

Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр  
Российской академии наук»

# **ТРУДЫ**

## **КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

№ 11, 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](mailto: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. 11, 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](mailto: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 575.17 + 577.152.199.2

### **5. ФЛАВИНСОДЕРЖАЩИЕ МОНООКСИГЕНАЗЫ (FMO) – ФЕРМЕНТЫ ФАЗЫ I БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ. НОМЕНКЛАТУРА, СТРУКТУРА, МОЛЕКУЛЯРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ФУНКЦИЯ, УЧАСТИЕ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ. СРАВНЕНИЕ С ЦИТОХРОМАМИ P450 (ОБЗОР)**

**Л. П. Смирнов**

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

FMO (EC 1.14.13.8) – древняя и консервативная группа ферментов, присутствующая во всех без исключения живых организмах. FMO – микросомальный флавопротеин, который окисляет молекулы, содержащие нуклеофильные гетероатомы азота, серы, фосфора или селена. FMO не окисляют физиологически эссенциальные нуклеофилы. Простетической группой FMO является FAD. Кроме того, фермент использует NADPH и молекулярный кислород, чаще всего катализируя образование монооксигенированных субстратов, NADP<sup>+</sup> и воды, как побочных продуктов реакции. У человека гены *FMO1–4* близко расположены на хромосоме, что у млекопитающих явилось результатом предшествующей геномной дупликации, и локализованы на хромосоме 1q24.3, в то время как *FMO5* расположен на хромосоме 1q21.1. *FMO5* – первый фермент, который появился у млекопитающих, поскольку генам *FMO5* свойственна более высокая вариабельность нуклеотидного состава среди разных видов позвоночных. У человека *hFMO1–5* показывают различные тканеспецифичные паттерны экспрессии. Наряду с цитохромами P450 (CYP) FMO являются самой важной составляющей фазы I биотрансформации ксенобиотиков. FMO и CYP проявляют сходство по тканевому распределению, молекулярной массе, субстратной специфичности. В отличие от CYP FMO не требуют присутствия субстрата для начала каталитического цикла. Важным отличием FMO от CYP является то, что первый не подвержен ни быстрой индукции, ни ингибированию. Несмотря на перекрывающуюся субстратную специфичность, в результате катализа FMO и CYP образуются различные метаболиты, отличающиеся по токсикологическим и фармакологическим свойствам. В отличие от CYP FMO обычно не индуцируются и не ингибируются ксенобиотиками, что позволяет предположить, что лекарственные средства, метаболизируемые преимущественно FMO, будут менее подвержены лекарственным взаимодействиям.

**Ключевые слова:** флавиномонооксигеназы; система биотрансформации ксенобиотиков; цитохромы P450.

## L. P. Smirnov. 5. FLAVIN-CONTAINING MONOOXYGENASES (FMO) ARE PHASE I ENZYMES OF XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION. NOMENCLATURE, STRUCTURE, MOLECULAR DIVERSITY, FUNCTION, PARTICIPATION IN THE FUNCTIONING OF THE BIOTRANSFORMATION SYSTEM. A COMPARISON WITH CYTOCHROMES P450 (A REVIEW)

