diseases of agricultural animals]. Alma-Ata, 1986. P. 53–66.

Merkulov G. A. Kurs patologogistologicheskoi tekhniki [A Course in pathohistological methods]. Leningrad: Meditsina, 1969. 402 p.

Jondall M., Holm J., Wogzell H. Surface markers of human B- and T-lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmunerosettes with sheep red blood cells // *J. Exp. Med.* 1972. Vol. 136, no. 2. P. 207–215.

Nossal G. J., Mäkelä O. J. Autoradiographic studies on the immune response: I. The kinetics of plasma cell proliferation // *J. Exp. Med.* 1962. No. 115(1). P. 209–230. doi: 10.1084/jem.115.1.209

Поступила в редакцию 12.09.2019

Miller D., Dukor P. Biologiya timusa [Biology of thymus]. tr. from German. Moscow: Mir, 1967. 93 p.

Nossal, G. Antitela i immunitet [Antibodies and immunity]. Moscow: Meditsina, 1973. 176 p.

Ovsyannikov A. I. Osnovy opytnogo dela v zhivotnovodstve [Fundamentals of experiments in animal husbandry]. Moscow: Kolos, 1976. 304 p.

Pershin B. B. Vaktsinatsiya i mestnyi immunitet [Vaccination and local immunity]. Leningrad: Meditsina, 1980. 210 p.

Petrov S. V., Raikhlina N. G. (eds). Rukovodstvo po immunogistokhimicheskoi diagnostike opukholei cheloveka [Guidelines for the immunohistochemical diagnosis of human tumors]. Kazan: Titul, 2012. 624 p.

Pravila provedeniya rabot s ispol'zovaniem eksperimental'nykh zhivotnykh: Prilozhenie k Prikazu Minzdrava SSSR ot 12 avg. 1977 g. № 755 [Rules for conducting experiments on animals: Annex to Order of the USSR Ministry of Health Care, Aug. 12, 1977. No. 755].

Sapin M. R. O zakonomernostyakh stroeniya i razvitiya organov immuno sistemy [On the patterns in the structure and development of the organs of the immune system]. *Funktsional'naya morfologiya limfoticheskikh uzlov i drugikh organov immuno sistemy i ikh rol' v immunnykh protsessakh: tez. dokl. Vsesoyuz. nauch. konf.* [Functional morphology of the lymph nodes and other organs of the immune system and their role in immune processes: Abs. All-Union. sci. conf.]. Moscow, 1983. P. 148–149.

Syurin V. N., Fomina N. V., Belousova R. V. Chastnaya veterinarnaya virusologiya [Special veterinary virology]. Moscow: Kolos, 1984. 427 p.

Bianco C., Prilrick R., Nussenzweig V. Population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody complex. *J. Exp. Med.* 1970. Vol. 134, no. 4. P. 702–720.

Fioretti A. Die Gaumenmandel Darstellung der Biologie und Physiopathologie. Stuttgart, 1961. 234 p.

Jondall M., Holm J., Wogzell H. Surface markers of human B- and T-lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmunerosettes with sheep red blood cells. *J. Exp. Med.* 1972. Vol. 136, no. 2. P. 207–215.

Nossal G. J., Mäkelä O. J. Autoradiographic studies on the immune response: I. The kinetics of plasma cell proliferation. *J. Exp. Med.* 1962. No. 115(1). P. 209–230. doi: 10.1084/jem.115.1.209

Received September 12, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Окулова Ираида Ивановна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: okulova_i@mail.ru

Домский Игорь Александрович

директор, чл.-корр. РАН, д. вет. н., проф.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: gnu-vniioz@mail.ru

Березина Юлия Анатольевна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: uliya180775@bk.ru

Бельтюкова Зинаида Николаевна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: Labvet@mail.ru

Кошурникова Мария Александровна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: koshurnikova@vniioz-kirov.ru

CONTRIBUTORS:

Okulova, Iraida

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: okulova_i@mail.ru

Domsky, Igor

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: gnu-vniioz@mail.ru

Berezina, Yulia

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: uliya180775@bk.ru

Bel'tyukova, Zinaida

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: Labvet@mail.ru

Koshurnikova, Maria

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: koshurnikova@vniioz-kirov.ru

УДК 571.27

CD8⁺ И CD4⁺ РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Г. А. Жулай¹, А. В. Новицкая¹, А. В. Чуров¹, А. А. Романов²,
К. Ы. Мамашов³, А. Е. Тонкушина³

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

² Республиканский онкологический диспансер, Петрозаводск, Россия

³ Кемеровский государственный медицинский университет, Россия

Патогенез колоректального рака (КРР) тесно связан с развитием противоопухолевого иммунного ответа. Важная роль в регуляции иммунного ответа отводится регуляторным Т-клеткам (Трег), которые могут препятствовать эффективному распознаванию и элиминации клеток опухоли. Целью работы было исследование содержания периферических CD8⁺ и CD4⁺ Трег-клеток на разных стадиях КРР. Анализ экспрессии мембранных и внутриклеточных маркеров осуществляли методом многоцветной проточной цитометрии. У пациентов с КРР наблюдалось накопление периферических CD8⁺ и CD4⁺ Трег-лимфоцитов на всех стадиях КРР. Наряду с этим происходило достоверное снижение числа активированных Т-хелперов.

Ключевые слова: колоректальный рак; CD8; FOXP3; Трег-клетки; иммуносупрессия; лимфоциты.

G. A. Zhulai, A. V. Novitskaia, A. V. Churov, A. A. Romanov, K. Y. Mamashov, A. E. Tonkushina. CD8⁺ AND CD4⁺ REGULATORY T CELLS IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

The pathogenesis of colorectal cancer (CRC) is closely associated with the development of antitumor immune response. An important role in the regulation of the immune response belongs to regulatory T cells (Treg), which may interfere with effective recognition and elimination of tumor cells. The aim of this study was to investigate the stage-specific content of peripheral CD8⁺ Treg cells in patients with CRC. The expression of membrane and intracellular markers was analyzed by multicolor flow cytometry. Patients with CRC exhibited an accumulation of peripheral CD8⁺ and CD4⁺ Treg lymphocytes at all stages of the disease. Along with this, there was a significant decrease in the number of activated T-helpers.

Key words: Colorectal cancer; CD8; FOXP3; Treg cells; immunosuppression; lymphocytes.

Введение

Колоректальный рак (КРР) – одна из распространенных форм злокачественных заболева-

ний. В 2018 году в мире было зарегистрировано свыше 1,8 миллиона случаев первичного КРР, 881 000 из которых оказались летальными. В целом КРР занимает третье место по заболе-

ваемости и второе по смертности [Bray et al., 2018].

Развитие КРР связано с инфильтрацией опухоли клетками иммунной системы [Salama et al., 2009; Nosho et al., 2010]. В частности, ряд исследований демонстрируют, что усиление инфильтрации Т-клетками, экспрессирующими маркеры CD8⁺ и CD45RO⁺, коррелирует с благоприятным прогнозом течения КРР. В этом случае высокое содержание в опухоли CD8⁺ и CD45RO⁺ Т-клеток тесно связано с низким инвазивным потенциалом злокачественной опухоли, ранней стадией заболевания и лучшей выживаемостью пациентов [Galon et al., 2006; Vlad et al., 2015].

Роль регуляторных Т-клеток (Treg) в патологии КРР до сих пор обсуждается и четко не определена. Исследования показали, что Treg-клетки человека фенотипически и функционально разнообразны, что позволяет разделить их на ряд субпопуляций [Sakaguchi et al., 2010; Byrne et al., 2011; Yoshii et al., 2012]. FOXP3 (forkhead box P3) экспрессирующие Treg, как правило, подразделяются на CD4⁺CD25⁺ естественные Treg, развивающиеся в тимусе, и индуцированные Treg, генерируемые на периферии [Zhang et al., 2015]. Высокое содержание опухоль-инфильтрирующих Treg-клеток при КРР ассоциировано с плохим клиническим прогнозом и низкой выживаемостью пациентов [Terme et al., 2013]. Высокое содержание инфильтрирующих опухоль FOXP3⁺ Treg-клеток обеспечивает супрессию Т-лимфоцитов, специфичных к антигенам опухоли. Таким образом, в случае преобладания Treg-клеток происходит ослабление противоопухолевого иммунного ответа [Betts et al., 2012]. Между тем выделяют FOXP3⁻ Treg-клетки, к которым относят Tr1, Th3, CD8⁺CD28^{+/-} и Qa1-рестриктированные Т-клетки [Zhang et al., 2015].

Несмотря на то что CD8⁺ регуляторные Т-клетки (CD8⁺ Treg) были открыты в 1970 году, до сих пор остается спорной их роль в иммунном ответе. Считается, что CD8⁺ Treg, как и CD4⁺FOXP3⁺ Treg-клетки, оказывают иммуносупрессорное действие [Yu et al., 2018].

Учитывая текущее состояние проблемы, изучение функционирования Treg-клеток у пациентов с КРР является важным для детального изучения патогенеза заболевания и создания более эффективных подходов к иммунотерапии. Целью работы было исследование содержания периферических CD8⁺ и CD4⁺ Treg-клеток на разных стадиях КРР.

Материалы и методы

В ходе работы проведен анализ 35 образцов периферической крови пациентов с КРР (средний возраст 66 ± 10,5 года) и 46 здоровых доноров (средний возраст 57,7 ± 20,1 года). В исследование были включены пациенты обоих полов в возрасте 18–70 лет с установленным, на основе морфологических, клинических и эндоскопических методов исследования, диагнозом «колоректальный рак». Критериями исключения послужили иные формы новообразований и иммуновоспалительных заболеваний в анамнезе. Пациенты были разделены на две группы (по стадиям КРР): в первую вошли лица с I и II стадиями, во вторую – с III и IV стадиями.

Забор крови для лабораторного анализа осуществлялся из локтевой вены натощак и, в случаях с КРР, до начала терапии. Для взятия материала использовали стандартные вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА-K₃ (4 мл). Экспрессию молекул клетками анализировали на проточном цитометре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США) с добавлением моноклональных антител к CD4, CD8, CD25, FOXP3 и соответствующих изотипических контролей. Сначала проводили окрашивание клеток цельной крови моноклональными антителами к поверхностным антигенам, а после использовали протокол для внутриклеточного окрашивания FOXP3. Для внутриклеточного окрашивания предварительно выделяли мононуклеары крови на градиенте плотности фиколла (1,077 г/мл), а затем применяли набор буферов с возможностью фиксации и пермеабиллизации клеток производства eBioscience (США).

Статистическую обработку массива данных проводили в пакете программ Statistica 6.0. Достоверность различия между группами рассчитывали с применением критерия Манна – Уитни (уровень значимости $p < 0,05$). Полученные данные представлены в виде $M \pm SD$.

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

Результаты и обсуждение

В настоящее время используются различные маркеры для идентификации Treg-клеток. Как правило, применяют CD25, CD39, CD73, CD127 и FOXP3. Среди них ключевым маркером является FOXP3, экспрессия и функции которого тесно связаны с функциональной ак-

Содержание Трег-клеток у здоровых доноров и у больных КРР на разных стадиях заболевания (% от CD4⁺ Т-клеток)

The content of Treg-cells in the healthy donors and in patients with CRC at different stages of the disease (% of CD4⁺ T cells)

Фракция Fraction	Здоровые доноры Healthy donors	Больные КРР Patients with CRC	
		I–II стадии Stage I–II	III–IV стадии Stage III–IV
CD4 ⁺ CD25 ⁺	20,92 ± 8,7	18,28 ± 8,61*	13,85 ± 4,46*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺	4,52 ± 1,7	6,88 ± 2,02*	5,20 ± 2,33*
CD8 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺	0,32 ± 0,2	0,94 ± 0,54*	1,42 ± 0,88*

Примечание. *Различия достоверны по сравнению с контролем; КРР – колоректальный рак; данные представлены в виде M ± SD (где M – среднее значение выборки, SD – стандартное отклонение).

Note. *The differences are significant compared with the control; CRC – colorectal cancer; the data are presented in the form M ± SD (where M is the mean and SD is the standard deviation).

тивностью Трег-клеток. Известно, что FOXP3 экспрессируется как в CD4⁺CD25⁺ Т-клетках, так и в CD8⁺ Т-клетках [Yu et al., 2018]. В работе был проведен анализ количества Трег-клеток с фенотипами CD8⁺FOXP3⁺, CD4⁺FOXP3⁺ и CD4⁺CD25⁺. Полученные данные представлены в таблице.

При прогрессировании КРР были установлены значительные изменения в популяционном составе Трег-клеток. Наиболее высокий уровень CD8⁺ Т-клеток, экспрессирующих маркер FOXP3, отмечался в периферической крови больных КРР на III–IV стадии заболевания (табл.). Также было отмечено снижение числа активированных CD4⁺CD25⁺ Т-хелперов на всех стадиях онкогенеза. Показано сокращение численности CD4⁺CD25⁺ в 1,5 раза на поздних стадиях по сравнению с контролем (табл.). Вместе с тем по мере прогрессирования КРР наблюдаются значительные колебания в содержании CD4⁺FOXP3⁺ Трег-клеток. На ранних стадиях заболевания (I–II) число CD4⁺FOXP3⁺ клеток было выше по сравнению с контролем и составило 6,88 ± 2,02 %, а по мере прогрессирования (III–IV стадия) – 5,20 ± 2,33 % против 4,52 ± 1,70 % в контроле (p < 0,05) (табл.).

Противоопухолевый иммунитет – многокомпонентный процесс, основанный на взаимодействии звеньев адаптивного и врожденного иммунитета, включая множество типов клеток и их продуктов. Патогенез онкозаболеваний, в том числе КРР, сопровождается дисбалансом основных субпопуляций лимфоцитов [Кит и др., 2012]. Важную роль в регуляции иммунных функций играют Трег-клетки. Было показано, что CD8⁺ Трег-клетки пациентов с КРР наряду с детально изученными CD4⁺ Трег также способны эффективно подавлять пролиферацию Т-клеток и секрецию Th1-цитокинов *in vitro* [Chaput et al., 2009; Ward-Hartstonge, Kemp, 2017].

По полученным данным, при КРР происходит значительное увеличение доли CD8⁺ Трег-клеток на всех стадиях развития КРР, в особенности на III и IV стадиях (табл.). Число CD4⁺ Трег было повышенным на начальных этапах развития КРР, после чего наблюдался спад в содержании клеток данного фенотипа. Вероятнее всего, подобные изменения связаны с тем, что CD4⁺ Трег играют более важную роль на ранних стадиях развития опухоли, в то время как CD8⁺ Трег – на более поздних [Elpek et al., 2007].

В настоящее время доказано, что Трег-клетки принимают непосредственное участие в механизмах канцерогенеза [Schott et al., 2010; Watanabe et al., 2010; Zhang et al., 2015; Чуров и др., 2019]. Увеличение содержания Трег-клеток в периферической крови и ткани опухоли ряд авторов связывают с неблагоприятным прогнозом для больных со злокачественными новообразованиями различной локализации [Schott et al., 2010; Watanabe et al., 2010]. В то же время имеются сведения, указывающие на благоприятный прогноз у онкологических больных при высоком содержании опухоли-инфильтрирующих CD8⁺ Трег-клеток [Yu et al., 2018].

В работе продемонстрировано изменение Т-клеточного состава в периферической крови пациентов с КРР, которое выражается в снижении числа активированных CD4⁺CD25⁺ Т-хелперов и увеличении содержания CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ и CD8⁺CD25⁺FOXP3⁺ Трег-клеток, что свидетельствует о развитии системной иммуносупрессии у больных КРР.

Заключение

Полученные данные показывают, что при КРР происходит значительное изменение баланса субпопуляций регуляторных клеток. Нами выявлено повышенное содержание попу-

ляций CD8⁺ и CD4⁺ Treg-клеток, экспрессирующего транскрипционный фактор FOXP3 у больных KPP на ранних и поздних стадиях заболевания. Отмечена тенденция к снижению числа CD4⁺CD25⁺ активированных Т-хелперов.

В целом эти данные свидетельствуют об увеличении уровня иммунной супрессии при KPP. Для детального понимания роли различных субпопуляций Treg-клеток в патогенезе KPP требуется проведение дальнейших исследований, направленных на изучение функциональной роли и молекулярных механизмов супрессорной активности Treg-клеток, а также поиск маркеров для идентификации Treg-клеток с целью разработки подходов к их практическому использованию в клинических целях.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0083).

Литература

- Кит О. И., Шапошников А. В., Златник Е. Ю., Никпелова Е. А., Новикова И. А. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки // Сибирское медицинское обозрение. 2012. Т. 76, № 4. С. 1–11.
- Чуров А. В., Новицкая А. В., Коломейчук С. Н., Олейник Е. К. Показатели клеточного иммунитета при ревматоидном артрите: роль цитомегаловирусной инфекции // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64, № 2. С. 98–103.
- Betts G., Jones E., Junaid S. Suppression of tumour-specific CD4⁺ T cells by regulatory T cells is associated with progression of human colorectal cancer // Gut. 2012. Vol. 61. P. 1163–1171. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300970
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L. A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // CA: a cancer journal for clinicians. 2018. Vol. 68, no. 6. P. 394–424. doi: 10.3322/caac.21492
- Byrne W. L., Mills K. H., Lederer J. A., O'Sullivan G. C. Targeting regulatory T cells in cancer // Cancer Res. 2011. Vol. 71, no. 22. P. 6915–6920. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1156
- Chaput N., Louafi S., Bardier A. Identification of CD8⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ suppressive T cells in colorectal cancer tissue // Gut. 2009. Vol. 58, no. 4. P. 520–529. doi: 10.1136/gut.2008.158824
- Elpek K. G., Lacelle C., Singh N. P., Yolcu E. S., Shirwan H. CD4⁺CD25⁺ t regulatory cells dominate multiple immune evasion mechanisms in early but not late phases of tumor development in a B cell lymphoma model // J. Immunol. 2007. Vol. 178. P. 6840–6848. doi: 10.4049/jimmunol.178.11.6840
- Galon J., Costes A., Sanchez-Cabo F., Kirilovsky A., Mlecnik B., Lagorce-Pagès C. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome // Science. 2006. Vol. 313, no. 5795. P. 1960–1964. doi: 10.1126/science.1129139
- Lasry A., Zinger A., Ben-Neriah Y. Inflammatory networks underlying colorectal cancer // Nature immunology. 2016. Vol. 17, no. 3. P. 230. doi: 10.1038/ni.3384
- Nosho K., Baba Y., Tanaka N. Tumour-infiltrating T-cell subsets, molecular changes in colorectal cancer, and prognosis: cohort study and literature review // J. Pathol. 2010. Vol. 222, no. 4. P. 350–366. doi: 10.1002/path.2774
- Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C. M., Haffner D. A. FOXP3⁺ regulatory T cells in the human immune system // Nat. Rev. Immunol. 2010. Vol. 10, no. 7. P. 490–500. doi: 10.1038/nri2785
- Salama P., Phillips M., Grieu F. Tumor-infiltrating FOXP3⁺ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer // J. Clin. Oncol. 2009. Vol. 27, no. 2. P. 186–192. doi: 10.1200/JCO.2008.18.7229
- Schott A. K., Pries R., Wollenberg B. Permanent up-regulation of regulatory T-lymphocytes in patients with head and neck cancer // Int. J. Mol. Med. 2010. Vol. 26, no. 1. P. 67–75. doi: 10.3892/ijmm_00000436
- Terme M., Pernot S., Marcheteau E., Sandoval F., Benhamouda N., Colussi O., Dubreuil O., Carpentier A. F., Tartour E., Taieb J. VEGFA-VEGFR pathway blockade inhibits tumor-induced regulatory T-cell proliferation in colorectal cancer // Cancer Res. 2013. Vol. 73. P. 539–549. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2325
- Vlad C., Kubelac P., Fetica B., Vlad D., Irimie A., Achimas-Cadariu P. The prognostic value of FOXP3⁺ T regulatory cells in colorectal cancer // J. Buon. 2015. Vol. 20, no. 1. P. 114–119.
- Ward-Hartstonge K. A., Kemp R. A. Regulatory T-cell heterogeneity and the cancer immune response // Clin. Transl. Immunology. 2017. Vol. 6, no. 9. P. e154. doi: 10.1038/cti.2017.43
- Watanabe M. A. E., Oda J. M. M., Amarante M. K., Voltarelli J. C. Regulatory T cells and breast cancer: implications for immunopathogenesis // Canc. Metastasis Rev. 2010. Vol. 29, no. 4. P. 569–579. doi: 10.1007/s10555-010-9247-y
- Yoshii M., Tanaka H., Ohira M., Muguruma K., Iwachi T., Lee T., Sakurai K., Kubo N., Yashiro M., Sawada T., Hirakawa K. Expression of Forkhead box P3 in tumour cells causes immunoregulatory function of signet ring cell carcinoma of the stomach // Br. J. Cancer. 2012. Vol. 106, no. 10. P. 1668–1674. doi: 10.1038/bjc.2012.141
- Yu Y., Ma X., Gong R., Zhu J., Wei L., Yao J. Recent advances in CD8⁺ regulatory T cell research // Oncol. Lett. 2018. Vol. 15, no. 6. P. 8187–8194. doi: 10.3892/ol.2018.8378
- Zhang X., Kelaria S., Kerstetter J., Wang J. The functional and prognostic implications of regulatory T cells in colorectal carcinoma // J. Gastrointest Oncol. 2015. Vol. 6, no. 3. P. 307–313. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.017

Поступила в редакцию 23.07.2019

References

- Churov A. V., Novitskaya A. V., Kolomeichuk S. N., Oleinik E. K. Pokazateli kletchnogo immuniteta pri revmatoidnom artrite: rol' tsitomegalovirusnoi infektsii [Cellular immunity parameters in rheumatoid arthritis: the role of cytomegalovirus infection]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clinical laboratory diagnostics]. 2019. Vol. 64, no. 2. P. 98–103.
- Kit O. I., Shaposhnikov A. V., Zlatnik E. Yu., Nikipelova E. A., Novikova I. A. Mestnyi kletchnyi immunitet pri adenokartsinome i polipakh tolstoi kishki [Local cellular immunity in adenocarcinoma and colon polyps]. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* [Siberian Medical Review]. 2012. Vol. 76, no. 4. P. 1–11.
- Betts G., Jones E., Junaid S., El-Shanawany T., Scurr M., Mizen P., Kumar M., Jones S., Rees B., Williams G., Gallimore A., Godkin A. Suppression of tumour-specific CD4+ T cells by regulatory T cells is associated with progression of human colorectal cancer. *Gut*. 2012. Vol. 61. P. 1163–1171. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300970
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L. A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: Cancer J. Clin.* 2018. Vol. 68, no. 6. P. 394–424. doi: 10.3322/caac.21492
- Byrne W. L., Mills K. H., Lederer J. A., O'Sullivan G. C. Targeting regulatory T cells in cancer. *Cancer Res.* 2011. Vol. 71, no. 22. P. 6915–6920. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1156
- Chaput N., Louafi S., Bardier A. Identification of CD8+ CD25+ Foxp3+ suppressive T cells in colorectal cancer tissue. *Gut*. 2009. Vol. 58, no. 4. P. 520–529. doi: 10.1136/gut.2008.158824
- Elpek K. G., Lacelle C., Singh N. P., Yolcu E. S., Shirwan H. CD4+CD25+ T regulatory cells dominate multiple immune evasion mechanisms in early but not late phases of tumor development in a B cell lymphoma model. *J. Immunol.* 2007. Vol. 178. P. 6840–6848. doi: 10.4049/jimmunol.178.11.6840
- Galon J., Costes A., Sanchez-Cabo F., Kirilovsky A., Mlecnik B., Lagorce-Pagès C. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006. Vol. 313, no. 5795. P. 1960–1964. doi: 10.1126/science.1129139
- Lasry A., Zinger A., Ben-Neriah Y. Inflammatory networks underlying colorectal cancer. *Nat. Immunol.* 2016. Vol. 17, no. 3. P. 230. doi: 10.1038/ni.3384
- Nosho K., Baba Y., Tanaka N. Tumour-infiltrating T-cell subsets, molecular changes in colorectal cancer, and prognosis: cohort study and literature review. *J. Pathol.* 2010. Vol. 222, no. 4. P. 350–366. doi: 10.1002/path.2774
- Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C. M., Hafler D. A. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2010. Vol. 10, no. 7. P. 490–500. doi: 10.1038/nri2785
- Salama P., Phillips M., Grieu F. et al. Tumour-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009. Vol. 27, no. 2. P. 186–192. doi: 10.1200/JCO.2008.18.7229
- Schott A. K., Pries R., Wollenberg B. Permanent up-regulation of regulatory T-lymphocytes in patients with head and neck cancer. *Int. J. Mol. Med.* 2010. Vol. 26, no. 1. P. 67–75. doi: 10.3892/ijmm_00000436
- Terme M., Pernot S., Marcheteau E., Sandoval F., Benhamouda N., Colussi O., Dubreuil O., Carpentier A. F., Tartour E., Taieb J. VEGFA-VEGFR pathway blockade inhibits tumor-induced regulatory T-cell proliferation in colorectal cancer. *Cancer Res.* 2013. Vol. 73. P. 539–549. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2325
- Vlad C., Kubelac P., Fetica B., Vlad D., Irimie A., Achimas-Cadariu P. The prognostic value of FOXP3+ T regulatory cells in colorectal cancer. *J. Buon.* 2015. Vol. 20, no. 1. P. 114–119.
- Ward-Hartstonge K. A., Kemp R. A. Regulatory T-cell heterogeneity and the cancer immune response. *Clin. Transl. Immunology*. 2017. Vol. 6, no. 9. P. e154. doi: 10.1038/cti.2017.43
- Watanabe M. A. E., Oda J. M. M., Amarante M. K., Voltarelli J. C. Regulatory T cells and breast cancer: implications for immunopathogenesis. *Canc. Metastasis Rev.* 2010. Vol. 29, no. 4. P. 569–579. doi: 10.1007/s10555-010-9247-y
- Yoshii M., Tanaka H., Ohira M., Muguruma K., Iwachi T., Lee T., Sakurai K., Kubo N., Yashiro M., Sawada T., Hirakawa K. Expression of Forkhead box P3 in tumour cells causes immunoregulatory function of signet ring cell carcinoma of the stomach. *Br. J. Cancer*. 2012. Vol. 106, no. 10. P. 1668–1674. doi: 10.1038/bjc.2012.141
- Yu Y., Ma X., Gong R., Zhu J., Wei L., Yao J. Recent advances in CD8+ regulatory T cell research. *Oncol. Lett.* 2018. Vol. 15, no. 6. P. 8187–8194. doi: 10.3892/ol.2018.8378
- Zhang X., Kelaria S., Kerstetter J., Wang J. The functional and prognostic implications of regulatory T cells in colorectal carcinoma. *J. Gastrointest Oncol.* 2015. Vol. 6, no. 3. P. 307–313. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.017

Received July 23, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Жулай Галина Анатольевна

младший научный сотрудник группы иммунологии
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: zhgali-111@yandex.ru
тел.: (8142) 769810

Новицкая Анастасия Васильевна

старший биолог группы иммунологии
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: anestos@ya.ru
тел.: (8142) 769810

Чуров Алексей Викторович

старший научный сотрудник группы иммунологии, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: achurou@yandex.ru
тел.: (8142) 769810

Романов Александр Анатольевич

заведующий отделением, врач хирург-онколог
Республиканский онкологический диспансер
Лососинское ш., 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185002
эл. почта: tiffози@mail.ru
тел.: (8142) 764230

Мамашов Кылымбек Ырысбекович

студент
Кемеровский государственный медицинский университет
ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, Россия, 650056
эл. почта: kmamashov@inbox.ru

Тонкушина Анастасия Евгеньевна

студентка
Кемеровский государственный медицинский университет
ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, Россия, 650056
эл. почта: Tnastyа996@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Zhulai, Galina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: zhgali-111@yandex.ru
tel.: (8142) 769810

Novitskaya, Anastasia

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

Churov, Aleksey

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

Romanov, Alexander

Republican Oncology Centre
11 Lososinskoe Sh., 185002 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tiffози@mail.ru
tel.: (8142) 764230

Mamashov, Kylymbek

Kemerovo State Medical University
22a Voroshilov St., 650056 Kemerovo, Russia
e-mail: kmamashov@inbox.ru

Tonkushina, Anastasia

Kemerovo State Medical University
22a Voroshilov St., 650056 Kemerovo, Russia
e-mail: Tnastyа996@gmail.com

УДК 577.125.8

ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ, ИМЕЮЩИХ РАЗНЫЕ АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАЦИИ ГЕНА *NOS2*

Л. В. Топчиева¹, В. А. Корнева², О. В. Балан¹, И. Е. Малышева¹,
И. В. Курбатова¹

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

² Петрозаводский государственный университет, Россия

Проанализировано содержание липидов в крови здоровых людей и больных эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) (I–II стадии), имеющих разные аллельные вариации по полиморфным маркерам (*rs1800482* и *rs3730017*) гена индуцибельной синтазы оксида азота *NOS2*, носительство которых связано с изменением уровня оксида азота в плазме крови. Обнаружена положительная корреляция уровня оксида азота в плазме крови с содержанием общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности ($\rho = 0,74$ и $0,89$ соответственно). Показано, что у пациентов с ЭАГ, имеющих в генотипе аллель С по *rs1800482*, снижено содержание холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) по сравнению с носителями генотипа GG ($p = 0,005$). Индекс атерогенности оказался значимо выше у здоровых и больных индивидов, носителей аллеля С по указанному полиморфному маркеру ($p = 0,04$). Выявлено влияние генотипа по *rs1800482* на содержание ХС-ЛПВП (Test statistic = 7,90; $p = 0,0049$) и индекс атерогенности (Test statistic = 4,02; $p = 0,045$). Полученные данные свидетельствуют о том, что ранее продемонстрированный высокий риск развития ЭАГ у лиц, имеющих в генотипе аллель С по *rs1800482*, может быть связан с изменением соотношения у них атерогенной и антиатерогенной фракции липидов в плазме крови.

Ключевые слова: липидный спектр плазмы крови; эссенциальная артериальная гипертензия; оксид азота; ген *NOS2*; аллельный полиморфизм.

**L. V. Topchieva, V. A. Korneva, O. V. Balan, I. E. Malysheva,
I. V. Kurbatova. LIPID SPECTRUM IN PATIENTS WITH ESSENTIAL
ARTERIAL HYPERTENSION AND HEALTHY PEOPLE WITH DIFFERENT
NOS2 GENE ALLELIC VARIATIONS**

The plasma lipid profile was analyzed in healthy people and patients with essential arterial hypertension (EAH) (stages I–II) with different allelic variations in the inducible nitric oxide synthase (*NOS2*) gene polymorphic markers (*rs1800482* and *rs3730017*). These polymorphic markers are associated with a change in the plasma level of nitric oxide. We found a positive correlation between nitric oxide plasma level and total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol content ($\rho = 0.74$ and 0.89 , respectively). It was shown that patients with EAH carrying the C allele of *rs1800482* had a lower level of high-density lipoprotein cholesterol compared to those with the GG genotype ($p = 0.005$). The atherogenic index was significantly higher in healthy and sick individuals carrying the C allele of the studied polymorphism ($p = 0.04$). The effect of the *rs1800482* genotype on the high-density lipoprotein cholesterol content (Test statistic = 7.90;

$p = 0.0049$) and the atherogenic index (Test statistic = 4.02; $p = 0.045$) was revealed. The data obtained indicate that the previously demonstrated high risk of EAG developing in individuals carrying the C allele of rs1800482 may be associated with a change in the plasma atherogenic and anti-atherogenic lipid fractions ratio.

Key words: blood plasma lipid spectrum; essential arterial hypertension; nitrogen oxide; *NOS2* gene; allelic polymorphism.

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания, в том числе эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ), сопровождаются изменениями липидного состава крови [Базина, Козырев, 2010]. У пациентов с ЭАГ по сравнению со здоровыми индивидами в плазме крови снижено содержание холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), повышено содержание холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и их окисленных форм, триацилглицеринов (ТГ). Сдвиг липидного профиля в атерогенную сторону является фактором риска сердечно-сосудистых событий, таких как инсульт, инфаркт миокарда. Известно, что кристаллы холестерина и окисленные формы холестерина выступают в качестве молекул, ассоциированных с повреждением (DAMP – danger associated molecular patterns). DAMP активируют паттерн-распознающие рецепторы на поверхности ряда иммунных клеток, что приводит к возникновению и реализации воспалительного сигнала [Viridis et al., 2014]. ХС-ЛПНП и их окисленные формы активируют не только иммунные клетки, но и клетки эндотелия, которые начинают продуцировать разнообразные цитокины и хемокины, привлекающие моноциты и нейтрофилы к местам отложения липопротеинов [Viridis et al., 2014]. Повышение содержания в плазме крови цитокинов, продуцируемых рядом иммунных клеток, как известно, способствует усилению активности индуцибельной синтазы оксида азота (*NOS2*) и выработки ею оксида азота [Förstermann, Sessa, 2012]. Оксид азота (NO), генерируемый за счет *NOS2*, взаимодействует с активными формами кислорода (супероксидрадикалом и пероксидом водорода), уровень которых в крови и других тканях организма значительно возрастает в условиях воспаления [Habib, Ali, 2011]. Это приводит к снижению биодоступности NO и накоплению активных форм азота, в частности пероксинитрита. Активные формы кислорода и азота окисляют ХС-ЛПНП [Carr et al., 2000; Katoor et al., 2017]. Таким образом может формироваться цикл воспалительных реакций, связанных с повышенным содержанием

ХС-ЛПНП и NO в плазме крови. Однако вопрос о том, связано ли повышение уровня NO в кровяном русле с изменением липидного профиля, до конца не решен. По одним данным, снижение продукции и биодоступности этой газобразной молекулы способствует накоплению атерогенной фракции липидов – окисленных форм ХС-ЛПНП, ТГ, свободных жирных кислот и снижению антиатерогенной фракции – ХС-ЛПВП [Kumar et al., 2014]. Низкий уровень NO в плазме крови может увеличивать риск развития дислипидемии [Miyata et al., 2017]. Согласно другим исследованиям, уровень продукции NO не связан с содержанием ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП и ТГ [Gürlek et al., 2016; Yang et al., 2017; Bernatova et al., 2018]. Например, Бернатова с соавторами показали, что активность синтазы оксида азота в крови гипертензивных крыс была выше, чем у крыс Wistar-Kyoto с нормальным артериальным давлением [Bernatova et al., 2018]. Тем не менее достоверных различий в содержании ХС-ЛПНП у этих животных не обнаружено. Гюрлек с соавторами выявили существенное повышение концентрации метаболитов оксида азота (NOx) в плазме крови пациентов с эктазией коронарных артерий [Gürlek et al., 2016]. Однако, по данным этого исследования, уровни ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП и ТГ в плазме крови больных людей и здоровых индивидов не отличались. Возможно, указанные противоречия обусловлены особенностями выработки NO в обычных физиологических условиях и при воспалении, т. е. за счет какого фермента – индуцибельной (*NOS2*) или эндотелиальной (*NOS3*) синтазы оксида азота преимущественно осуществляется его синтез. У мышей с красной волчанкой нокаут гена *NOS2* приводил к повышению содержания уровня ТГ и окисленных ЛПНП по сравнению с контрольными животными [Al Gadban et al., 2012]. Таким образом, изменение содержания или активности *NOS2* в условиях воспаления может влиять на соотношение фракций липидов в плазме крови. Ранее показано, что носительство аллельных вариаций гена *NOS2* по некоторым полиморфным маркерам связано с содержанием NOx в плазме крови здоровых людей и пациентов с ЭАГ [Топчиева и др., 2019]. Не исключено, что

Таблица 1. Условия ПЦР-ПДРФ анализа

Table 1. Conditions for PCR-RFLP analysis

Ген, SNV Gene, SNV	Нуклеотидная последовательность праймеров 5'...3' Nucleotide sequence of primers 5'...3'	Эндонуклеаза, условия рестрикции Endonuclease, restriction conditions	Аллели, длина фрагментов Alleles, fragment length	Источник Source
<i>NOS2</i> rs1800482 (промотор) (promoter)	<i>F</i> : CATATGTATGGGAATACTGTATTTTCAG <i>R</i> : TCTGAAC TAGTCACTTGAGG	Bso1 (1 е. а.), 55 °С 3 ч	С – 573 п. о., G – 437, 136 п. о.	Levesque et al., 1999
<i>NOS2</i> rs3730017 (7 экзон) (7 exon)	<i>F</i> : CTGGGGTCTTCTGAGTGGG <i>R</i> : TTCTCCCTGGTTTCTCCTG	Msp1 (1 е. а.), 37 °С 5 ч	С – 470 п. о., Т – 290, 170, 10 п. о.	Собственный дизайн Own design

оно также влияет на особенности распределения у них фракций ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП. Цель исследования – анализ содержания липидов в плазме крови здоровых доноров и пациентов с ЭАГ, имеющих разные аллельные вариации по rs1800482 и rs3730017.