FMO (EC 1.14.13.8) is an ancient and conservative group of enzymes present in all living organisms without exception. FMO is a microsomal flavoprotein that oxidizes molecules containing nucleophilic heteroatoms of nitrogen, sulfur, phosphorus, or selenium. FMO do not oxidize physiologically essential nucleophiles. The prosthetic group of FMO is FAD. In addition, the enzyme uses NADPH and molecular oxygen, most often catalyzing the formation of monooxygenated substrates, NADP<sup>+</sup>, and water as by-products of the reaction. In humans, the *FMO1–4* genes are closely located on the chromosome, which in mammals was the result of an earlier gene duplication, and are localized on the chromosome 1q24.3, while *FMO5* is located on the chromosome 1q21.1. *FMO5* is the first enzyme that appeared in mammals, since *FMO5* genes feature a higher nucleotide composition variation among different vertebrate species. In humans, *hFMO1–5* show various tissue-specific expression patterns. Along with cytochromes P450 (CYP), FMOs are the most important component of phase I biotransformation of xenobiotics. FMO and CYP show similarities in tissue-specific distribution, molecular weight, and substrate specificity. Unlike CYP, FMOs do not require the presence of a substrate to start the catalytic cycle. An important difference between FMO and CYP is that the former is not subject to either rapid induction or inhibition. Despite the overlapping substrate specificity, the catalysis of FMO and CYP produces different metabolites with different toxicological and pharmacological properties. Unlike CYP, FMOs are not usually induced or inhibited by xenobiotics, which suggests that drugs that are primarily metabolized by FMOs will be less sensitive to drug interactions.

**Key words:** flavin-containing monooxygenase (FMO); biotransformation of xenobiotics; cytochromes P450.

### Введение

Флавиносодержащие монооксигеназы (FMO) катализируют множество реакций оксигенации хемо-, регио- и энантиоселективного типа [Huijbers et al., 2014]. Они вовлечены в ключевые биологические процессы, такие как катаболизм, детоксикация, биосинтез, световое излучение и др. На основании строения и функции FMO можно распределить по восьми группам. Ферменты групп А и В используют NAD(P)H в качестве внешнего донора электронов. Группы С–F – двухбелковые системы, состоящие из монооксигеназ и флавинредуктаз. Группы G и H представляют собой монооксигеназы, которые восстанавливают флавин путем окисления субстрата [Huijbers et al., 2014]. В состав группы В включены три класса ферментов – N-гидроксигирующие монооксигеназы (NMO), монооксигеназы Байера – Виллигера (BVMO) и собственно FMO [Eswaramoorthy et al., 2006]. Сигнальные последовательности FXGXXXHXXXW (P\_D) у BVMO и FXGXXXHXXX (Y\_F) у FMO позволяют отличить одну группу ферментов от другой [Fraaije et al., 2002].

FMO (EC 1.14.13.8) – древняя и консервативная группа ферментов, присутствующая во всех

без исключения живых организмах [Mascotti et al., 2015, 2016]. FMO – NADPH-зависимый микросомальный флавопротеин, который окисляет молекулы, содержащие нуклеофильные гетероатомы азота, серы, фосфора или селена [Cashman, 1995]. У эукариот энзимы встроены в мембраны эндоплазматического ретикула (ЭР) и катализируют окислительный метаболизм широкого спектра структурно разнообразных липофильных химических соединений, включающих лекарственные препараты, пищевые компоненты и пестициды [Krueger, Williams, 2005; Cashman, Zhang, 2006]. Наряду с цитохромами P450 (CYP) FMO являются самой важной составляющей фазы I биотрансформации ксенобиотиков. Эти ферменты осуществляют катализ 5 % из 860 известных ксенобиотиков. На FMO приходится около 2 % из 4000 реакций оксидоредукции, стимулируемых этими ксенобиотиками [Rendic, Guengerich, 2015].

В настоящем обзоре будут рассмотрены вопросы систематики, структуры и функции, молекулярного разнообразия FMO, их участия в функционировании системы биотрансформации у эукариотических организмов.

## Систематика и геномная организация FMO

Систематика FMO основана на номенклатуре CYP, в которой замещены тривиальные названия, использовавшиеся в прошлом, на данные изучения первичной структуры [Hines et al., 1994; Lawton et al., 1994]. Сейчас известно пять форм FMO (FMO1–5). Эти ферменты демонстрируют 50–58 % идентичности по аминокислотной последовательности между видами [Cashman, 1995]. В настоящее время обозначение FMO используется для белка, а гены обозначаются курсивом – *FMO*. В семействе генов *FMO* проявляется сходная с *CYP* интрон/экзон организация, но в отличие от *CYP* самый близкий общий предшественник всех плацентарных млекопитающих имел кластер, содержащий *FMO1–4* и отдельный локус *FMO5*, которые возникли из дубликации анцестрального гена примерно 210–275 миллионов лет назад [Hernandez et al., 2004]. *FMO1 – FMO4* расположены на хромосоме 1, в районе q24.3. *FMO5* находится на ~26 Mb ближе к центромеру, в районе 1q21.1 [Hernandez et al., 2004].