Материалы и методы

Для определения содержания липидов и генотипирования использованы 48 образцов цельной крови доноров контрольной группы и 91 образец цельной крови пациентов с ЭАГ (I–II стадии). Средний возраст доноров контрольной группы составил $38,17 \pm 1,36$ года; пациентов с ЭАГ – $48,31 \pm 1,66$ года. Диагноз ЭАГ был установлен впервые врачами ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г. Петрозаводска с учетом существующих рекомендаций по артериальной гипертензии (ESC, 2018). Обследование доноров, включенных в контрольную группу, проводилось врачами ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г. Петрозаводска в ходе диспансеризации. Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета, перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания, курение табака, беременность и лактация, алкогольная зависимость, индекс массы тела ≥ 28 кг/м². Дополнительный критерий исключения из биохимического анализа – гипотензивная, противовоспалительная терапия. Все доноры являлись жителями Республики Карелия. На проведение исследований получено согласие Комитета по медицинской этике Минздравсоцразвития РК и ПетрГУ.

ДНК выделяли с помощью наборов Axy-Prep Blood Genomic DNA Miniprep Kit («Ахуген», США) и К-Сорб («Синтол», Россия). Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе MaxuGene («Ахугене», США),

используя реакционную смесь ScreenMix-HS («Евроген», Россия). Праймеры, условия ПЦР и рестрикции указаны в таблице 1.

Для определения содержания нитритов и нитратов использовано 82 образца плазмы крови, подобранных случайным образом из выборки для генотипирования. В контрольную группу вошли 30 доноров (12 мужчин и 18 женщин) в возрасте $39 \pm 1,63$ года. Группа пациентов с ЭАГ (I–II стадии) включала 52 человека (31 мужчина и 21 женщина) в возрасте $42 \pm 2,78$ года. Уровень NOx в плазме, т. е. суммарную концентрацию нитратов (NO₃⁻) и нитритов (NO₂⁻), определяли колориметрическим методом по развитию окраски в реакции диазотирования нитритом сульфаниламида, входящего в состав реактива Грисса («Ленреактив», Россия) [Метельская, Гуманова, 2005]. Оптическую плотность раствора измеряли при λ 540 нм на микропланшетном ридере CLARIOstar (BMGLabtech, Германия). Содержание NOx рассчитывали по калибровочной кривой. Измерения проводили в 3-кратной аналитической повторности.

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

$$\text{ИА (усл. ед)} = (\text{ОХС} - \text{ХСЛПВП}) / \text{ХСЛПВП}.$$

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения Statgraphics Centurion. Для оценки различий биохимических показателей в группах исследования и влияния на них генотипов использовали непараметрический критерий U

Вилкоксона – Манна – Уитни и дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса. Проведен корреляционный анализ по Спирмену содержания NOx, общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности, холестерина липопротеинов высокой плотности, триацилглицерина и значений ИА. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$. Возраст доноров указан в виде средних значений и стандартной ошибки среднего. Показатели содержания липопротеинов и ИА приведены в виде средних значений со стандартной ошибкой.

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

Результаты

Согласно значениям рангового коэффициента корреляции Спирмена, имеется тесная связь (по шкале Чеддока) между уровнем NOx и содержанием ОХС и ХС-ЛПНП в плазме крови (табл. 2). Зависимость признаков статистически значима.

Таблица 2. Результаты корреляционного анализа содержания фракций липидов и метаболитов оксида азота (NOx) в плазме крови

Table 2. The results of the correlation analysis of the lipid fractions and nitric oxide metabolites (NOx) content in plasma

	ОХС Total cholesterol	ЛПНП LDL	ЛПВП HDL	ТГ TG	NO
ОХС Total cholesterol		0,8862	0,4729	-0,0525	0,7391
p		0,0033	0,1168	0,8617	0,0142
ЛПНП LDL	0,8862		0,2727	-0,014	0,6713
p	0,0033		0,3657	0,963	0,026
ЛПВП HDL	0,4729	0,2727		-0,4965	0,4196
p	0,1168	0,3657		0,0996	0,164
ТГ TG	-0,0525	-0,014	-0,4965		-0,1329
p	0,8617	0,963	0,0996		0,6594
NO	0,7391	0,6713	0,4196	-0,1329	
p	0,0142	0,026	0,164	0,6594	

Примечание. Здесь и в табл. 3: ОХС – общий холестерин, ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триацилглицерина. NO – оксид азота.

Note. Here and in Tab. 3: Total cholesterol – cholesterol, HDL – high density lipoprotein cholesterol, LDL – low density lipoprotein cholesterol, TG – triacylglycerol. NO – nitric oxide.

Дисперсионный анализ по Краскелу – Уоллису не выявил влияния уровня оксида азота на эти показатели (Test statistic = 26,00 и 21,89; $p = 0,350$ и $0,240$ соответственно).

Проанализирован уровень отдельных фракций липидов в плазме крови здоровых людей и больных ЭАГ (I–II стадии), имеющих разные аллельные вариации по rs1800482 (-954G>C) и rs3730017 (T>C) гена NOS2 (табл. 3). Обнаружены значимые различия в содержании ХС-ЛПВП и значении ИА у больных ЭАГ, носителей аллельных вариаций по rs1800482 (-954G>C). У лиц, имеющих аллель С, содержание ХС-ЛПВП в плазме крови существенно меньше, чем у носителей GG-генотипа ($p = 0,005$). ИА в группе пациентов с ЭАГ, имеющих GG-генотип, оказался значимо ниже по сравнению с носителями CC+GC генотипов ($p = 0,04$). Дисперсионный анализ по Краскелу – Уоллису выявил влияние генотипа на содержание ХС-ЛПВП (Test statistic = 7,90; $p = 0,0049$) и ИА (Test statistic = 4,02; $p = 0,045$). Содержание ОХС, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП и показатель ИА в группе больных и здоровых людей, имеющих разные аллельные вариации по rs3730017, не различались.

Обсуждение

Длительное повышение артериального давления приводит к проатерогенным нарушениям липидного обмена, т. е. к накоплению холестерина липопротеинов очень низкой плотности, холестерина липопротеинов низкой плотности и снижению содержания холестерина липопротеинов высокой плотности [Ослопов и др., 2013]. Помимо этого, у больных артериальной гипертензией (АГ) выявляется повышенный уровень метаболитов оксида азота в кровяном русле [Люсов и др., 2011; Топчиева и др., 2019]. Оба этих процесса, с одной стороны, являются следствием развития патогенетических механизмов АГ, а с другой, могут выступать в качестве этиологических факторов этого заболевания. Так, накопление атерогенных фракций липидов способствует развитию атеросклероза, важного фактора повышения давления крови [Ослопов и др., 2013]. Высокий уровень NO как источника активных форм азота способствует повреждению белков, ДНК, воспалению стенок сосудов [Habib, Ali, 2011]. Выявленная нами положительная корреляция уровня ОХС, ХС-ЛПНП и содержания NOx в плазме крови подтверждает немногочисленные литературные данные о том, что уровень оксида азота и изменение липидного профиля связаны между собой [Al

Таблица 3. Липидный состав плазмы крови здоровых людей и пациентов с ЭАГ – носителей разных генотипов по полиморфным вариантам rs1800482 и rs3730017 гена NOS2

Table 3. The lipid composition of the blood plasma of healthy people and patients with EAH – carriers of different genotypes according to the polymorphic variants of rs1800482 and rs3730017 of the NOS2 gene

Группы Groups	Контрольная Control		ЭАГ (I–II стадии) EAH (I–II stage)		Контрольная Control		ЭАГ (I–II стадии) EAH (I–II stage)	
Полиморфный вариант Polymorphic variant	rs1800482				rs3730017			
Генотип Genotype	GG (n=18)	GC+CC (n=20)	GG (n=46)	GC+CC (n=45)	CC (n=23)	CT+TT (n=25)	CC (n=43)	CT+TT (n=22)
ОХС, ммоль/л Total cholesterol, mmol/l	5,17 ± 0,32	5,13 ± 0,24	6,61 ± 0,28	6,46 ± 0,42	5,85 ± 0,42	5,42 ± 0,34	6,07 ± 0,21	6,58 ± 0,50
ЛПВП, ммоль/л HDL, mmol/l	1,54 ± 0,15	1,45 ± 0,10	1,46 ± 0,08	1,16 ± 0,07*	1,7 ± 0,65	1,54 ± 0,14	1,28 ± 0,04	1,25 ± 0,07
ЛПНП, ммоль/л LDL, mmol/l	3,33 ± 0,30	3,30 ± 0,33	4,7 ± 0,36	4,75 ± 0,38	4,02 ± 0,25	3,66 ± 0,29	4,25 ± 0,20	4,26 ± 0,33
ТГ, ммоль/л TG, mmol/l	1,47 ± 0,20	1,60 ± 0,17	1,67 ± 0,42	2,03 ± 0,35	1,74 ± 0,22	1,26 ± 0,14	1,68 ± 0,12	1,77 ± 0,21
ИА AI	2,72 ± 0,28	3,51 ± 0,22*	4,46 ± 0,25	5,56 ± 0,41*	3,18 ± 0,28	2,86 ± 0,39	4,13 ± 0,17	4,08 ± 0,29

Примечание. ИА – индекс атерогенности.

*Различия значимы при сравнении с носителями GG-генотипа ($p < 0,05$).

Note. IA – atherogenicity index.

* Differences are significant when compared with carriers of the GG genotype ($p < 0.05$).

Gadban et al., 2012; Kumar et al., 2014; Miyata et al., 2017].

Оксид азота может напрямую или косвенно влиять на липидный спектр. Так, показано, что экзогенный NO активирует липазу некоторых бактерий и дрожжей [Taskin et al., 2016]. Значимую роль в обмене липидов играет липопротеинлипаза (ЛПЛ). ЛПЛ расщепляет ТГ самых крупных по размеру и богатых липидами липопротеинов плазмы крови – хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности. Снижение ее активности может привести к дислипидемии. В культуре адипоцитов, вырабатывающих большое количество фактора некроза опухоли (TNF α), наблюдали увеличение уровня NO и подавление в клетках активности ЛПЛ [Uchida et al., 1997]. Супрессорный эффект усиленного синтеза NO на активность этого фермента ослаблялся при добавлении в среду культивирования ингибиторов NOS. Поскольку ингибитор цГМФ также снижал активность ЛПЛ, авторы сделали вывод, что повышенный уровень NO влияет на активность этого фермента посредством регуляции продукции цГМФ. Артериальная гипертензия сопровождается воспалительным процессом, при котором наблюдается увеличение уровня провоспалительных цитокинов в плазме крови [Bautista et al., 2005]. Провоспалительные цитокины активируют NOS2, что приводит к повышенной продукции

NO [Förstermann, Sessa, 2012]. Вследствие этого при АГ повышенный уровень NO, вероятно, также может ингибировать активность ЛПЛ. Интересно, что не только высокий уровень NO, вырабатываемый за счет активности NOS2, но и его пониженное содержание за счет угнетения функций NOS3 у гипертензивных крыс способствуют снижению активности ЛПЛ и повышению уровня ТГ, ХС-ЛПНП, свободных жирных кислот, фосфолипидов [Kumar et al., 2014].

Другой механизм, посредством которого NO может влиять на уровень разных фракций липидов, – регуляция транскрипционной активности генов, кодирующих провоспалительные белки. Как уже отмечалось выше, в условиях воспаления NO может активировать факторы транскрипции NF- κ B, AP-1, регулирующих синтез провоспалительных белков и NOS2 [Pfeilschifter et al., 2001]. Провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин 6, TNF α , в свою очередь, могут модулировать активность ряда ферментов липидного обмена и влиять на синтез и обмен триацилглицеринов, жирных кислот и холестерина [Kern et al., 1995]. Повышение уровня TNF α в крови способствует усилению продукции активных форм кислорода и активных форм азота, способствующих гипероксидации липидов [Pora et al., 2007]. Кроме этого, в условиях воспаления наблюдается увели-

чение на поверхности эндотелиальных клеток молекул адгезии и проницаемости эндотелия для лейкоцитов и ХС-ЛПНП [Wenzel et al., 2011]. Все это способствует повреждению и воспалению стенок сосудов, повышению давления крови.

Уровень NOx в плазме гипертоников выше, чем у нормотоников [Люсов и др., 2011; Топчиева и др., 2020], и может определяться носительством аллельных вариантов гена *NOS2* [Топчиева и др., 2019]. У пациентов с ЭАГ наличие в генотипе аллеля С по rs1800482 ассоциировано с более высоким содержанием нитритов и нитратов в плазме крови. У больных людей, имеющих в генотипе протективный в отношении данного заболевания аллель Т по rs3730017, содержание NOx ниже, чем у носителей СС-генотипа. Важно, что у пациентов с генотипами GC+CC, у которых наблюдается более высокий уровень NOx в плазме, оказалось более низкое содержание антиатерогенной фракции липидов (ХС-ЛПВП) и более высокое значение индекса атерогенности.

Таким образом, носительство аллельных вариаций по rs1800482 может не только определять уровень оксида азота в плазме крови в условиях воспаления, но и влиять на соотношение атерогенных и антиатерогенных фракций липидов, что, вероятно, является одним из механизмов вовлечения данного полиморфного маркера в развитие ЭАГ.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0077).

Литература

Базина И. Б., Козырев О. А. Нарушения липидного обмена у больных эссенциальной артериальной гипертензией молодого возраста // Вестник Смоленской медицинской академии. 2010. № 1. С. 12–15.

Люсов В. А., Метельская В. А., Оганов Р. Г., Евсиков Е. М., Теплова Н. В. Уровень оксида азота в сыворотке периферической крови больных с различной тяжестью артериальной гипертензии // Кардиология. 2011. № 12. С. 23–28.

Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 6. С. 15–18.

Ослопов В. Н., Хасанов Н. Р., Чугинова Д. Н., Биллах Х. М. Мембранные нарушения в патогенезе основных факторов риска сердечно-сосудистой смерти – артериальной гипертензии и дислипидемии // Вестник современной клинической медицины. 2013. Т. 6, вып. 5. С. 34–37.

Топчиева Л. В., Балан О. В., Корнева В. А., Малышева И. Е. Роль аллельного полиморфизма гена *NOS2* в развитии эссенциальной артериальной гипертензии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019. Т. 168, № 7. С. 91–95.

Топчиева Л. В., Балан О. В., Корнева В. А., Малышева И. Е., Панкрашова К. А. Содержание метаболитов оксида азота и уровень транскриптов генов *NOS2* и *NOS3* у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией // Изв. РАН. Сер. биол. 2020. № 1. С. 1–7. doi: 10.1134/S0002332920010166

Al Gadban M. M., German J., Truman J. P., Soodavar F., Riemer E. C., Twal W. O., Smith K. J., Heller D., Hofbauer A. F., Oates J. C., Hammad S. M. Lack of nitric oxide synthases increases lipoprotein immune complex deposition in the aorta and elevates plasma sphingolipid levels in lupus // Cell Immunol. 2012. Vol. 276. P. 42–51. doi: 10.1016/j.cellimm.2012.03.007

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

Bernatova I., Puzserova A., Balis P., Sestakova N., Horvathova M., Kralovicova Z., Zitnanova I. Chronic stress produces persistent increases in plasma corticosterone, reductions in brain and cardiac nitric oxide production, and delayed alterations in endothelial function in young prehypertensive rats // Front Physiol. 2018. Vol. 29, no. 9. P. 1179. doi: 10.3389/fphys.2018.01179

Carr A. C., McCall M. R., Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species. Reaction pathways and antioxidant protection // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2000. Vol. 20. P. 1716–1723.

Förstermann U., Sessa W. Nitric oxide synthases: regulation and function // Eur. Heart J. 2012. Vol. 33, no. 7. P. 829–837. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304

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

Gürlek A., Esenboğa K., Özcan Ö. U., Çiçek Ö. F., Arıbal Ayral P., Özelçi Kavas G., Erol Ç. Serum nitric oxide levels in patients with coronary artery ectasia // Anatol. J. Cardiol. 2016. Vol. 16, no. 12. P. 947–952. doi: 10.14744/AnatolJCardiol.2016.6556

Habib S., Ali A. Biochemistry of nitric oxide // Ind. J. Clin. Biochem. 2011. Vol. 26. P. 3–17. doi: 10.1007/s12291-011-0108-4

Katoor A. J., Pothineni N. V. K., Palagiri D., Mehta J. L. Oxidative stress in atherosclerosis // Curr. Atheroscler. Rep. 2017. Vol. 19:42. doi: 10.1007/s11883-017-0678-6

Kern P. A., Saghizadeh M., Ong J. M., Bosch R., Deem R., Simsolo R. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase // J. Clin. Invest. 1995. Vol. 95, no. 5. P. 2111–2119.

Kumar S., Prahalathan P., Saravanakumar M., Raja B. Vanillic acid prevents the deregulation of lipid metabolism, endothelin 1 and up regulation of endothelial nitric oxide synthase in nitric oxide deficient hy-

pertensive rats // *Eur. J. Pharmacol.* 2014. Vol. 743. P. 117–125. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.09.010

Levesque M. C., Hobbs M. R., Anstey N. M., Vaughn T. N., Chancellor J. A., Pole A., Perkins D. J., Misukonis M. A., Chanock S. J., Granger D. L., Weinberg J. B. Nitric oxide synthase type 2 promoter polymorphisms, nitric oxide production and disease severity in Tanzanian children with malarial // *J. Infect. Dis.* 1999. Vol. 180. P. 1994–2002.

Miyata S., Noda A., Hara Y., Ueyama J., Kitaichi K., Kondo T., Koike Y. Nitric oxide plasma level as a barometer of endothelial dysfunction in factory workers // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2017. Vol. 125. P. 684–689. doi: 10.1055/s-0043-110054

Pfeilschifter J., Eberhardt W., Beck K.-F. Regulation of gene expression by nitric oxide // *Eur. J. Physiol.* 2001. Vol. 442. P. 479–486. doi: 10.1007/S00420100586

Popa C., van den Hoogen F. H., Radstake T. R., Netea M. G., Eijsbouts A. E., den Heijer M., van der Meer J. W., van Riel P. L., Stalenhoef A. F., Barrera P. Modulation of lipoprotein plasma concentrations during long-term anti-TNF therapy in patients with active rheumatoid arthritis // *Ann. Rheum. Dis.* 2007. Vol. 66, no. 11. P. 1503–1507. doi: 10.1136/ard.2006.066191

Taskin M., Unver Y., Yildiz M., Ortucu S., Askin H. Nitric oxide: a novel inducer for enhancement of microbio-

al lipase production // *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 2016. Vol. 39. P. 1671–1678. doi: 10.1007/s00449-016-1642-5

Uchida Y., Sugiura S., Ueda H., Nakashima T., Ando F., Shimokata H. The association between hearing impairment and polymorphisms of genes encoding inflammatory mediators in Japanese aged population // *Immun. Ageing.* 2014. Vol. 11, no. 1. 18 p. doi: 10.1186/s12979-014-0018-4

Viridis A., Dell'Agnello U., Taddei S. Impact of inflammation on vascular disease in hypertension // *Maturitas.* 2014. Vol. 78. P. 179–18. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.04.012

Wenzel P., Knorr M., Kossmann S., Stratmann J., Hausding M., Schuhmacher S., Karbach S. H., Schwenk M., Yogev N., Schulz E., Oelze M., Grabbe S., Jonuleit H., Becker C., Daiber A., Waisman A., Münzel T. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction // *Circulation.* 2011. Vol. 124. P. 1370–1381. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.034470.

Yang Z., Ge H., Yang Z., Wang C., Li Z., Zhang Q., Wang J. Repeated positive acceleration exposure exacerbates endothelial dysfunction in high-fat-diet-induced hyperlipidemic rats // *Arch. Med. Sci.* 2017. Vol. 13, no. 4. P. 937–946. doi: 10.5114/aoms.2017.68144

Поступила в редакцию 20.01.2020

References

Bazina I. B., Kozyrev O. A. Narusheniya lipidnogo obmena u bol'nykh essentsial'noi arterial'noi gipertoniei molodogo vozrasta [Disorders of lipid metabolism in patients with essential arterial hypertension of a young age]. *Vestnik Smolenskoi med. akad.* [Bull. Smolensk Med. Acad.]. 2010. No. 1. P. 12–15.

Lyusov V. A., Metel'skaya V. A., Oganov R. G., Evskov E. M., Teplova N. V. Uroven' oksida azota v syvorotke perifericheskoi krovi bol'nykh s razlichnoi tyazhest'yu arterial'noi gipertenzii [The nitric oxide level in the serum of peripheral blood of patients with various severity of arterial hypertension]. *Kardiologiya* [Cardiology]. 2011. No. 12. P. 23–28.

Metel'skaya V. A., Gumanova N. G. Skringing-metod opredeleniya urovnya metabolitov oksida azota v syvorotke krovi [Screening method for determining of the nitric oxide metabolites level in blood serum]. *Klinicheskaya lab. diagnostika* [Clinical Lab. Diagnostics]. 2005. No. 6. P. 15–18.

Oslopov V. N., Khasanov N. R., Chuginova D. N., Billakh Kh. M. Membrannye narusheniya v patogeneze osnovnykh faktorov riska serdechno-sosudistoi smerti – arterial'noi gipertonii i dislipidemii [Membrane disorders in the pathogenesis of the main risk factors for cardiovascular death – arterial hypertension and dyslipidemia]. *Vestnik sovr. klinicheskoi med.* [Bull. Contemp. Clinical Med.]. 2013. Vol. 6, no. 5. P. 34–37.

Topchieva L. V., Balan O. V., Korneva V. A., Malysheva I. E. Rol' allel'nogo polimorfizma gena NOS2 v razvitiu essentsial'noi arterial'noi gipertenzii [The role of inducible NOS2 gene polymorphism in the development of essential arterial hypertension]. *Byulleten' eksperimental'noi biol. i med.* [Bull. Experimental Biol. and Med.]. 2019. Vol. 168, no. 7. P. 91–95.

Topchieva L. V., Balan O. V., Korneva V. A., Malysheva I. E., Pankrashova K. A. Soderzhanie metabolitov oksida azota i uroven' transkriptov genov NOS2 i NOS3 u patsientov s essentsial'noi arterial'noi gipertenziei [The nitric oxide metabolite level and NOS2 and NOS3 gene transcripts in patients with essential arterial hypertension]. *Izv. RAN. Ser. biol.* [Biol. Bull.]. 2020. No. 1. P. 1–7. doi: 10.1134/S0002332920010166

Al Gadban M. M., German J., Truman J. P., Soodavar F., Riemer E. C., Twal W. O., Smith K. J., Heller D., Hofbauer A. F., Oates J. C., Hammad S. M. Lack of nitric oxide synthases increases lipoprotein immune complex deposition in the aorta and elevates plasma sphingolipid levels in lupus. *Cell Immunol.* 2012. Vol. 276. P. 42–51. doi: 10.1016/j.cellimm.2012.03.007

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

Bernatova I., Puzserova A., Balis P., Sestakova N., Horvathova M., Kralovicova Z., Zitnanova I. Chronic stress produces persistent increases in plasma corticosterone, reductions in brain and cardiac nitric oxide production, and delayed alterations in endothelial function in young prehypertensive rats. *Front Physiol.* 2018. Vol. 29, no. 9. 1179 p. doi: 10.3389/fphys.2018.01179

Carr A. C., McCall M. R., Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species. Reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000. Vol. 20. P. 1716–1723.

Förstermann U., Sessa W. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.* 2012. Vol. 33, no. 7. P. 829–837. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304

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

Gürlek A., Esenboğa K., Özcan Ö. U., Çiçek Ö. F., Arıbal Ayral P., Özelçi Kavas G., Erol Ç. Serum nitric oxide levels in patients with coronary artery ectasia. *Anatol. J. Cardiol.* 2016. Vol. 16, no. 12. P. 947–952. doi: 10.14744/AnatolJCardiol.2016.6556

Habib S., Ali A. Biochemistry of nitric oxide. *Ind. J. Clin. Biochem.* 2011. Vol. 26. P. 3–17. doi: 10.1007/s12291-011-0108-4

Katoor A. J., Pothineni N. V. K., Palagiri D., Mehta J. L. Oxidative stress in atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2017. Vol. 19:42. doi: 10.1007/s11883-017-0678-6

Kern P. A., Saghizadeh M., Ong J. M., Bosch R., Deem R., Simsolo R. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J. Clin. Invest.* 1995. Vol. 95, no. 5. P. 2111–2119.

Kumar S., Prahalathan P., Saravanakumar M., Raja B. Vanillic acid prevents the deregulation of lipid metabolism, endothelin 1 and up regulation of endothelial nitric oxide synthase in nitric oxide deficient hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2014. Vol. 743. P. 117–125. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.09.010

Levesque M. C., Hobbs M. R., Anstey N. M., Vaughn T. N., Chancellor J. A., Pole A., Perkins D. J., Misukonis M. A., Chanock S. J., Granger D. L., Weinberg J. B. Nitric oxide synthase type 2 promoter polymorphisms, nitric oxide production and disease severity in Tanzanian children with malarial. *J. Infect. Dis.* 1999. Vol. 180. P. 1994–2002.

Miyata S., Noda A., Hara Y., Ueyama J., Kitaichi K., Kondo T., Koike Y. Nitric oxide plasma level as a barometer of endothelial dysfunction in factory workers. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2017. Vol. 125. P. 684–689. doi: 10.1055/s-0043-110054

Pfeilschifter J., Eberhardt W., Beck K.-F. Regulation of gene expression by nitric oxide. *Eur. J. Physiol.* 2001. Vol. 442. P. 479–486. doi: 10.1007/S00420100586

Popa C., van den Hoogen F. H., Radstake T. R., Netea M. G., Eijsbouts A. E., den Heijer M., van der Meer J. W., van Riel P. L., Stalenhoef A. F., Barrera P. Modulation of lipoprotein plasma concentrations during long-term anti-TNF therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2007. Vol. 66, no. 11. P. 1503–1507. doi: 10.1136/ard.2006.066191

Taskin M., Unver Y., Yildiz M., Ortucu S., Askin H. Nitric oxide: a novel inducer for enhancement of microbial lipase production. *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 2016. Vol. 39. P. 1671–1678. doi: 10.1007/s00449-016-1642-5

Uchida Y., Sugiura S., Ueda H., Nakashima T., Ando F., Shimokata H. The association between hearing impairment and polymorphisms of genes encoding inflammatory mediators in Japanese aged population. *Immun Ageing.* 2014. Vol. 11, no. 1. P. 18. doi: 10.1186/s12979-014-0018-4

Viridis A., Dell'Agnello U., Taddei S. Impact of inflammation on vascular disease in hypertension. *Maturnitas.* 2014. Vol. 78. P. 179–18. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.04.012

Wenzel P., Knorr M., Kossmann S., Stratmann J., Hausding M., Schuhmacher S., Karbach S. H., Schwenk M., Yogev N., Schulz E., Oelze M., Grabbe S., Jonuleit H., Becker C., Daiber A., Waisman A., Münzel T. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation.* 2011. Vol. 124. P. 1370–1381. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.034470

Yang Z., Ge H., Yang Z., Wang C., Li Z., Zhang Q., Wang J. Repeated positive acceleration exposure exacerbates endothelial dysfunction in high-fat-diet-induced hyperlipidemic rats. *Arch. Med. Sci.* 2017. Vol. 13, no. 4. P. 937–946. doi: 10.5114/aoms.2017.68144

Received January 20, 2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Топчиева Людмила Владимировна

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

Корнева Виктория Алексеевна

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

CONTRIBUTORS:

Topchieva, Ludmila

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

Korneva, Viktoria

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

Балан Ольга Викторовна

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

Малышева Ирина Евгеньевна

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: i.e.malysheva@yandex.ru
тел.: (8142) 573107

Курбатова Ирина Валерьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: irina7m@yandex.ru
тел.: (8142) 573107

Balan, Olga

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

Malysheva, Irina

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

Kurbatova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: irina7m@yandex.ru
tel.: (8142) 573107

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ НИЗКОЙ ПОВРЕЖДАЮЩЕЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

А. А. Игнатенко, В. В. Таланова, Н. С. Репкина, А. Ф. Титов

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

Изучено влияние экзогенного метилжасмоната (МЖ) на растения огурца (*Cucumis sativus* L.), подвергнутые 3-суточному воздействию температуры 4 °С. Показано, что температура 4 °С оказывает на проростки повреждающий эффект, вызывая значительное увеличение выхода электролитов и необратимое ингибирование ростовых процессов. Одновременно с этим в листьях проростков отмечено усиление перекисного окисления липидов, регистрируемое по накоплению малонового диальдегида (МДА). Обработка растений МЖ (1 мкМ), проведенная за сутки до начала холодного воздействия, оказывала защитное действие, о чем, в частности, свидетельствовало снижение уровня МДА в листьях. Кроме того, на протяжении всего периода воздействия на растения холода в этом варианте опыта зафиксирован существенно меньший выход электролитов из тканей листьев, а их размеры у обработанных МЖ проростков превышали таковые в варианте с воздействием холода без предобработки МЖ. Сделан вывод, что МЖ способен снижать негативный эффект низкой повреждающей температуры на растения, и обсуждаются некоторые возможные механизмы его защитного действия.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; метилжасмонат; низкая повреждающая температура; выход электролитов; рост; малоновый диальдегид.

A. A. Ignatenko, V. V. Talanova, N. S. Repkina, A. F. Titov. METHYL JASMONATE EFFECT ON THE TOLERANCE OF CUCUMBER PLANTS EXPOSED TO LOW DAMAGING TEMPERATURE

The effect of exogenous methyl jasmonate (MJ) on cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) exposed for 3 days to 4 °C was studied. It was shown that a temperature of 4 °C has a damaging effect on seedlings, causing a significant increase in electrolyte leakage and irreversible inhibition of growth processes. Along with this, an increase in lipid peroxidation was observed in the leaves of the seedlings, as indicated by the accumulation of malondialdehyde (MDA). MJ treatment (1 μM) of plants one day before the onset of cold exposure had a protective effect evidenced, in particular, by a decrease in the MDA level in the leaves. In addition, the leakage of electrolytes from leaf tissues in this case was

significantly lower throughout the entire period of exposure to cold, and leaf sizes in seedlings treated with MJ exceeded those in the variant with exposure to cold without MJ pretreatment. It is concluded that MJ can reduce the detrimental effect of low damaging temperature on plants, and the possible mechanisms of this protective effect are briefly discussed.

Key words: *Cucumis sativus* L.; methyl jasmonate; low damaging temperature; electrolyte leakage; growth; malondialdehyde.

Введение

Жасмоновую кислоту (ЖК) и ее производные, в частности метилжасмонат (МЖ), относят к эндогенным регуляторам роста и развития растений [Тарчевский, 2002; Васюкова, Озерцовская, 2009; Wasternack, 2014]. Жасмонаты синтезируются по оксипиноловому пути и обнаружены практически во всех органах растений [Dar et al., 2015]. К настоящему времени установлено их участие в регуляции таких процессов, как цветение, созревание плодов, формирование луковиц, клубней и корнеклубней, рост корней, движение листьев, накопление антоцианов и образование этилена, запуск программы старения и др. [Васюкова, Озерцовская, 2009; Wasternack, 2014; Per et al., 2018]. Обнаружено также, что жасмонаты участвуют в активизации защитных реакций при повреждении растений фитофагами и инфицировании некротрофными патогенами [Wasternack, 2014; Dar et al., 2015]. Выявлено, что протекторное действие ЖК и ее производных в этом случае обусловлено индуцированным под их влиянием синтезом широкого спектра защитных соединений, таких как ингибиторы протеиназ и трипсина, дефензины, лектины, тионины, фитоалексины, экстенсины, алкалоиды, фенольные соединения и др. [Тарчевский, 2002; Samota et al., 2017].

В последние годы обнаружено положительное влияние экзогенных жасмонатов на устойчивость растений, подвергнутых действию неблагоприятных факторов абиотической природы, включая низкие температуры [Hu et al., 2013; Shahzad et al., 2015; Per et al., 2018]. Однако их участие в повышении холодоустойчивости исследовано главным образом на плодах растений. В частности, появились сведения о положительном влиянии экзогенной ЖК и ее производных на состояние плодов в условиях их низкотемпературного (в особенности длительного) хранения. Так, показано существенное снижение степени холодового повреждения плодов томата [Min et al., 2018], лимона [Siboza et al., 2014], манго [González-Aguilar et al., 2000], граната [Sayyari et al., 2011], абрикоса [Ezzat

et al., 2017], банана [Zhao et al., 2013] и др. в результате их обработки жасмонатами. В гораздо меньшей степени исследовано участие жасмонатов в ответной реакции интактных растений на низкотемпературные воздействия [Li et al., 2012; Hu et al., 2013; Saydour, Sayyari, 2016]. Остается также открытым вопрос относительно механизмов защитного действия этих фитогормонов и их соотносительного вклада в процесс низкотемпературной адаптации растений.

Цель данного исследования заключалась в изучении влияния экзогенного МЖ на реакцию типичного представителя теплолюбивых растений огурца *Cucumis sativus* L. на действие низкой положительной температуры (4 °С), которая при продолжительном (сутки и более) воздействии оказывает на него повреждающий эффект.

Материалы и методы

Опыты проводили на проростках *Cucumis sativus* L. гибрида F1 Зозуля. Растения выращивали в рулонах фильтровальной бумаги в течение 7 сут на модифицированном питательном растворе Кнопа, содержащем 3,15 мМ NH₄NO₃, 1,55 мМ KH₂PO₄, 1,55 мМ MgSO₄, 24 мкМ H₃BO₃, 21 мкМ FeC₆H₅O₇, 10 мкМ MnSO₄, 3,1 мкМ CuSO₄, 2,55 мкМ (NH₄)₂MoO₄, 1,55 мкМ ZnSO₄ и 5 мМ Ca(OH)₂, pH 6,2–6,4, в контролируемых условиях при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности ФАР 180 мкмоль/м²·с и фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста растения в рулонах фильтровальной бумаги помещали на раствор МЖ (Sigma-Aldrich, США) и через 1 сут подвергали действию температуры 4 °С в камере искусственного климата (БКШ-73, Россия), сохраняя прочие условия неизменными. Выбор температуры и продолжительности (3 сут) ее действия был сделан на основании результатов предыдущих исследований [Титов и др., 2006]. Концентрация МЖ (1 мкМ) была также выбрана на основании предварительных опытов [Игнатенко, 2019]. Контролем служили не обработанные МЖ растения огурца.

О холодоустойчивости растений судили по изменению выхода электролитов из высечек семядольных листьев [Гришенкова, Лукаткин, 2005], который регистрировали с помощью кондуктометра (HANNA, Италия).

Для измерения ростовых показателей и расчета площади листовой пластинки использовали общепринятые способы [Практикум..., 1990].

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях оценивали с помощью метода, основанного на способности малонового диальдегида (МДА) реагировать с тиобарбитуровой кислотой, образуя окрашенный комплекс [Stewart, Bewley, 1980].

Повторность в пределах одного варианта опыта 5-кратная, при анализе ростовых показателей – 15-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. Статистическую значимость различий между средними значениями устанавливали с помощью дисперсионного анализа (LSD-тест) с использованием программы Statgraphics Plus (version 2.1). На рисунках и в таблице представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. В работе обсуждаются величины, статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Одной из главных причин повреждения растений, особенно теплолюбивых, при действии низких температур является нарушение натив-

ной структуры и, как следствие, функциональной активности клеточных мембран [Чиркова, 2002; Лось, 2005]. В результате этого повышается их проницаемость и усиливается выход из клеток ионов и органических веществ [Лукаткин, 2002], который обычно оценивают по выходу электролитов [Гришенкова, Лукаткин, 2005]. В наших опытах показано, что температура 4 °С оказывает сильный повреждающий эффект на растения огурца, о чем можно судить по резкому увеличению выхода электролитов из тканей листьев уже через сутки низкотемпературного воздействия и в еще большей степени к концу опыта (почти на порядок через 2–3 сут) по сравнению с исходным уровнем (рис. 1).

Предобработка МЖ оказывала защитное действие на проростки огурца, подвергнутые действию температуры 4 °С, которое проявлялось в существенном снижении экзосмоса электролитов (по сравнению с необработанными проростками). Полученные нами данные согласуются с результатами других авторов, которые зафиксировали снижение повреждающего эффекта низких температур на целостность мембран клеток с помощью экзогенных жасмонатов. Например, уменьшение выхода электролитов при обработке плодов МЖ в условиях длительного (20 сут и более) низкотемпературного хранения обнаружено у манго [González-Aguilar et al., 2000], граната [Sayyari et al., 2011], персика [Jin et al., 2013] и томата

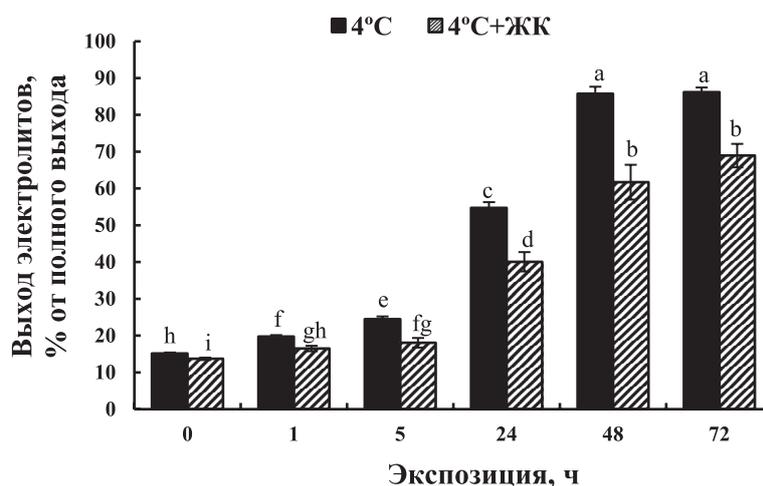


Рис. 1. Влияние МЖ (1 мкМ) на выход электролитов из семядольных листьев огурца, подвергнутых действию температуры 4 °С.