Считается, что *FMO5* – первый фермент, который появился у млекопитающих, поскольку генам *FMO5* свойственна более высокая вариабельность нуклеотидного состава среди разных видов позвоночных. Другие четыре FMO сформировали политомию, в которой FMO 1 и 3 наиболее тесно связаны между собой. Филогенетический анализ показывает, что эволюция этих ферментов началась позднее, чем *FMO5* [Zhang, Cashman, 2006].

Шесть *FMO*-генов, обнаруженные на другом конце хромосомы 1q24.3, у человека являются псевдогенами [Hines et al., 2002]. Кроме того, псевдогены (*FMO7–11P*) обнаружены на хромосоме 1q24.2 [Hernandez et al., 2004]. *FMO*-гены человека (*hFMO1–5*) проявляют ортологию «один-в-один» с *FMO1–5* других видов млекопитающих [Phillips et al., 1995].

## Структура FMO

Простетической группой FMO является FAD. Для реализации своих функций FMO требуется NADPH в качестве кофактора. Полипептидная цепь FMO состоит из 532–558 аминокислотных остатков (ао) и содержит высококонсервативные FAD- и NADPH-связывающие домены [Atta-Asafo-Adjei et al., 1993; Lawton, Philpot, 1993]. Молекулы FMO всех семейств имеют консервативные последовательности – в FAD-связывающем домене это GAGPSG, в NADPH-связывающем домене – GGASSA [Choi et al., 2003], а также специфичную для

всех FMO идентификационную последовательность FXGXXXHXXX/F, которая взаимодействует с флавиновой частью FAD, роль которой пока остается неизвестной [Eswaramoorthy et al., 2006]. Ферменты связаны с мембранами ЭР с помощью С-концевого трансмембранного  $\alpha$ -спирального участка.

Рентгеноструктурный анализ показал, что FMO состоит из двух структурных доменов. Ао 176–291 образуют небольшой домен, названный доменом-вкладышем (insertion domain) [Eswaramoorthy et al., 2006]. Остальная часть полипептидной цепи формирует большой одиночный домен. Домены соединены между собой сегментом, состоящим из 60 ао, который имеет конфигурацию случайного клубка с некоторыми незначительными элементами вторичной структуры и участвует в стабилизации молекулы фермента [Hao et al., 2009]. Между доменами существует небольшая впадина на поверхности большого домена. Консервативная нуклеотид-связывающая последовательность GAGPSG расположена в сердцевине большого домена и ограничивает впадину. FAD расположен в канале вдоль углубления и связан только с большим доменом. FAD-связывающий домен – это укладка Россмана (Rossman fold), мотив в третичной структуре белка, который связывается с аденозиндифосфатом FAD, что превращает FAD в единственный тип флавина как простетической группы для этой группы ферментов. Аденин нуклеотида осуществляет связь с мотивом GAGPSG посредством водородной связи. Атом N<sub>3</sub> аденина связан с атомом азота в основной цепи молекулы Arg-39, а основание – с гуанидиновой группой Arg-39. Фосфатная часть флавина соединяется с GAGPSG вместе с молекулой воды.

NADPH связан с мотивом GGASSA, расположенным внутри домена-вкладыша. Аденин кофактора взаимодействует с белком, а никотинамид – с флавиновой частью молекулы FAD. Простетическая группа сильнее связана с молекулой белка, чем кофактор [Eswaramoorthy et al., 2006].