Здесь и далее латинскими буквами отмечены статистически значимые различия между средними значениями при $p < 0,05$

Fig. 1. The effect of MJ (1 μ M) on the electrolytes leakage from the cotyledon leaves of cucumber exposed to temperature of 4 °C.

Here and Fig. 2 different Latin letters indicate statistically significant differences between the average values at $p < 0.05$

Влияние МЖ (1 мкМ) на размер семядольных листьев огурца, подвергнутых действию температуры 4 °С
 The effect of MJ (1 μM) on the size of cotyledon leaves of cucumber exposed to temperature of 4 °C

Экспозиция, сут Exposition, days	Длина семядольных листьев, см Length of cotyledon leaves, cm		Площадь семядольных листьев, см ² Area of cotyledon leaves, cm ²	
	4 °C	4 °C + МЖ 4 °C + MJ	4 °C	4 °C + МЖ 4 °C + MJ
0	3,16 ± 0,02b	3,22 ± 0,02a	4,01 ± 0,05b	4,15 ± 0,05a
1	2,89 ± 0,03e	3,03 ± 0,03c	3,46 ± 0,10d	3,70 ± 0,07c
2	2,84 ± 0,02e	2,92 ± 0,04de	3,05 ± 0,06f	3,20 ± 0,05e
3	2,70 ± 0,06f	2,86 ± 0,05e	2,76 ± 0,06 g	3,03 ± 0,06ef

[Zhang et al., 2016]. Что касается других частей и органов растений, то имеются лишь единичные данные о снижении негативного воздействия холода под влиянием МЖ на плазмалемму клеток растений огурца [Saydpour, Sayyari, 2016] и риса [Lee et al., 1996]. Также известно, что МЖ оказывает защитное действие и на мембраны органелл клеток, в частности хлоропластов и митохондрий, препятствуя их разрушению под воздействием низкой температуры [Li et al., 2012].

Как известно, одной из неспецифических реакций растений на действие низких температур является торможение ростовых процессов [Чиркова, 2002]. Более того, у холодостойких растений, в частности озимых злаков, первоначальное торможение роста является необходимым условием для успешного осуществления низкотемпературной адаптации, которое в дальнейшем может сменяться частичным возобновлением ростовых процессов в случае увеличения продолжительности низкотемпературного воздействия [Венжик и др., 2012] или после его прекращения [Шибяева и др., 2019]. В отличие от этого при охлаждении теплолюбивых растений восстановление ростовых процессов происходит значительно медленнее (и только в случае действия закаливающих температур) или не происходит вообще (при повреждающих воздействиях) [Игнатенко и др., 2016; Шибяева и др., 2019]. В наших опытах остановка ростовых процессов, фиксируемая по изменению длины и площади семядольных листьев, отмечена уже через 1 сут низкотемпературного воздействия (табл.). В дальнейшем возобновление роста не происходило, а некоторое уменьшение длины и площади семядольных листьев огурца с увеличением экспозиции при 4 °C связано с потерей тургора и сморщиванием листовой пластины, а также со стандартным способом измерения линейных параметров листа (табл.). Укажем, что в контрольном варианте, в котором растения находились при оптимальной температуре (22 °C), прирост длины и площади семядольных листьев был зафикси-

рован уже через 1 сут. К концу опыта (3 сут) размеры листьев увеличились относительно исходного уровня на 20 % (длина) и 30 % (площадь).

Под влиянием экзогенного МЖ длина и площадь семядольных листьев растений, подвергнутых действию температуры 4 °C, снижались в меньшей степени, чем в варианте с температурой 4 °C, но без МЖ (табл.). Отметим, что о сходном защитном эффекте МЖ ранее сообщалось в работе Li с соавт. [2012], которые показали, что у обработанных МЖ и подвергнутых действию температуры 8 °C растений огурца не происходит значительного снижения сырой и сухой биомассы листьев, как это наблюдалось в варианте без предобработки МЖ. Как показывают исследования, влияние экзогенных жасмонатов на ростовые процессы растений как в обычных, так и в неблагоприятных условиях в значительной степени обусловлено их участием в регуляции гормонального баланса [Шакирова и др., 2008]. Не исключено, что и в нашем опыте проявление защитного эффекта МЖ в отношении роста огурца в условиях низкотемпературного стресса было связано с его участием в регуляции содержания других фитогормонов, однако это требует специальной проверки.

Как отмечалось выше, одной из главных причин повреждения растений при действии низких температур является нарушение структуры клеточных мембран [Чиркова, 2002; Лось, 2005]. Последнее, в частности, обусловлено действием на них активных форм кислорода (АФК), вызывающих ПОЛ плазмалеммы и мембран органелл, что приводит к утечке клеточного содержимого и смерти клетки [Лукаткин, 2002]. Усиление генерации АФК обнаружено при действии на растения различных стресс-факторов, в том числе низких температур [Li et al., 2012; Колупаев и др., 2018; Min et al., 2018]. В наших опытах оказалось, что как кратковременное (часы), так и более длительное (дни) действие температуры 4 °C на проростки огурца вызывало накопление МДА в листьях. К концу опыта (3 сут) его уровень значительно возрастал и превышал ис-

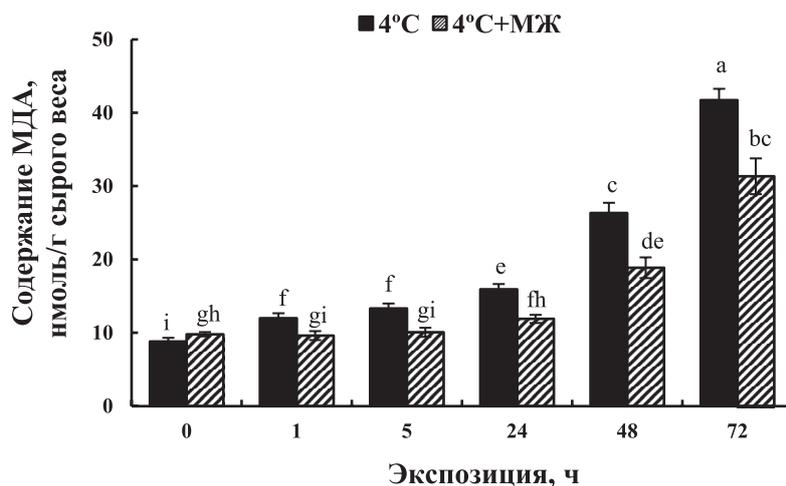


Рис. 2. Влияние МЖ (1 мкМ) на содержание МДА в семядольных листьях огурца, подвергнутого действию низкой температуры 4 °С
 Fig. 2. The influence of MJ (1 μM) on the MDA content in the cotyledon leaves of cucumber exposed to temperature of 4 °C

ходный уровень более чем в 4 раза (рис. 2). Вероятно, это явилось одной из причин повреждения клеточных мембран, в результате которого они утрачивали избирательную проницаемость, о чем свидетельствует высокая корреляция между уровнем МДА и выходом электролитов из тканей листьев ($r = 0,89$).

Предобработка МЖ растений огурца, находящихся в оптимальных температурных условиях (22 °С), вызывала незначительное увеличение содержания МДА (рис. 2), что, вероятно, было обусловлено некоторым усилением продукции АФК в клетках. Так, например, в работе Карпец с соавт. [2014] показано, что под влиянием ЖК в колеоптилах пшеницы наблюдалось повышение генерации супероксидного радикала. Как известно, кратковременное и небольшое повышение содержания АФК в клетках может выступать в качестве сигнала, активизирующего защитно-приспособительные реакции растений, в том числе усиление работы антиоксидантной системы [Prasad et al., 1994; Foyer, Noctor, 2009; Bhattacharjee, 2014; Колупаев и др., 2018]. Это, в свою очередь, способствует снижению уровня окислительного стресса, косвенным подтверждением чего служат данные, характеризующие динамику содержания МДА в листьях растений, обработанных МЖ, при их помещении в низкотемпературные условия. Так, в течение всего периода действия температуры 4 °С уровень МДА в их листьях был ниже, чем у необработанных проростков (рис. 2). Более того, в условиях холодового стресса МЖ препятствовал интенсивному развитию ПОЛ, о чем говорит отсутствие повышения содержания МДА в начальный период (часы и 1 сут)

действия температуры 4 °С, в отличие от варианта без обработки МЖ (рис. 2). Однако отметим, что при продолжительном действии (2 и 3 сут) температуры 4 °С даже в присутствии МЖ в листьях проростков происходило значительное увеличение содержания МДА, что, по всей видимости, и приводило к необратимому нарушению структуры клеточных мембран и, как следствие, к усиленной утечке растворенных веществ из клеток, их обезвоживанию и гибели. Предположительно, гибель растений огурца в условиях продолжительного действия температуры 4 °С могла быть обусловлена прежде всего усилением окислительных процессов в клетках и тканях корня, который у теплолюбивых растений отличается высокой чувствительностью к холоду [Балагурова и др., 2001; Попов и др., 2010; Титов, Таланова, 2011].

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что предобработка растений огурца МЖ уменьшает повреждающий эффект низкой температуры, вызывая активизацию защитно-приспособительных механизмов. Последнее, в частности, находит свое выражение в меньшем торможении ростовых процессов под влиянием низкой температуры и снижении уровня окислительного стресса.

Исследования выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук». Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (0218-2019-0074).

Литература

- Балагурова Н. И., Акимова Т. В., Титов А. Ф. Влияние локального охлаждения проростков огурца и пшеницы на различные виды устойчивости листа и корня // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 113–118.
- Васюкова Н. И., Озерецковская О. Л. Жасмонатзависимая защитная сигнализация в тканях растений // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 5. С. 643–653.
- Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В., Мирославов Е. А., Котеева Н. К. Структурно-функциональная реорганизация фотосинтетического аппарата растений пшеницы при холодной адаптации // Цитология. 2012. Т. 54, № 12. С. 916–924.
- Гришенкова Н. Н., Лукаткин А. С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал. 2005. № 1. С. 3–11.
- Игнатенко А. А. Участие антиоксидантной системы в регуляции холодоустойчивости растений пшеницы и огурца салициловой кислотой и метилжасмонатом: Дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2019. 191 с.
- Игнатенко А. А., Репкина Н. С., Титов А. Ф., Таланова В. В. Реакция растений огурца на низкотемпературные воздействия разной интенсивности // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 11. С. 57–67. doi: 10.17076/eb440
- Карпец Ю. В., Колупаев Ю. Е., Луговая А. А., Обозный А. И. Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на про-/антиоксидантную систему колелоптилей пшеницы в связи с устойчивостью к гипертермии // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 3. С. 367–375. doi: 10.7868/S0015330314020067
- Колупаев Ю. Е., Горелова Е. И., Ястреб Т. О. Механизмы адаптации растений к гипотермии: роль антиоксидантной системы // Вісник Харківського Національного Аграрного Університету. Серія Біологія. 2018. Вип. 1(43). С. 6–33.
- Лось Д. А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестник РАН. 2005. Т. 75, № 4. С. 338–345.
- Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордовск. ун-та, 2002. 208 с.
- Попов В. Н., Антипина О. В., Трунова Т. И. Перекисное окисление липидов при низкотемпературной адаптации листьев и корней теплолюбивых растений табака // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 1. С. 153–156.
- Практикум по физиологии растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.
- Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
- Титов А. Ф., Таланова В. В. Локальное действие высоких и низких температур на растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. 166 с.
- Титов А. Ф., Акимова Т. В., Таланова В. В., Топчиева Л. В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.
- Чиркова Т. Ф. Физиологические основы устойчивости растений. СПб: Изд-во СПб ун-та, 2002. 244 с.
- Шакирова Ф. М., Сахабутдинова А. Р., Ишдавлетова Р. С., Ласточкина О. В. Влияние предобработки метилжасмонатом на устойчивость проростков пшеницы к солевому стрессу // Агрехимия. 2008. № 7. С. 26–32.
- Шибяева Т. Г., Икконен Е. Н., Шерудило Е. Г., Титов А. Ф. Влияние ежесуточных кратковременных понижений температуры на теплолюбивые и холодостойкие растения // Физиология растений. 2019. Т. 66, № 4. С. 266–276. doi: 10.1134/S0015330319040122
- Bhattacharjee S. Membrane lipid peroxidation and its conflict of interest: the two faces of oxidative stress // Current Science. 2014. Vol. 107, no. 11. P. 1811–1823.
- Dar T. A., Uddin M., Khan M. M. A., Hakeem K. R., Jaleel H. Jasmonates counter plant stress: a review // Environ. Exp. Bot. 2015. Vol. 115. P. 49–57. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.02.010
- Ezzat A., Ammar A., Szabó Z., Nyéki J., Holb I. J. Postharvest treatments with methyl jasmonate and salicylic acid for maintaining physico-chemical characteristics and sensory quality properties of apricot fruit during cold storage and shelf-life // Pol. J. Food Nutr. Sci. 2017. Vol. 67, no. 2. P. 159–166. doi: 10.1515/pjfn-2016-0013
- Foyer C. H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation and practical implications // Antioxid. Redox Signal. 2009. Vol. 11. P. 861–906. doi: 10.1089/ars.2008.2177
- González-Aguilar G. A., Fortiz J., Cruz R., Baez R., Wang C. Y. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 48, no. 2. P. 515–519. doi: 10.1021/jf9902806
- Hu Y., Jiang L., Wang F., Yu D. Jasmonate regulates the INDUCER OF CBF EXPRESSION-C-REPEAT BINDING FACTOR/DRE BINDING FACTOR1 cascade and freezing tolerance in Arabidopsis // Plant Cell. 2013. Vol. 25. P. 2907–2924. doi: 10.1105/tpc.113.112631
- Jin P., Zhu H., Wang J., Chen J., Wang X., Zheng Y. Effect of methyl jasmonate on energy metabolism in peach fruit during chilling stress // J. Sci. Food Agric. 2013. Vol. 93, no. 8. P. 1827–1832. doi: 10.1002/jsfa.5973
- Lee T. M., Lur H. S., Lin V. H., Chu C. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate induced chilling tolerance of rice *Oryza sativa* L. // Plant Cell Environ. 1996. Vol. 19. P. 65–74.
- Li D. M., Guo Y. K., Li Q., Zhang J., Wang X. J., Bai J. G. The pretreatment of cucumber with methyl jasmonate regulates antioxidant enzyme activities and protects chloroplast and mitochondrial ultrastructure in chilling-stressed leaves // Sci. Hortic. 2012. Vol. 143. P. 135–143.
- Min D., Li F., Zhang X., Cui X., Shu P., Dong L., Ren C. SIMYC2 involved in methyl jasmonate-induced tomato fruit chilling tolerance // J. Agric. Food Chem. 2018. Vol. 66, no. 12. P. 3110–3117. doi: 10.1021/acs.jafc.8b00299
- Per T. S., Khan M. I. R., Anjuma N. A., Masooda A., Hussaina S. J., Khana N. A. Jasmonates in plants under

abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters // *Environ. Exp. Bot.* 2018. Vol. 145. P. 104–120. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.11.004

Prasad T. K., Anderson M. D., Martin B. A., Stewart C. R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide // *Plant Cell.* 1994. Vol. 6. P. 65–74.

Samota M. K., Bhatt L., Garg N., Geat N. Defense induced by jasmonic acid: a review // *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2017. Vol. 6, no. 5. P. 2467–2474. doi: 10.20546/ijcmas.2017.605.276

Saydpour F., Sayyari M. Impact of methyl jasmonate on enhancing chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings // *J. Crop Production and Processing.* 2016. Vol. 6. P. 47–59.

Sayyari M., Babalar M., Kalantari S., Martínez-Romero D., Guillén F., Serrano M., Valero D. Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates // *Food Chem.* 2011. Vol. 124. P. 964–970. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.036

Shahzad R., Waqas M., Khan A. L., Hamayun M., Kang S.-M., Lee I.-J. Foliar application of methyl jasmonate induced physio-hormonal changes in *Pisum sativum* under diverse temperature regimes // *Plant Physi-*

ol. Biochem. 2015. Vol. 96. P. 406–416. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.08.020

Siboza X. I., Bertlinga I., Odindo A. O. Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*) // *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171, no. 18. P. 1722–1731. doi: 10.1016/j.jplph.2014.05.012

Stewart R. R. C., Bewley J. D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 245–248.

Wasternack C. Action of jasmonates in plant stress responses and development – applied aspects // *Bio-technol. Adv.* 2014. Vol. 32, no. 1. P. 31–39.

Zhang W., Zhang H., Ning L., Li B., Bao M. Quantitative proteomic analysis provides novel insights into cold stress responses in petunia seedlings // *Front Plant Sci.* 2016. Vol. 7. Art. 136. doi: 10.3389/fpls.2016.00136

Zhao M. L., Wang J. N., Shan W., Lu W. J. Induction of jasmonate signalling regulators MaMYC2s and their physical interactions with MaICE1 in methyl jasmonate-induced chilling tolerance in banana fruit // *Plant Cell Environ.* 2013. Vol. 36, no. 1. P. 30–51. doi: 10.1111/j.1365-3040.2012.02551.x

Поступила в редакцию 07.02.2020

References

Balagurova N. I., Akimova T. V., Titov A. F. Vliyaniye lokal'nogo okhlazhdeniya prorstkov ogurtsa i pshenitsy na razlichnye vidy ustoichivosti lista i kornya [The effect of local chilling of cucumber and wheat seedlings on various types of leaf and root tolerance]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2001. Vol. 48. P. 113–118.

Chirkova T. F. Fiziologicheskie osnovy ustoichivosti rastenii [Physiological basis of plant tolerance]. St. Petersburg: Izd-vo SPb. un-ta, 2002. 244 p.

Grishenkova N. N., Lukatkin A. S. Opredeleniye ustoichivosti rastitel'nykh tkanei k abioticheskim stressam s ispol'zovaniem konduktometricheskogo metoda [Determination of plant tissue tolerance to abiotic stresses using the conductometric method]. *Povolzhskii ekol. zhurn.* [Povolzhskiy J. Ecol.]. 2005. No. 1. P. 3–11.

Ignatenko A. A. Uchastie antioksidantnoi sistemy v regulyatsii kholodoustoichivosti rastenii pshenitsy i ogurtsa salitsilovoi kislotoi i metilzhasmonatom [The participation of the antioxidant system in the regulation of cold tolerance of wheat and cucumber plants by salicylic acid and methyl jasmonate]: PhD (Cand. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2019. 191 p.