## Особенности каталитического цикла фермента

Фундаментальная особенность строения активного центра FMO заключается в том, что аминокислотные остатки, которые окружают активный центр FMO, не являются нуклеофилами и препятствуют возможности инактивации фермента под действием электрофильных метаболитов [Cashman, 1995].

Каталитический цикл FMO хорошо изучен. Фермент использует NADPH и молекуляр-

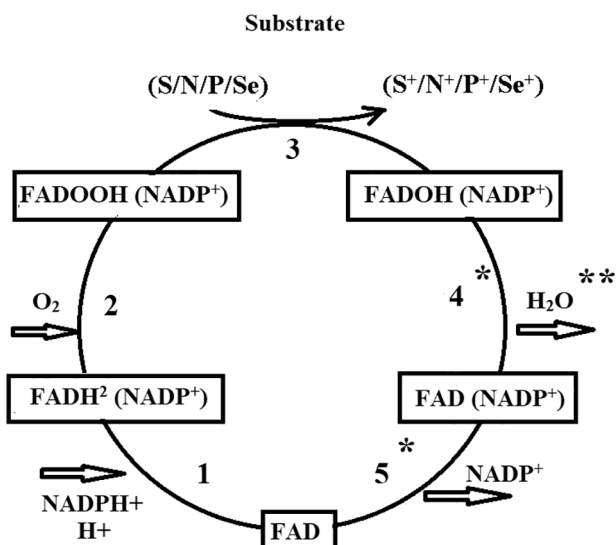


Рис. 1. Каталитический цикл FMO (окисление молекул, имеющих нуклеофильные гетероатомы S, N, P, Se).

\* Стадии цикла с ограниченной скоростью катализа. \*\* Стадия, при которой кроме  $H_2O$  могут образовываться  $H_2O_2$  и спорадически  $\cdot O_2^-$

Fig. 1. Catalytic cycle of FMO (oxidation of molecules with nucleophilic heteroatoms S, N, P, Se).

\* Stages of the cycle with a limited rate of catalysis. \*\* The stage at which, in addition to  $H_2O$ ,  $H_2O_2$  and sporadically  $\cdot O_2^-$  can be formed

ный кислород, чаще всего катализируя образование монооксигенированных субстратов,  $NADP^+$  и воды как побочных продуктов реакции [Krueger, Williams, 2005]. На первой стадии каталитического цикла  $NADPH$  производит двухэлектронное восстановление  $FAD$  в отсутствие субстрата ( $FADH_2 + NADP^+$ ) (рис. 1). Восстановленный флаavin быстро реагирует с молекулярным кислородом, образуя необычно стабильный С4а-гидропероксифлаvin ( $FAD-OOH$ ), и в этом состоянии, которое названо «звездным курком» (cockedgun), FMO может существовать до тех пор, пока рядом не окажется подходящий нуклеофил (стадия 2) [Krueger, Williams, 2005]. Стабильность  $FAD-OOH$  очень высока. При  $4^\circ C$  временной диапазон колеблется от минут до часов [Jones, Ballou, 1986].

Соединения, содержащие нуклеофильные гетероатомы, взаимодействуют с  $FAD-OOH$  и превращаются в оксиды, которые, обладая высоким уровнем полярности, теряют фармакологическую активность исходных молекул и легко экскретируются из клетки. Суть реакции заключается в том, что один атом молекулы кислорода переносится на субстрат (стадия 3), а второй формирует молекулу воды (стадия 4). Высвобождение  $H_2O$  или  $NADP^+$

(стадия 5) является лимитирующим фактором скорости реакции. *In vitro* их удаление из цикла происходит как в присутствии, так и в отсутствие субстрата и может сопровождаться (как побочный эффект) появлением  $H_2O_2$  и изредка супероксида ( $\cdot O_2^-$ ) [Siddens et al., 2014]. В отсутствие субстрата или в присутствии соединений, которые могут связываться с ферментом, но не могут быть гидроксированы, С4а-гидропероксифлаvin может реагировать с  $H_2O_2$ , образуя исходную форму  $FAD$  [Chenprakhon et al., 2019]

Существует ряд примеров, когда FMO окисляют атом S в серосодержащих соединениях, превращая их в высокореактивные молекулы, которые затем покидают зону реакции, перемещаются к близлежащему цитохрому P-450 (CYP) и инактивируют его гем [Decker et al., 1992].