Ignatenko A. A., Repkina N. S., Titov A. F., Talanova V. V. Reaktsiya rastenii ogurtsa na nizkotemperaturnye vozdeistviya raznoi intensivnosti [The response of cucumber plants to low temperature impacts of varying intensity]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KaRC RAS]. 2016. No. 11. P. 57–67. doi: 10.17076/eb440

Karpets Yu. V., Kolupaev Yu. E., Lugovaya A. A., Oboznyi A. I. Vliyaniye ekzogennoi zhasmonovoi kisloty na pro-/antioksidantnyuyu sistemu koleoptilei pshenitsy v svyazi s ustoichivost'yu k gipertermii [The effect of exogenous jasmonic acid on the pro-/antioxidant system

of wheat coleoptiles due to hyperthermia tolerance]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2014. Vol. 61, no. 3. P. 367–375. doi: 10.7868/S0015330314020067

Kolupaev Yu. E., Gorelova E. I., Yastreb T. O. Mekhanizmy adaptatsii rastenii k gipotermii: rol' antioksidantnoi sistemy [Mechanisms of plant adaptation to hypothermia: the role of the antioxidant system]. *Visnik Kharkivs'kogo Natsional'nogo Agrarnogo Universitetu. Ser. Biol.* [Bull. Kharkov National Agrarian Univ. Biol. Ser.]. 2018. No. 1(43). P. 6–33.

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

Lukatkin A. S. Kholodovoe povrezhdenie teplolyubivykh rastenii i oksitel'nyi stress [Cold damage of thermophilic plants and oxidative stress]. Saransk: Izd-vo Mordovsk. un-ta, 2002. 208 p.

Popov V. N., Antipina O. V., Trunova T. I. Perekisnoe okislenie lipidov pri nizkotemperaturnoi adaptatsii list'ev i kornei teplolyubivykh rastenii tabaka [Lipid peroxidation at the low-temperature adaptation of leaves and roots of thermophilic tobacco plants]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2010. Vol. 57, no. 1. P. 153–156.

Praktikum po fiziologii rastenii [Plant physiology workshop]. Ed. N. N. Tret'yakov. 3rd ed. rev. upd. Moscow: Agropromizdat, 1990. 271 p.

Shakirova F. M., Sakhabutdinova A. R., Ishdavletova R. S., Lastochkina O. V. Vliyaniye predobrabotki metilzhasmonatom na ustoichivost' prorstkov pshenitsy k solevomu stressu [The effect of pretreatment with methyl jasmonate on the tolerance of wheat seedlings to salt stress]. *Agrokhim.* [Eurasian Soil Sci.]. 2008. No. 7. P. 26–32.

- Shibaeva T. G., Ikkonen E. N., Sherudilo E. G., Titov A. F. Vliyaniye ezhesutochnykh kratkovremennykh ponizhenii temperatury na teplolyubivye i kholodostoi- kie rasteniya [The effect of daily short-term tempera- ture drops on thermophilic and cold-resistant plants]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2019. Vol. 66, no. 4. P. 266–276. doi: 10.1134/S0015330319040122
- Tarchevskii I. A. Signal'nye sistemy kletok rastenii [Plant cell signaling systems]. Moscow: Nauka, 2002. 294 p.
- Titov A. F., Talanova V. V. Lokal'noe deistvie vysokikh i nizkikh temperatur na rasteniya [Local effects of high and low temperatures on plants]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2011. 166 p.
- Titov A. F., Akimova T. V., Talanova V. V., Topchie- va L. V. Ustoichivost' rastenii v nachal'nyi period deist- viya neblagopriyatnykh temperature [Plant tolerance in the initial period of exposure to adverse tempera- tures]. Moscow: Nauka, 2006. 143 p.
- Vasyukova N. I., Ozeretskovskaya O. L. Zhasmo- natzavisimaya zashchitnaya signalizatsiya v tkanyakh rastenii [Jasmonate-dependent protective signaling in plant tissues]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2009. Vol. 56, no. 5. P. 643–653.
- Venzhik Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V., Mirosla- vov E. A., Koteeva N. K. Strukturno-funksional'naya reorganizatsiya fotosinteticheskogo apparata rastenii pshenitsy pri kholodovoi adaptatsii [Structural and func- tional reorganization of the photosynthetic apparatus of wheat plants during cold adaptation]. *Tsitologiya* [Cell and Tissue Biol.]. 2012. Vol. 54, no. 12. P. 916–924.
- Bhattacharjee S. Membrane lipid peroxidation and its conflict of interest: the two faces of oxidative stress. *Cur- rent Science*. 2014. Vol. 107, no. 11. P. 1811–1823.
- Dar T. A., Uddin M., Khan M. M. A., Hakeem K. R., Jaleel H. Jasmonates counter plant stress: a review. *En- viron. Exp. Bot.* 2015. Vol. 115. P. 49–57. doi: 10.1016/j. envexpbot.2015.02.010
- Ezzat A., Ammar A., Szabó Z., Nyéki J., Holb I. J. Postharvest treatments with methyl jasmonate and sali- cylic acid for maintaining physico-chemical characteris- tics and sensory quality properties of apricot fruit during cold storage and shelf-life. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2017. Vol. 67, no. 2. P. 159–166. doi: 10.1515/pjfn-2016- 0013
- Foyer C. H., Noctor G. Redox regulation in photo- synthetic organisms: signaling, acclimation and practi- cal implications. *Antioxid. Redox Signal.* 2009. Vol. 11. P. 861–906. doi: 10.1089/ars.2008.2177
- González-Aguilar G. A., Fortiz J., Cruz R., Baez R., Wang C. Y. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. *J. Ag- ric. Food Chem.* 2000. Vol. 48, no. 2. P. 515–519. doi: 10.1021/jf9902806
- Hu Y., Jiang L., Wang F., Yu D. Jasmonate regu- lates the INDUCER OF CBF EXPRESSION-C-REPEAT BINDING FACTOR/DRE BINDING FACTOR1 cascade and freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2013. Vol. 25. P. 2907–2924. doi: 10.1105/tpc.113.112631
- Jin P., Zhu H., Wang J., Chen J., Wang X., Zheng Y. Effect of methyl jasmonate on energy metabolism in peach fruit during chilling stress. *J. Sci. Food Ag- ric.* 2013. Vol. 93, no. 8. P. 1827–1832. doi: 10.1002/ jsfa.5973
- Lee T. M., Lur H. S., Lin V. H., Chu C. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate induced chilling tolerance of rice *Oryza sativa* L. *Plant Cell Environ.* 1996. Vol. 19. P. 65–74.
- Li D. M., Guo Y. K., Li Q., Zhang J., Wang X. J., Bai J. G. The pretreatment of cucumber with methyl jas- monate regulates antioxidant enzyme activities and pro- tects chloroplast and mitochondrial ultrastructure in chilling-stressed leaves. *Sci. Hortic.* 2012. Vol. 143. P. 135–143.
- Min D., Li F., Zhang X., Cui X., Shu P., Dong L., Ren C. SIMYC2 involved in methyl jasmonate-induced tomato fruit chilling tolerance. *J. Agric. Food Chem.* 2018. Vol. 66, no. 12. P. 3110–3117. doi: 10.1021/acs. jafc.8b00299
- Per T. S., Khanb M. I. R., Anjuma N. A., Masooda A., Hussaina S. J., Khana N. A. Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters. *Environ. Exp. Bot.* 2018. Vol. 145. P. 104–120. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.11.004
- Prasad T. K., Anderson M. D., Martin B. A., Stew- art C. R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell*. 1994. Vol. 6. P. 65–74.
- Samota M. K., Bhatt L., Garg N., Geat N. Defense induced by jasmonic acid: a review. *Int. J. Curr. Micro- biol. Appl. Sci.* 2017. Vol. 6, no. 5. P. 2467–2474. doi: 10.20546/ijcmas.2017.605.276
- Saydpour F., Sayyari M. Impact of methyl jasmonate on enhancing chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *J. Crop Production and Process- ing*. 2016. Vol. 6. P. 47–59.
- Sayyari M., Babalar M., Kalantari S., Martínez-Rome- ro D., Guillén F., Serrano M., Valero D. Vapour treat- ments with methyl salicylate or methyl jasmonate alle- viated chilling injury and enhanced antioxidant poten- tial during postharvest storage of pomegranates. *Food Chem.* 2011. Vol. 124. P. 964–970. doi: 10.1016/j.food- chem.2010.07.036
- Shahzad R., Waqas M., Khan A. L., Hamayun M., Kang S.-M., Lee I.-J. Foliar application of methyl jas- monate induced physio-hormonal changes in *Pisum sa- tivum* under diverse temperature regimes. *Plant Physiol. Biochem.* 2015. Vol. 96. P. 406–416. doi: 10.1016/ j.plaphy.2015.08.020
- Siboza X. I., Bertlinga I., Odindo A. O. Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171, no. 18. P. 1722–1731. doi: 10.1016/ j.jplph.2014.05.012
- Stewart R. R. C., Bewley J. D. Lipid peroxidation as- sociated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 245–248.
- Wasternack C. Action of jasmonates in plant stress responses and development – applied aspects. *Bio- technol. Adv.* 2014. Vol. 32, no. 1. P. 31–39.
- Zhang W., Zhang H., Ning L., Li B., Bao M. Quantita- tive proteomic analysis provides novel insights into cold stress responses in petunia seedlings. *Front Plant Sci.* 2016. Vol. 7. Art. 136. doi: 10.3389/fpls.2016.00136

Zhao M. L., Wang J. N., Shan W., Lu W. J. Induction of jasmonate signalling regulators MaMYC2s and their physical interactions with MalCE1 in methyl jasmonate-induced chilling tolerance in banana fruit. *Plant Cell*

Environ. 2013. Vol. 36, no. 1. P. 30–51. doi: 10.1111/j.1365-3040.2012.02551.x

Received February 07, 2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Игнатенко Анна Анатольевна

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: angelina911@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910

Репкина Наталья Сергеевна

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: nrt9@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Титов Александр Федорович

главный научный сотрудник 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:

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

Talanova, Vera

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

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

Titov, Alexander

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

УДК [582.632.1:630*232.31:581.142]:546.48

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ И БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ

Л. В. Ветчинникова¹, А. Ф. Титов^{2,3}

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

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

³ Отдел комплексных научных исследований ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
Петрозаводск, Россия

Изучали влияние ионов кадмия (от 10^{-6} до 10^{-3} М) на прорастание семян и рост проростков карельской березы *B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti и березы повислой *Betula pendula* Roth (сем. Betulaceae). Показано, что даже в низких концентрациях кадмий снижает энергию прорастания, абсолютную всхожесть семян, размер гипокотыля и зародышевого корешка. Наиболее токсичной оказалась концентрация кадмия 10^{-3} М, причем степень подавления прорастания семян была меньше при его воздействии в течение трех суток, чем семи. При более продолжительном действии (15 сут) ионы кадмия полностью ингибировали рост зародыша, а самая высокая концентрация (10^{-3} М) оказалась для семян летальной. Выявлены определенные количественные различия в реакции растений карельской березы и березы повислой на действие ионов кадмия, которые очевидно отражают их биологические особенности.

Ключевые слова: *B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, *Betula pendula* Roth; кадмий; семена; энергия прорастания; всхожесть; ростовые процессы.

L. V. Vetchinnikova, A. F. Titov. EFFECT OF CADMIUM IONS ON THE GERMINATION OF KARELIAN BIRCH AND SILVER BIRCH SEEDS

The effect of cadmium ions (from 10^{-6} to 10^{-3} M) on seed germination and early development of seedlings was studied in Karelian birch *B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti and silver birch *Betula pendula* Roth. It has been shown that even low concentrations of cadmium reduce the germination energy, germination percentage, hypocotyl and germinal root sizes. The most toxic concentration of cadmium was 10^{-3} M, and the suppression of seed germination was less pronounced when the exposure lasted for 3 days vs. 7 days. A longer impact (15 days) of cadmium ions completely inhibited embryo development, and the highest concentration (10^{-3} M) proved to be lethal to the seeds. Certain quantitative differences were revealed in the reaction of Karelian birch and silver birch plants to the action of cadmium ions, which obviously reflect the biological distinctions between these forms of birch.

Keywords: *B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti; *Betula pendula* Roth; cadmium; seeds; germination energy; germination percentage; growth processes.

Введение

Бурное развитие промышленности во второй половине XX века и значительное усиление антропогенного пресса на природу повлекли за собой резкое ухудшение экологической обстановки во многих регионах планеты, в т. ч. вследствие загрязнения окружающей среды. Среди многочисленных загрязнителей наиболее токсичными считаются выбросы промышленных предприятий, содержащие тяжелые металлы [Vassilev, 2002; Титов и др., 2007, 2014; Серегин, 2009; Hassan, Aarts, 2011; Ильин, 2012; Казнина, 2016; Cadmium..., 2019 и др.]. Тяжелые металлы поступают в окружающую среду преимущественно в нерастворимой форме, однако в ходе атмосферного переноса происходит постепенное их выщелачивание и переход из минеральной в ионную водорастворимую форму. В дальнейшем они поглощаются растениями, и по мере их накопления это становится реальной угрозой не только для самих растений, но и для животных и человека. Среди тяжелых металлов одним из наиболее токсичных и опасных считается кадмий, поскольку он достаточно легко поступает в растения, обладает высоким кумулятивным эффектом, не подвергается биодegradации и практически не выводится из организма [Das et al., 1997; Серегин, 2001; Benavides et al., 2005; Головкин и др., 2008; Казнина, Титов, 2013].

Береза, как известно, может в естественной среде активно расселяться на значительных по площади территориях, включая загрязненные тяжелыми металлами [Ташекова, Торопов, 2017]. Она не является их аккумулятором, однако способна накапливать довольно большое количество тяжелых металлов в органах и тканях, например, надземной части [Rosselli et al., 2003; Кузнецова и др., 2015; Григорьева, 2015], без явных признаков нарушения метаболизма, благодаря чему считается металлоустойчивым растением [Koronen et al., 2001; Вострикова, 2009]. Более того, в литературе имеются рекомендации использовать корневую меристему проростков семян березы повислой [Калаев и др., 2006; Вострикова, 2009] для проведения цитогенетического мониторинга, направленного на регистрацию фенотипических проявлений хромосомных аномалий и при оценке их распространения в популяциях. Преимущества березы, как и других древесных видов, обусловлены тем, что они являются многолетними растениями и возможные изменения в их тканях отражают характер длительного воздействия (и последствия) тех или иных факторов. Однако в тех случаях, когда речь идет

о нарушении у древесных растений физиологических процессов, вызванных тяжелыми металлами, удобной биологической моделью могут выступать прорастающие семена, всхожесть и энергия прорастания которых, а также рост проростков на начальном этапе развития легко поддаются регистрации.

Исходя из вышеизложенного, нами проведено изучение влияния ионов кадмия на прорастание семян и рост проростков карельской березы *B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti и березы повислой *Betula pendula* Roth.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили семена *B. pendula* var. *carelica* и *B. pendula*, полученные в результате контролируемого опыления деревьев, типичных для изученных видов. Добавим, что, несмотря на существующее пока латинское название, карельскую березу мы также относим к таксономическому рангу вида в соответствии с его общепринятыми биологическими критериями [Ветчинникова, Титов, 2020].

Семена проращивали в лабораторных условиях на растворах уксуснокислой соли кадмия (Cd^{2+}) в концентрациях 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} и 10^{-3} М. Выбор соли, содержащей ацетат-ионы, обусловлен их наименьшей токсичностью для растений по сравнению с другими анионами [Калинин, 1989; Кагарманов, 1995; Казнина, 2016 и др.]. Поэтому наблюдаемый в этом случае биологический эффект почти целиком определялся действием ионов кадмия. Диапазон изученных концентраций металла варьировал от природной фоновой величины до критической для жизнедеятельности растений. Для проращивания семян контрольного варианта использовали дистиллированную воду без добавления кадмия. Проращивание семян осуществляли на специальной установке в чашках Петри. Повторность в пределах одного варианта составляла 50 семян, опыт повторяли трижды.

О реакции семян на действие кадмия судили по энергии прорастания (на 7-е сут) и всхожести семян на 3-и и 15-е сут (абсолютная всхожесть) от начала проращивания, а также по изменению линейных размеров зародышевого корешка и гипокотыля (на 7-е сут от начала проращивания). Статистическую обработку данных осуществляли с помощью общепринятых методов с использованием пакета программ Microsoft Excel. На рисунках представлены средние значения и их стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что в условиях лабораторного опыта ионы кадмия оказывали ощутимое влияние на прорастание семян изученных видов березы, что проявлялось в снижении их абсолютной всхожести и энергии прорастания, уменьшении размеров проростков, а также в торможении начальной стадии онтогенеза. При этом с увеличением концентрации металла наблюдалось усиление его ингибирующего действия. Так, если при использовании концентраций кадмия 10^{-6} , 10^{-5} и 10^{-4} М активное прорастание семян было зафиксировано на 3-и сут, то при применении концентрации 10^{-3} М наблюдали ярко выраженную задержку прорастания: лишь единичные семена после набухания характеризовались как «проклюнувшиеся», а спустя 15 сут их развитие прекращалось совсем (табл.). Соответственно ионы кадмия оказывали негативное влияние и на энергию прорастания семян карельской березы.

Так, энергия прорастания семян карельской березы (7-е сут) в контрольном варианте составила более 55 % (рис. 1). Но под влиянием кадмия она заметно снижалась. При этом в варианте с наибольшей концентрацией металла (10^{-3} М) прорастание составляло не более 10 % или не происходило вообще.

У березы повислой зависимость воздействия ионов кадмия от их концентрации на энергию прорастания семян оказалась сходной

с таковой у карельской березы, с той лишь разницей, что значения ее показателей по сравнению с последней были почти в 1,5 раза ниже (включая контроль) (рис. 1). В концентрациях 10^{-6} и 10^{-5} М кадмий также слабо влиял на энергию прорастания и абсолютную всхожесть семян березы повислой. Увеличение концентрации металла в растворе до 10^{-4} М приводило к заметному снижению всхожести семян, а до 10^{-3} М – к полному ее подавлению (табл.).

Скорость роста и формирования проростков у карельской березы оказались также срав-

Влияние кадмия на всхожесть семян карельской березы и березы повислой

The influence of cadmium on the germination of seeds of Karelian birch and silver birch

Концентрация кадмия, М Cadmium concentration, M	Количество проросших семян, в % Number of germinated seeds, in %			
	карельская береза Karelian birch		береза повислая silver birch	
	3 сут 3 day	15 сут* 15 day*	3 сут 3 day	15 сут* 15 day*
0 (контроль) (control)	45,0	74,3	7,4	48,0
10^{-6}	46,0	71,0	31,0	46,8
10^{-5}	41,4	73,3	26,6	43,4
10^{-4}	37,6	60,6	20,6	36,0
10^{-3}	16,8	0,0	11,3	0,0

Примечание. *Абсолютная всхожесть семян.

Note. *Absolute germination of seeds.