### Особенности тканевой экспрессии FMO у млекопитающих

У человека *hFMO1-5* показывают различные тканеспецифичные паттерны экспрессии [Koukouritaki et al., 2002; Zhang, Cashman, 2006].

*hFMO1* доминирует в фетальной печени, а у взрослого человека не выявляется. Зэнг и Кэшман [Zhang, Cashman, 2006] показали, что мРНК *FMO1* детектируется главным образом в почках, где содержится в более значительных количествах по сравнению с другими тканями. Количество транскриптов *FMO1* в печени и тонком кишечнике плода было в 10–14 раз ниже, чем в почках. В легких этот показатель был на уровне 2,8 % от такового в почках. В мозге и печени взрослых людей количество транскриптов *FMO1* было меньше 1 % от уровня, выявленного в почках. В отличие от человека, в печени мышей мFMO1 является основным ферментом, а у кролика этот фермент синтезируется также в слизистой кишечника и носовых пазухах [Falls et al., 1995].

мРНК *hFMO2* детектируется в основном в легочной ткани в значительно больших количествах, чем в других тканях. Например, в почках выявлено в 7 раз меньше транскриптов *FMO2*, чем в легких. Уровень мРНК *hFMO2* в печени и тонком кишечнике не превышал 2 % от такового в легких, а в мозге и фетальной печени составил менее 1 % [Koukouritaki et al., 2002]. Экспрессия *FMO2* в печени человека очень низкая, фермент, вероятно, не принимает заметного участия в метаболизме большинства ксенобиотиков [Falls et al., 1995].

Максимальная концентрация *FMO3* характерна для печени взрослых людей. В легких,



почках и фетальной печени мРНК был сходным и колебался в диапазоне 2–4 %, а в тонком кишечнике и мозге был меньше 1 % от уровня мРНК в печени [Falls et al., 1995].

Обнаружено, что у мышей mFMO3 имеет выраженную гендерную специфику и более активно экспрессируется у самок.

Экспрессия FMO4 в печени человека очень низкая, и, вероятно, так же как и FMO2, FMO4 не принимает заметного участия в метаболизме большинства ксенобиотиков [Falls et al., 1995]. Тем не менее мРНК FMO4 детектируется в печени и почках. В фетальной печени, тонком кишечнике и легких уровень транскриптов не превысил 7–10 % от максимальных значений, а в мозге – 1 % [Zhang, Cashman, 2006].

Транскрипты мРНК FMO5 обнаружены во всех тканях, однако их наибольший уровень зарегистрирован в печени, а минимальный – в мозге (1 % от максимальных значений). FMO5 показывала достаточный уровень экспрессии в тонком кишечнике, почках и легких – более чем 50 % от общего количества FMO-транскриптов в печени человека [Koukouritaki et al., 2002; Zhang, Cashman, 2006].

### Субстратная специфичность

Хао и соавторы [Hao et al., 2009] полагают, что функциональное разнообразие FMO млекопитающих – это эволюционный ответ на появление новых ксенобиотиков в окружающей среде. FMO метаболизируют широкий спектр серо- и азотсодержащих молекул. Углерод, фосфор и селен также подвержены окислению, катализируемому FMO [Krueger, Williams, 2005]. Кроме того, показано окислительное декарбоксилирование [Mashiguchi et al., 2011], окислительное деметилирование [Gut, Conney, 1993] и образование дисульфидных связей [Suh et al., 1999].

FMO легко катализируют монокатионные амины или анионные серосодержащие молекулы, у которых заряд локализован на атоме серы, такие как тиоацетат, но введение в структуру молекулы второй заряженной группы блокирует катализ. Без всяких исключений FMO не катализируют окисление бианионов, бикатионов или биполярных ионов. Стоит обратить внимание на одно очень существенное обстоятельство – FMO не окисляют физиологически эссенциальные нуклеофилы [Krueger, Williams, 2005]. За исключением цистеамина, являющегося субстратом FMO, остальные эссенциальные нуклеофилы представляют собой бикатионы (полиамины), биполярные ионы (аминокислоты и пептиды) или молекулы, содержащие

одну или несколько групп анионов, расположенных дистально от нуклеофильного гетероатома (коэнзим А, биотин, тиаминпирофосфат и др.). Единственная FMO (FMO1 *Saccharomyces cerevisiae*) способна окислять свободный цистеин [Suh et al., 1996]. Следовательно, позиция и число ионных групп – главные факторы, определяющие способность фермента катализировать именно слабые нуклеофилы и не затрагивать эссенциальные молекулы. Этот же общий принцип (наличие заряженных групп) работает при поддержании уровня эссенциальных метаболитов внутри клетки, что исключает их доступ в каталитический центр FMO. Напротив, незаряженные ксенобиотики или находящиеся с ними в равновесии их заряженные формы легко проходят через клеточные мембраны и могут взаимодействовать с гидропероксифлавином. В дополнение к заряду стерические особенности могут исключить из катализа определенные типы слабых нуклеофилов [Krueger, Williams, 2005].

Селективность FMO по заряду – возможный механизм, с помощью которого ферменты выборочно взаимодействуют с ксенобиотиками, так как заряженные молекулы не могут легко проникнуть в клетки через плазматические мембраны [Krueger, Williams, 2005]. Классическими субстратами FMO являются такие ксенобиотики, как имипрамин, никотин, клозапин, тамоксифен и амфетамин. Окисление этих соединений повышает их растворимость и способствует последующей экскреции, но может иногда повышать токсичность молекул в результате активации [Henderson et al., 2004].

Физиологическими субстратами FMO являются триметиламин (ТМА), цистеамин, липоевая кислота [Poulsen, 1981; Suh et al., 1996; Mitchell, Smith, 2010].

Цистеамин окисляется по атому серы, превращаясь в дисульфид цистамина. Цистеамин участвует в регуляции различных гормонов. Он является мощным ингибитором соматостатина и оказывает влияние на циркуляцию гормона роста у свиней [McElwain et al., 1999]. Физиологическая роль S-оксигенации цистеамина с помощью FMO остается неизвестной. Гипотетически оксигенация цистеамина с помощью FMO может выступать в роли вспомогательного контроля тиол/дисульфидного редокс-статуса во многих метаболических путях [Ziegler et al., 1979]. С другой стороны, окисление цистеамина выполняет протекторную функцию, поскольку цистеамин уже в концентрации 39  $\mu\text{M}$  является токсичным для клетки, возможно, через трансформацию металлозависимого образования пероксида водорода [Jeitner, Lawrence,

2001]. Окислительное превращение с помощью FMO цистеамина в цистамин с последующим выведением его из клетки может представлять собой механизм детоксикации. Через этот процесс FMO может участвовать в контроле уровня  $H_2O_2$  в клетке и экспрессии генов, обеспечивающих регуляцию  $H_2O_2$ , сульфгидрил/дисульфидных соотношений и общего редокс-статуса [Khomenko et al., 2004].