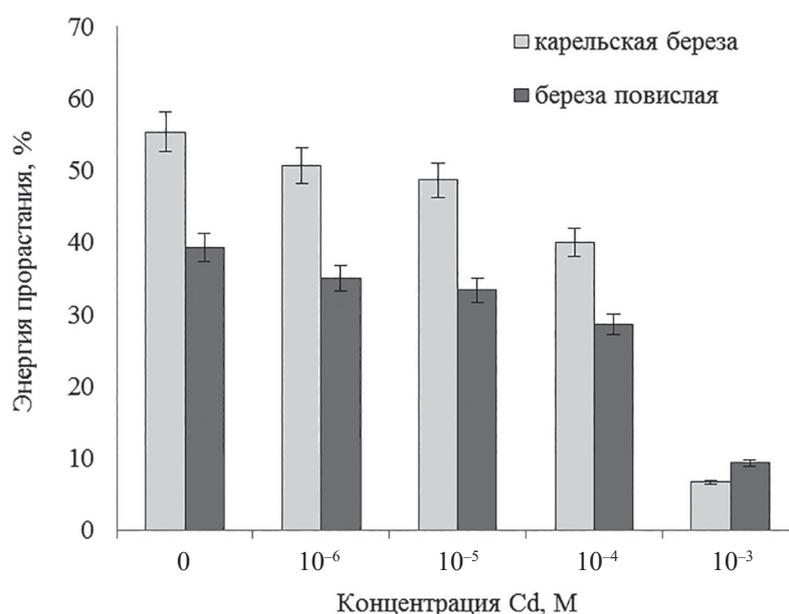


Рис. 1. Влияние кадмия на энергию прорастания семян карельской березы и березы повислой

Fig. 1. The effect of cadmium on the germination energy of seeds of Karelian birch and silver birch

нительно устойчивыми по отношению к ионам кадмия. В частности, на 7-е сут в концентрациях 10^{-6} и 10^{-5} М кадмий или не влиял на рост зародышевого корешка, который, как правило, появляется из семени первым, или слабо его стимулировал (рис. 2). При использовании концентрации 10^{-4} М отмечено заметное ингибирование роста зародышевого корешка (на 30 %), а в варианте с концентрацией 10^{-3} М происходило полное подавление его развития.

Размеры гипокотыля у карельской березы при использовании низких концентраций кадмия (10^{-6} , 10^{-5} М) практически не отличались от таковых в контроле, но по абсолютным значениям они почти вдвое превышали длину зародышевого корешка. Снижение величины прироста гипокотыля (в 1,5 раза) через 7 сут отмечено при применении концентрации кадмия, равной 10^{-4} М, а почти полное торможение – в варианте с концентрацией металла 10^{-3} М (рис. 3). Более активный рост гипокотыля по сравнению с зародышевым корешком, по всей вероятности, обусловлен тем, что береза, как и ряд других видов, характеризуется надземным (эпигейным) прорастанием. В этом случае на ранних этапах развития растений гипокотиль играет ключевую роль, прорастая из семени в виде петлеобразного изгиба, благодаря которому легко «пробивает» слой почвы и «выносит» семядоли вместе с зародышевой почкой на поверхность.

У березы повислой по сравнению с карельской березой кадмий в изученном диапазоне концентраций в большей степени оказывал стимулирующее влияние на рост проростков (рис. 2, 3). В частности, если на 7-е сут в контрольном варианте длина зародышевого корешка и гипокотыля не превышала 4 и 6 мм соответственно (и была почти в 2 раза меньше, чем у карельской березы), то в опытном – с использованием концентраций 10^{-6} и 10^{-5} М – размеры проростков увеличились более чем в 2 раза. Но положительное воздействие кадмия на рост гипокотыля у березы повислой было слабее, чем на рост корней. Ранее эффект стимулирования малыми дозами тяжелых металлов отмечен у ряда представителей культурных растений [Atici et al., 2005; Dong et al., 2005; Казнина, 2016 и др.]. Вместе с тем у березы повислой, так же как и у карельской березы, при использовании наибольшей из изученных концентраций (10^{-3} М) кадмий ингибировал начальный рост зародыша, препятствуя дальнейшему прорастанию семян.

Добавим, что на начальных этапах онтогенеза обоих видов березы влияние ионов кадмия на процессы роста и развития семян усиливалось с увеличением продолжительности его действия, однако степень токсичности зависела от применяемой концентрации. Так, при использовании концентраций от 10^{-6} до 10^{-4} М кадмий в течение всего опыта оказывал негативное воздействие на начальный рост про-

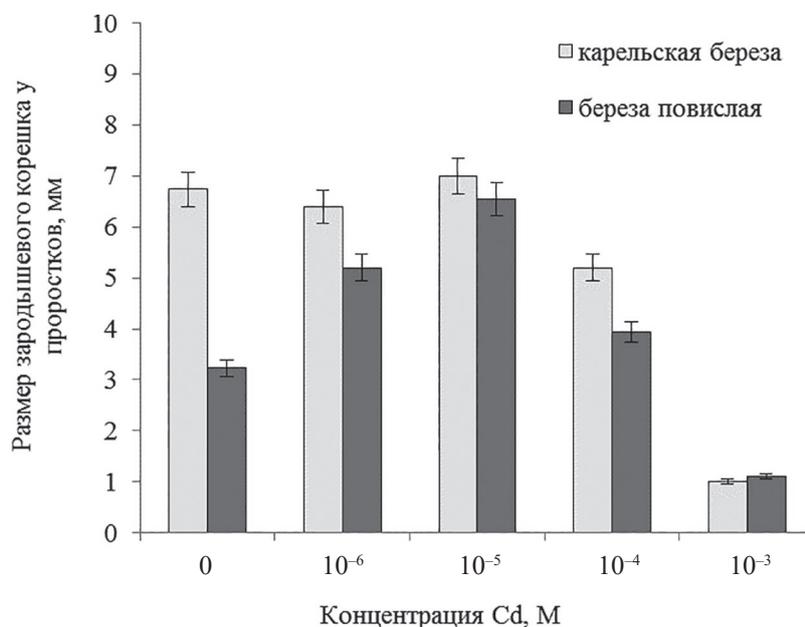


Рис. 2. Влияние кадмия на размер зародышевого корешка у проростков карельской березы и березы повислой

Fig. 2. The effect of cadmium on the size of the germinal root in seedlings of Karelian birch and silver birch

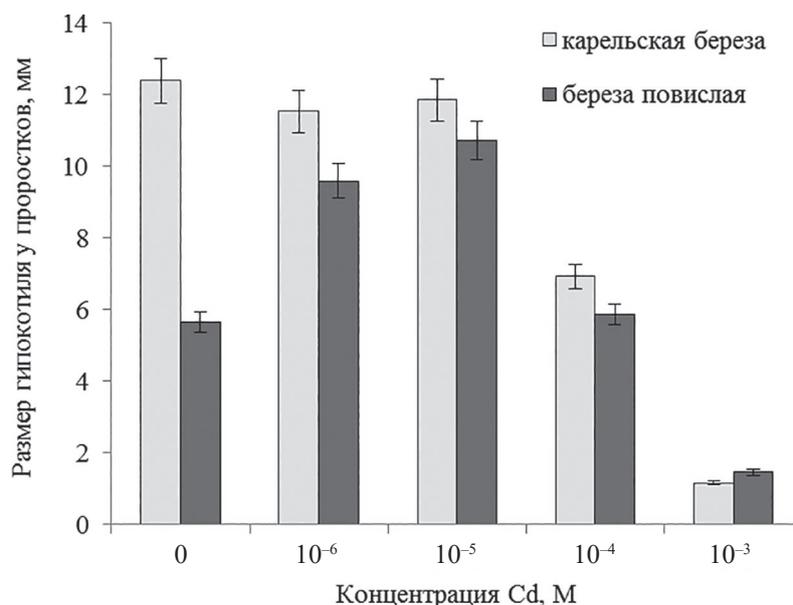


Рис. 3. Влияние кадмия на размер гипокотилия у проростков карельской березы и березы повислой

Fig. 3. The effect of cadmium on the size of hypocotyl in seedlings of Karelian birch and silver birch

ростков, но оно не приводило к летальному исходу (табл.). По всей вероятности, это обусловлено тем, что семенная оболочка выступала существенным барьером для поглощения ионов кадмия. Ранее на примере травянистых и сельскохозяйственных растений убедительно показано, что прорастание семян является наиболее устойчивым процессом к действию тяжелых металлов именно потому, что ионы металла не способны проникать внутрь семени и остаются в клеточных стенках семенной оболочки [Холодова и др., 2005; Титов и др., 2007, 2014; Казнина, 2016]. Однако после набухания ее целостность нарушается, а проницаемость увеличивается. Заметим, что в семенах березы из-за отсутствия эндосперма первоначально запас питательных веществ зародыш получает непосредственно из семядолей, после прорастания – за счет зародышевого корешка из окружающей среды. Не исключено, что по этой причине в наших опытах спустя 15 сут в варианте с концентрацией кадмия 10^{-4} М наблюдалось побурение зачаточных корешков, свидетельствующее о токсичном воздействии металла на проростки в зависимости не только от его концентрации, но и от продолжительности действия.

Таким образом, в целом характер реакции семян обоих видов березы на действие кадмия оказался однотипным: с повышением концентрации металла снижается энергия прорастания и абсолютная всхожесть семян, замедляется

рост зачаточных органов проростков. Наблюдаемые при этом различия носили только количественный характер. Например, у березы повислой на 7-е сут после начала проращивания отмечено положительное влияние низких концентраций кадмия (10^{-5} М) на рост проростков: длина гипокотилия была более чем на 25 % выше, чем в контроле, что не наблюдалось у карельской березы.

Данные о снижении энергии прорастания семян у обоих видов березы относительно контрольного варианта свидетельствуют, что отрицательное влияние кадмия на ростовые процессы, не фиксируемое визуально, по всей вероятности, может иметь место и при применении низких концентраций металла. Основными негативными эффектами кадмия (как и тяжелых металлов в целом) на процесс деления клеток считаются: снижение интенсивности клеточного деления, уменьшение количества клеток на всех фазах митоза, увеличение продолжительности отдельных фаз и всего митотического цикла [Серегин, Иванов, 2001; Титов и др., 2014 и др.]. Помимо прочего такие изменения могут быть связанными еще и с повреждением хромосом и/или с неравным их расхождением к полюсам клетки [Калаев и др., 2006; Баранова, 2015 и др.]. Однако благодаря существованию различных защитно-приспособительных и компенсаторных механизмов растения березы способны расти и развиваться в присутствии достаточно высоких

концентраций кадмия в среде, что свидетельствует об их относительно высокой металлоустойчивости.

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что ионы кадмия оказывают на прорастание семян карельской березы и березы повислой ингибирующее действие, характер и сила которого зависят от концентрации металла и продолжительности его действия. Даже в низких концентрациях (10^{-6} , 10^{-5} М) ионы кадмия снижают энергию прорастания и абсолютную всхожесть семян карельской березы и березы повислой. При применении более высоких концентраций металла (10^{-4} и особенно 10^{-3} М) отмечено не только замедление процесса прорастания семян, но и торможение роста зачаточных органов. Вместе с тем зафиксировано небольшое стимулирующее влияние низких концентраций ионов кадмия на размеры зачаточного корешка и гипокотила у березы повислой, что не наблюдалось у карельской березы. Некоторые количественные различия, выявленные в реакции растений карельской березы и березы повислой на действие ионов кадмия, очевидно отражают биологические особенности этих видов. В целом, несмотря на то, что семена березы не имеют твердой оболочки, а зародыш – эндосперма, они способны прорасти при концентрации кадмия во внешней среде от 10^{-6} до 10^{-4} М, что свидетельствует об их достаточно высокой устойчивости к этому металлу. Токсичной оказалась наибольшая из изученных концентрация кадмия – 10^{-3} М. Результаты опытов позволяют также говорить о потенциальной возможности использования семян карельской березы для создания плантаций целевого назначения, а березы повислой – для лесовосстановления на территориях, загрязненных тяжелыми металлами, в частности кадмием.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН, Институт биологии КарНЦ РАН, Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН).

Литература

Баранова Т. В. Цитогенетические изменения проростков березы повислой при загрязнении городской среды // Вестник ПГТУ. Серия: Лес. Экология. Природопользование. 2015. № 2(26). С. 77–82.

Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. Карельская береза: разновидность или самостоятельный вид? // Изв. вузов. Лесн. журн. 2020. № 1. С. 26–48. doi: 10.17238/issn0536-1036.2020.1.26

Вострикова Т. В. Цитозекологическое изучение березы повислой (*Betula pendula* Roth) в условиях техногенной нагрузки // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2009. № 2. С. 95–101.

Головки Т. К., Гармаш Е. В., Скугорева С. Г. Тяжелые металлы в окружающей среде и растительных организмах // Вестник ИБ Коми НЦ УрО РАН. 2008. № 7. С. 2–7.

Григорьева И. Я. Изучение биоиндикационных свойств древесных растений на тяжелые металлы // Инновационная наука. 2015. Т. 3, № 4. С. 26–29.

Ильин В. Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва – растение. Новосибирск: СО РАН, 2012. 220 с.

Кагарманов И. Р. Биологические особенности топей в связи с лесовосстановлением в техногенных условиях Предуралья: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 1995. 18 с.

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

Казнина Н. М. Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства *Roaceae* к тяжелым металлам: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Санкт-Петербург, 2016. 38 с.

Калаев В. Н., Буторина А. К., Шелухина О. Ю. Оценка антропогенного загрязнения районов г. Старый Оскол по цитогенетическим показателям семенного потомства березы повислой // Экологическая генетика. 2006. Т. 4, № 2. С. 9–21.

Калинин М. И. Корневоедение: Учеб. пособие. Киев: УМК ВО, 1989. 195 с.

Кузнецова Т. Ю., Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. Аккумуляция тяжелых металлов в различных органах и тканях березы в зависимости от условий произрастания // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 1. С. 68–73. doi: 10.17076/есo27

Серегин И. В. Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М. 2009. 53 с.

Серегин И. В., Иванов В. Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 4. С. 606–630.

Ташекова А. Ж., Торопов А. С. Использование листьев растений как биогеохимических индикаторов состояния городской среды // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2017. Т. 328, № 5. 114–124.

Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения // Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 194 с.

Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам // Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 170 с.

Холодова В. П., Волков К. С., Кузнецов В. В. Адаптация к высоким концентрациям солей меди

и цинка растений хрустальной травки и возможность их применения в целях фитомедиации // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 6. С. 848–858.

Atici Ö., Ağar G., Battal P. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress // *Biologia Plantarum*. 2005. Vol. 49, no. 2. P. 215–222.

Benavides M. P., Gallego S. M., Tomaro M. L. Cadmium toxicity in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. Vol. 17, no. 1. P. 21–34. doi: 10.1590/S1677-04202005000100003

Cadmium toxicity and tolerance in plants from physiology to remediation / Eds. M. Hasanuzzaman, M. Narasimha, M. N. V. Prasad, M. Fujita. Academic Press, 2019. 619 p.

Das P., Samantaray S., Rout G. R. Studies on cadmium toxicity in plants: a Review // *Environ. Pollut.* 1997. Vol. 98, no. 1. P. 29–36. doi: 10.1016/s0269-7491(97)00110-3

References

Baranova T. V. Tsitogeneticheskie izmeneniya pro-rostkov berezy povisloi pri zagryaznenii gorodskoi sredy [Cytogenetic changes of *Betula pendula* sprouts when environment pollution]. *Vestnik PGTU. Ser.: Les. Ekol. Prirodopol'zovanie* [Vestnik Volga St. Univ. Tech. Ser.: Forest. Ecol. Nat. Management]. 2015. No. 2(26). P. 77–82.

Golovko T. K., Garmash E. V., Skugoreva S. G. Tyazhelye metally v okruzhayushchei srede i rastitel'nykh organizmakh [Heavy metals in the environment and plants]. *Vestnik IB Komi NTs UrO RAN* [Vestnik Inst. Biol., Komi SC UB RAS]. 2008. No. 7. P. 2–7.

Grigor'eva I. Ya. Izuchenie bioindikatsionnykh svoystv drevesnykh rastenii na tyazhelye metally [Study of bio-indication properties of woody plants on heavy metals]. *Innovatsionnaya nauka* [Innovative Sci.]. 2015. Vol. 3, no. 4. P. 26–29.

Il'in V. B. Tyazhelye metally i nemetally v sisteme pochva – rastenie [Heavy metals and nonmetals in the soil-plant system]. Novosibirsk: SO RAN, 2012. 220 p.

Kagarmanov I. R. Biologicheskie osobennosti topolei v svyazi s lesovosstanovleniem v tekhnogennykh usloviyakh Predural'ya [Biological features of the poplar in connection with reforestation in the man-induced conditions of the Cis-Ural region]: PhD (Cand. of Biol.) thesis. Ufa, 1995. 18 p.

Kalaev V. N., Butorina A. K., Sheluhina O. Yu. Otsenka antropogennogo zagryazneniya raionov g. Staryi Oskol po tsitogeneticheskim pokazatelyam semennogo potomstva berezy povisloi [Assessment of anthropogenic pollution of the Stary Oskol districts by cytogenetic indicators of seed of the silver birch]. *Ekol. genetika* [Ecol. genetics]. 2006. Vol. 4, no. 2. P. 9–21.

Kalinin M. I. Kornevedenie: Ucheb. posobie [Study of roots: a study guide]. Kiev: UMK VO, 1989. 195 p.

Kaznina N. M. Fiziologo-biokhimicheskie i molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy ustoichivosti rastenii semeistva *Poaceae* k tyazhelym metallam [Physiological-biochemical and molecular genetic mechanisms

Dong J., Wu F., Zhang G. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings // *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2005. Vol. 6, no. 10. P. 974–98. doi: 10.1631/jzus.2005. B0974

Hassan Z., Aarts M. G. Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants // *Environ. Exp. Bot.* 2011. Vol. 72, no. 1. P. 53–63.

Kopponen P., Utriainen M., Lukkari K., Suntioinen S., Kärenlampi L., Kärenlampi S. Clonal differences in copper and zinc tolerance of birch in metal-supplemented soil // *Environ. Pollut.* 2001. Vol. 112. P. 89–97.

Rosselli W., Keller C., Boschi K. Phytoextraction capacity of trees growing on a metal contaminated soil // *Plant and Soil*. 2003. Vol. 256, iss. 2. P. 265–272.

Vassilev A. Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview // *J. Central Eur. Agric.* 2002. Vol. 4, no. 1. P. 65–74.

Поступила в редакцию 11.02.2020

of the *Poaceae* family resistance to heavy metals]: Summary DSc (Dr. of Biol.) thesis. St. Peterburg, 2016. 38 p.