Другим эндогенным субстратом для FMO является липоевая кислота, которая выступает в роли кофактора для  $\alpha$ -кетоглутарат- и пируватдегидрогеназ. FMO катализирует S-оксигенацию дисульфида липоевой кислоты и липоамида [Krueger, Williams, 2005]. Метаболиты подвергаются восстановлению по кольцу 1,2-дитиолана с последующим S-метилированием. Тем не менее возможная роль FMO в сульфоксидации метилсульфидов липоевой кислоты остается неизвестной [Schupke et al., 2001].

Для разных FMO характерна определенная субстратная специфичность, которая зависит от размеров «щели» или канала в активном центре, которые могут ограничивать доступ к  $4\alpha$ -гидропероксифлавинолу [Ziegler, 2002]. FMO1 имеет широчайшую субстратную специфичность относительно других FMO. FMO2, в отличие от FMO1, не окисляет имипрамин (трициклический антидепрессант) и хлорпромазин (нейролептик). FMO1 и FMO2 различались по специфике взаимодействия с 10-(*N,N*-диметиламиноалкил)-2-(трифлуорометил)-фенотиазинами, варьирующими по длине боковой цепи от 2 до 7 углеродных атомов, и дериватами тиомочевины [Krueger, Williams, 2005]. У FMO1, за исключением деривата с двухуглеродной боковой цепью, активность в отношении которого была максимальной, длина боковой цепи четвертичного амина не имела отличий в кинетике при N-оксигенации. FMO2 не метаболизировала субстрат с длиной боковой цепи до 5 атомов углерода. При увеличении числа атомов углерода в боковой цепи от 5 до 7 активность FMO2 приближалась к таковой FMO1. Кинетика S-оксигенирования FMO1 не зависела от размера субстрата, в то время как FMO2 не катализовала S-оксигенацию 1,3-дифенилтиомочевины, но была активна относительно фенилтиомочевины и нафтилтиомочевины [Krueger, Williams, 2005].

В печени человека FMO3 доминирует в FMO-зависимом метаболизме различных химических соединений [Koukouritaki et al., 2002]. Этот фермент катализирует окисление субстратов, которые по размерам меньше катализируемых FMO1 [Cashman, Zhang, 2006]. Классическим

субстратом для фермента является триметиламин (ТМА). Известно до 40 мутаций гена FMO3, которые приводят к потере энзимом способности к окислению ТМА до ТМА-оксида, что приводит к заболеванию, называемому триметиламинурией (синдром рыбного запаха) [Mitchell, Smith, 2010]. Такие биогенные амины, как тирамин и фенетиламин, метаболизируются до N-оксида через вторичную стереоселективную оксигенацию до транс-оксима [Lin, Cashman, 1997]. FMO3 метаболизирует широкий круг лекарственных препаратов, содержащих нуклеофильные атомы азота и серы (табл. 1).

О субстратах для FMO4 практически ничего не известно, так как фермент экспрессируется в незначительном количестве и, вероятно, не играет заметной роли в метаболизме [Phillips, Shephard, 2017]

Как показано выше, ген FMO5 расположен на хромосоме отдельно от генов FMO1–4. Обнаружено, что фермент не окисляет типичные субстраты FMO (метимазол, ранитидин, циметидин) [Overby et al., 1995; Cherrington et al., 1998]. hFMO5 не метаболизирует триметиламин, фосфорсодержащие триметил- и трифенилфосфины. Незначительная активность показана в отношении слабых серосодержащих нуклеофилов, таких как S-метил-эзонаримод и фентион [Ohmi et al., 2003; Leoni et al., 2008]. Показано, что FMO5 катализирует S-оксигенацию тиоэфиров карбоновых кислот, что является в какой-то мере уникальной субстратной активностью FMO5 [Ohmi et al., 2003].

По субстратным предпочтениям FMO5 проявила себя как монооксигеназа Байера – Виллигера, катализирующая окисление алифатических и циклических кетонов в соответствующие эфиры и лактоны. Отсутствовала активность в отношении урацила, *N,N'*-диметилпропиленмочевины,  $\delta$ -валеролактама, 2-пирролидинона, 4-хлор- $\alpha$ -метилстирена, бензилового спирта, коричневого спирта, трансанетолла [Fiorentini et al., 2016].