Kaznina N. M., Titov A. F. Vliyaniye kadmiya na fiziologicheskie protsessy i produktivnost' rastenii semeistva *Poaceae* [The influence of cadmium on physiological processes and productivity of *Poaceae* plants]. *Uspekhi sovr. biol.* [Advances in Modern Biol.]. 2013. Vol. 133, no. 6. P. 588–603.

Kholodova V. P., Volkov K. S., Kuznetsov V. V. Adaptatsiya k vysokim kontsentratsiyam solei medi i tsinka rastenii khrustal'noi travki i vozmozhnost' ikh primeneniya v tselyakh fitomediatsii [Adaptation of the common ice plant to high copper and zinc concentrations and their potential using for phytoremediation]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2005. Vol. 52, no. 6. P. 848–858.

Kuznetsova T. Yu., Vetchinnikova L. V., Titov A. F. Akkumulyatsiya tyazhelykh metallov v razlichnykh organakh i tkanyakh berezy v zavisimosti ot uslovii proizvodstvaniya [Heavy metals accumulation in various organs and tissues of birch trees depending on grow the conditions a comparative study of birches]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. of KarRC RAS]. 2015. No. 1. P. 68–73. doi: 10.17076/eco27

Seregin I. V., Ivanov V. B. Fiziologicheskie aspekty toksicheskogo deistviya kadmiya i svintsya na vysshie rasteniya [Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2001. Vol. 48, no. 4. P. 606–630.

Seregin I. V. Raspredeleniye tyazhelykh metallov v rasteniyakh i ikh deistvie na rost [Heavy metals distribution in plants and their effect on growth]: Summary DSc (Dr. of Biol.) thesis. Moscow, 2009. 53 p.

Tashekova A. Z., Toropov A. S. Ispol'zovanie list'ev rastenii kak biogeokhimicheskikh indikatorov sostoyaniya gorodskoi sredy [Application of leaves as biogeoindicators of urban environment state]. *Izv. Tomskogo politekh. univ. Inzhiniring georesursov* [Bull. Tomsk Polytechnic Univ. Geo Assets Engineering]. 2017. Vol. 328, no. 5. P. 114–124.

Titov A. F., Kaznina N. M., Talanova V. V. Tyazhelye metally i rasteniya [Heavy metals and plants]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2014. 194 p.

Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. M., Laidinen G. F. Ustoichivost' rastenii k tyazhelym metallam [Resistance of plants to heavy metals]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2007. 172 p.

Vetchinnikova L. V., Titov A. F. Karel'skaya bereza: raznovidnost' ili samostoyatel'nyi vid? [Curly birch: a variety or a separate species?]. *Izv. vuzov. Lesn. zhurn.* [Forestry J.]. 2020. No. 1. P. 26–48. doi: 10.17238/issn0536-1036.2020.1.26

Vostrikova T. V. Citoekologicheskoe izuchenie berezy povisloi (*Betula pendula* Roth) v usloviyakh tekhnogennoi nagruzki [Cytocological study of the silver birch (*Betula pendula* Roth) under anthropogenic load]. *Vestnik VGU, Seriya: Khimiya. Biol. Farmatsiya* [Bull. Voronezh St. Univ., Ser. Chem. Biol. Pharmacy]. 2009. No. 2. P. 95–101.

Atici Ö., Ağar G., Battal P. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress. *Biol. Plant.* 2005. Vol. 49, no. 2. P. 215–222.

Benavides M. P., Gallego S. M., Tomaro M. L. Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. Vol. 17, no. 1. P. 21–34. doi: 10.1590/S1677-04202005000100003

Cadmium toxicity and tolerance in plants from physiology to remediation. Eds. M. Hasanuzzaman,

M. Narasimha, M. N. V. Prasad, M. Fujita. Academic Press, 2019. 619 p.

Das P., Samantaray S., Rout G. R. Studies on cadmium toxicity in plants: a Review. *Environ. Pollut.* 1997. Vol. 98, no. 1. P. 29–36. doi: 10.1016/s0269-7491(97)00110-3

Dong J., Wu F., Zhang G. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005. Vol. 6, no. 10. P. 974–98. doi: 10.1631/jzus.2005. B0974

Hassan Z., Aarts M. G. Opportunities and feasibility for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants. *Environ. Exp. Bot.* 2011. Vol. 72, no. 1. P. 53–63.

Kopponen P., Utriainen M., Lukkari K., Suntioinen S., Kärenlampi L., Kärenlampi S. Clonal differences in copper and zinc tolerance of birch in metal-supplemented soil. *Environ. Pollut.* 2001. Vol. 112. P. 89–97.

Rosselli W., Keller C., Boschi K. Phytoextraction capacity of trees growing on a metal contaminated soil. *Plant and Soil.* 2003. Vol. 256, iss. 2. P. 265–272.

Vassilev A. Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview. *J. Central Eur. Agric.* 2002. Vol. 4, no. 1. P. 65–74.

Received February 11, 2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ветчинникова Лидия Васильевна

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

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:

Vetchinnikova, Lidia

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

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

УТРАТЫ

ВЕРА ВИКТОРОВНА ТАЛАНОВА (1953–2020)



17 февраля 2020 г. ушла из жизни доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории экологической физиологии растений Института биологии Карельского научного центра РАН Вера Викторовна Таланова.

В. В. Таланова родилась 23 июля 1953 г. в д. Стешевская Пудожского района КФССР. В 1970 году окончила среднюю школу № 9 г. Петрозаводска и поступила на биологический факультет Петрозаводского государственного университета. В 1975 году после окончания учебы в вузе она была принята на постоянную работу

в лабораторию физиологии и экологии растений ИБ КарНЦ РАН, где и прошла вся ее профессиональная трудовая деятельность (более 40 лет).

С первых дней работы в лаборатории В. В. Таланова активно включилась в исследования, направленные на изучение устойчивости растений к низким и высоким температурам. С 1979 по 1982 г. под руководством С. Н. Дроздова и А. Ф. Титова Вера Викторовна проходила аспирантскую подготовку по специальности «физиология растений» и в 1985 году успешно защитила кандидатскую диссертацию по теме «Эколого-физиологические аспекты устойчивости томатов к низким и высоким температурам (ранние этапы развития)».

В дальнейшем В. В. Таланова на протяжении многих лет возглавляла один из разделов темы НИР лаборатории. Под ее руководством изучались структурные и функциональные изменения фотосинтетического аппарата растений, происходящие под влиянием неблагоприятных температур; выявлен целый ряд физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов устойчивости растений к низким температурам и высоким концентрациям тяжелых металлов. Особое внимание Вера Викторовна уделяла изучению роли фитогормонов в механизмах адаптации растений к неблагоприятным воздействиям. Важным итогом многолетней работы в этом направлении явилась докторская диссертация на тему «Фитогормоны как регуляторы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды», которая была успешно защищена в 2009 году.

В. В. Таланова была высококвалифицированным специалистом в области экологиче-

ской физиологии и биохимии растений. Ею написано и опубликовано (самостоятельно и в соавторстве) около 300 научных работ, включая монографии, учебные пособия, статьи в ведущих российских и международных журналах, зарегистрированы две базы данных.

Наряду с научно-исследовательской работой В. В. Таланова активно занималась научно-организационной, экспертной и педагогической деятельностью. Многие годы она была членом Ученого совета ИБ КарНЦ РАН, а также членом специализированного диссертационного совета ДМ 212.087.02 по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальностям «биохимия» и «физиология» при Карельской государственной педагогической академии (КГПА). Под ее руководством защи-

щено две кандидатских диссертации, написан целый ряд дипломных работ. На протяжении нескольких лет Вера Викторовна вела лабораторные и практические занятия у студентов естественно-географического факультета КГПА.

За большие достижения в научной деятельности Вера Викторовна награждена Почетной грамотой РАН, Почетной грамотой Республики Карелия и Почетными грамотами КарНЦ РАН.

Светлая память о Вере Викторовне Талановой сохранится в сердцах коллег по лаборатории, сотрудников Института биологии и Карельского научного центра РАН.

*Лаборатория экологической
физиологии растений,
Институт биологии КарНЦ РАН*

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. Редколлегия серий и отдельных выпусков Трудов КарНЦ РАН оставляет за собой право возвращать без регистрации рукописи, не отвечающие настоящим правилам.

При получении редакцией рукопись регистрируется (в случае выполнения авторами основных правил ее оформления) и направляется на отзыв рецензентам. Отзыв состоит из ответов на типовые вопросы анкеты и может содержать дополнительные расширенные комментарии. Кроме того, рецензент может вносить замечания и правки в текст рукописи. Авторам высылаются электронная версия анкеты и комментарии рецензентов. Доработанный экземпляр автор должен вернуть в редакцию вместе с первоначальным экземпляром и ответом на все вопросы рецензента не позднее чем через месяц после получения рецензии. Перед опубликованием авторам высылаются распечатанная версия статьи, которая вычитывается, подписывается авторами и возвращается в редакцию.

Журнал имеет полноценную электронную версию на базе Open Journal System (OJS), позволяющую перевести предоставление и редактирование рукописи, общение автора с редколлегиями серий и рецензентами в электронный формат и обеспечивающую прозрачность процесса рецензирования при сохранении анонимности рецензентов (<http://journals.krc.karelia.ru/>).

Редакционный совет журнала «Труды Карельского научного центра РАН» (Труды КарНЦ РАН) определил для себя в качестве одного из приоритетов полную открытость издания. Это означает, что пользователям на условиях свободного доступа разрешается: читать, скачивать, копировать, распространять, печатать, искать или находить полные тексты статей журнала по ссылке без предварительного разрешения от издателя и автора. Учредители журнала берут на себя все расходы по редакционно-издательской подготовке статей и их опубликованию.

Содержание номеров Трудов КарНЦ РАН, аннотации и полнотекстовые электронные варианты статей, а также другая полезная информация, включая настоящие Правила, доступны на сайтах – <http://transactions.krc.karelia.ru>; <http://journals.krc.karelia.ru>

Почтовый адрес редакции: 185000, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, КарНЦ РАН, редакция Трудов КарНЦ РАН. Телефон: (8142) 762018.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСИ

Статьи публикуются на русском или английском языке. Рукописи должны быть тщательно выверены и отредактированы авторами.

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 представляются в редакцию лично (г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, каб. 502).

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**); двуязычные таблицы (на русском и английском языках); рисунки; подписи к рисункам на русском и английском языках.

Сведения об авторах: фамилии, имена, отчества всех авторов полностью на русском и английском языке; полный почтовый адрес каждой организации (с указанием почтового индекса) на русском и английском языке; должности, ученые звания, ученые степени авторов; адрес электронной почты 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 библиографического 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 при первичной подаче материала в редакцию вставляются в общий текстовый файл. При сдаче материала, принятого в печать, все рисунки должны быть представлены в виде отдельных файлов в формате TIFF (*.TIF) или JPG. Графические материалы должны быть снабжены распечатками с указанием 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, элек-

* Названия видов приводятся на латинском языке КУРСИВОМ, в скобках указываются высшие таксоны (семейства), к которым относятся объекты исследования.

тронного 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 брюхоного 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 общеупотребительных.

БЛАГОДАРНОСТИ. В этой рубрике выражается признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и фондам, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи, а также указываются источники финансирования работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ. Пристатейные ссылки и/или списки пристатейной литературы следует оформлять по ГОСТ Р 7.0.5-2008. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления (http://www.bookchamber.ru/GOST_P_7.0.5.-2008). Список работ представляется в алфавитном порядке. Все ссылки даются на языке оригинала (названия на японском, китайском и других языках, использующих нелатинский шрифт, пишутся в русской транскрипции). Сначала приводится список работ на русском языке и на языках с близким алфавитом (украинский, болгарский и др.), а затем – работы на языках с латинским алфавитом. В списке литературы между инициалами ставится пробел.

ТРАНСЛИТЕРИРОВАННЫЙ СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (REFERENCES). Приводится отдельным списком, повторяя все позиции основного списка литературы. Библиографические описания русскоязычных работ даются 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 ее. Описания прочих работ приводятся на языке оригинала. Для составления списка рекомендуется использование бесплатных онлайн-сервисов транслитерации, вариант BSI.

Внимание! С 2015 года каждой статье, публикуемой в «Трудах Карельского научного центра РАН», редакцией присваивается уникальный идентификационный номер цифрового объекта (DOI) и статья включается в базу данных Crossref. **Обязательным условием является указание в списках литературы DOI для тех работ, у которых он есть.**

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ 1-Й СТРАНИЦЫ

УДК 631.53.027.32:635.63

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПРЕДПОСЕВНОГО ЗАКАЛИВАНИЯ СЕМЯН НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

Е. Г. Шерудило¹, М. И. Сысоева¹, Г. Н. Алексейчук², Е. Ф. Марковская¹

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН

²Институт экспериментальной ботаники НАН Республики Беларусь им. В. Ф. Купревича

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; кратковременное снижение температуры; устойчивость.

E. G. Sherudilo, M. I. Sysoeva, G. N. Alekseichuk, E. F. Markovskaya. EFFECTS OF DIFFERENT REGIMES OF SEED HARDENING ON COLD RESISTANCE IN CUCUMBER PLANTS

Аннотация на английском языке

Keywords: *Cucumis sativus* L.; temperature drop; resistance.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ

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

Table 2. Ultrastructure of leaf mesophyll cells after the exposure of wheat seedlings or roots to 10 min of chilling at 2 °C

Показатель Index	Контроль Control	Охлаждение проростков Seedling chilling	Охлаждение корней Root chilling
Площадь среза хлоропласта, мкм ² Chloroplast cross-sectional area, μm ²	10,0 ± 0,7	13,5 ± 1,1	12,7 ± 0,5
Площадь среза митохондрии, мкм ² Mitochondria cross-sectional area, μm ²	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,03	0,6 ± 0,04
Площадь среза пероксисомы, мкм ² Peroxisome cross-sectional area, μm ²	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Число хлоропластов на срезе клетки, шт. Number of chloroplasts in cell cross-section	9 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число митохондрий на срезе клетки, шт. Number of mitochondria in cell cross-section	8 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
Число пероксисом на срезе клетки, шт. Number of peroxisomes in cell cross-section	2 ± 0,3	2 ± 0,3	3 ± 0,4

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

Note. Here and in Tab. 3 all ultrastructure parameters were measured 24 h after chilling.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ПОДПИСИ К РИСУНКУ

Рис. 1. Северный точильщик (*Hadrobregmus confuses* Kraaz.)

Fig. 1. Woodboring beetle *Hadrobregmus confuses* Kraaz.

Рис. 5. Результаты изучения кристаллитов и демпферных зон в образце кварца из Дульдурги:

(а) – электронная микрофотография кварца; (б) – картина микродифракции, полученная для участка 1 в области кристаллитов; (в) – картина микродифракции, отвечающая участку 2 в области демпферных зон

Fig. 5. Results of the study of crystallites and damping zones in a quartz sample from Duldurga:

(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.

References:

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

References:

Viktorov G. A. Mezhhvidovaya konkurentsiya 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.

References:

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.

References:

Sheftel' B. I. Ekologicheskie aspekty prostranstvenno-vremennykh mezhvidovykh 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. Hidrogeokhimicheskie 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.

References:

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.

References:

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).

References:

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.

References:

Gosudarstvennaya Duma, 1999–2003 [State Duma, 1999–2003]. Electronic encyclopedia. The office of the State Duma of the Federal Assembly of the Russian Federation. Moscow, 2004. 1 CD-ROM.

TABLE OF CONTENTS

REVIEWS

L. P. Smirnov. 4. ATP-BINDING CASSETTE TRANSPORTERS (ABC). NOMENCLATURE, STRUCTURE, MOLECULAR DIVERSITY, FUNCTION, CONTRIBUTION TO THE FUNCTIONING OF THE XENOBIOTICS TRANSFORMATION SYSTEM (A REVIEW) 5

ORIGINAL PAPERS

V. K. Bolondinskii, L. M. Vilikainen, V. B. Pridacha, T. A. Sasonova. EFFECT OF THE SOIL TEMPERATURE AND AIR TEMPERATURE ON THE GROWTH OF SILVER BIRCH SEEDLINGS AND THEIR GASEOUS CO₂ EXCHANGE. 20

I. A. Dubrovina, M. G. Yurkevich, V. A. Sidorova. EFFECT OF BIOCHAR AND FERTILIZERS ON THE DEVELOPMENT OF BARLEY PLANTS AND AGROCHEMICAL INDICES OF SODDY-PODZOLIC SOILS IN A POT EXPERIMENT. 31

B. V. Raevsky, K. K. Kuklina, M. L. Schurova. GENETIC AND BREEDING ASSESSMENT OF SCOTS PINE PLUS TREES IN KARELIA 45

T. G. Shibaeva, E. G. Sherudilo, A. F. Titov. PLANT RESPONSES TO A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP AT DIFFERENT TIMES OF DAY AND NIGHT 60

I. V. Sukhovskaya, S. R. Kurpe, E. V. Borvinskaya, A. A. Kochneva, N. N. Fokina. COPPER EFFECT ON COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE DIGESTIVE GLAND IN THE FRESHWATER MUSSEL *ANODONTA CYGNEA* 72

O. B. Vasil'eva, M. A. Nazarova, N. N. Nemova. ESTIMATION OF LIPID PEROXIDATION IN TISSUES OF FISH FROM LAKES OF THE KENTI RIVER SYSTEM, REPUBLIC OF KARELIA 87

I. I. Okulova, I. A. Domsy, Yu. A. Berezina, Z. N. Bel'tyukova, M. A. Koshurnikova. POST-VACCINATION IMMUNITY IN ARCTIC FOXES VACCINATED AGAINST SALMONELLA 95

G. A. Zhulai, A. V. Novitskaia, A. V. Churov, A. A. Romanov, K. Y. Mamashov, A. E. Tonkushina. CD8⁺ AND CD4⁺ REGULATORY T CELLS IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER 106

L. V. Topchieva, V. A. Korneva, O. V. Balan, I. E. Malysheva, I. V. Kurbatova. LIPID SPECTRUM IN PATIENTS WITH ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION AND HEALTHY PEOPLE WITH DIFFERENT NOS2 GENE ALLELIC VARIATIONS 112

SHORT COMMUNICATIONS

A. A. Ignatenko, V. V. Talanova, N. S. Repkina, A. F. Titov. METHYL JASMONATE EFFECT ON THE TOLERANCE OF CUCUMBER PLANTS EXPOSED TO LOW DAMAGING TEMPERATURE. 121

L. V. Vetchinnikova, A. F. Titov. EFFECT OF CADMIUM IONS ON THE GERMINATION OF KARELIAN BIRCH AND SILVER BIRCH SEEDS	130
BEREAVEMENTS	
Vera V. Talanova (1953–2020)	138
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	140

Научный журнал

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 3, 2020

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 17.03.2020. Дата выхода 31.03.2020. Формат 60x84^{1/8}.
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 15,6. Усл. печ. л. 17,2.
Тираж 100 экз. Заказ 601. 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