### **Участие FMO в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков (фаза I). Отличие от цитохромов P450 (CYP)**

Большое число ферментов используют молекулярный кислород при окислении органических субстратов. Для осуществления такой реакции ферменту необходимо активировать молекулярный кислород. В создании молекул, переносащих молекулярный кислород, часто используются металлы с переходной валентностью, связанные с органическим кофактором. Например, в каталитическом цикле CYP проис-

Таблица 1. Лекарственные средства, метаболизируемые FMO3 [данные из: Motika et al., 2007]

Table 1. Drugs metabolized by FMO3 [Data from Motika et al., 2007]

Препарат Drug	Фармакологический эффект Pharmacological effect
N-содержащие соединения N-containing compounds	
Амфетамин Amphetamine	Психостимулятор при расстройствах внимания и нарколепсии A stimulant to treat ADHD and narcolepsy
Бензидамин Benzidamine	Обезболивающий препарат и локальный анестетик An analgesic and local anaesthetic
Клозапин Clozapine	Атипичный антипсихотический препарат. Также является субстратом для CYP1A2 и CYP3A4 An atypical antipsychotic, also metabolized by CYP1A2 and CYP3A4
Дапсон Dapsone	Лечение проказы Treatment of Mycobacterium leprae infections
Итоприд Itopride	Прокинетики, используемый при гастроэзофагеальном рефлюксе A prokinetic agent used against gastro-oesophageal reflux disease
Метамфетамин Methamphetamine	Психостимулянт A psycho-stimulant drug
Олопатадин Olopatadine	Антигистаминный препарат и стабилизатор тучных клеток. Также метаболизируется CYP3A4 An antihistamine and mast cell stabilizer, also metabolized by CYP3A4 and 1
Ранитидин Ranitidine	Противоязвенный препарат An anti-ulcer drug
Сульфаметоксазол Sulfamethoxazole	Сульфаниламид, используется при лечении инфекций мочевого канала A sulfonamide antibiotic, used to treat urinary tract infections
Тамоксифен Tamoxifen	Терапия рака молочной железы Used in breast cancer therapy
S-содержащие соединения S-containing compounds	
Альбендазол Albendazole	Антигельминтик, также метаболизируется CYP An antihelmintic drug, also S-oxygenated by CYP
Циметидин Cimetidine	Антагонист H2-рецептора, лечение изжоги и язвы H2-receptor antagonist that is used in the treatment of heartburn and peptic ulcers
Этионамид Ethionamide	Антибиотик второго поколения, используется при лечении туберкулеза, также метаболизируется hFMO2 Second-line antibiotics for the treatment of tuberculosis, also S-oxygenated by hFMO2
Метимазол Methimazole	Антигипотиреоидный препарат, метаболизируется в форме S-оксида An antithyroid drug, metabolized by FMO3 to form its S-oxide
Сулиндак Sulindac	Используется при наследственном полипозе Used to treat familial adenomatous polyposis
Тазаротеновая кислота Tazarotenic acid	Ацетиленовый ретиноид, используемый при псориазе и акне. Инактивируется через образование сульфоксида. Также является субстратом для CYP2C8 An acetylenic retinoid used in the treatment of psoriasis and acne. Inactivated to its sulfoxide metabolite by CYP2C8

ходит изменение валентности иона Fe, расположенного в порфириновом кольце. У человека выявлено 57 генов и более 59 псевдогенов системы цитохрома P450. Они подразделяются на 18 семейств и 43 подсемейства. Из них только три семейства принимают участие в функционировании фазы I биотрансформации ксенобиотиков (табл. 2). Функциональные особенности этих семейств рассмотрены ранее [Смирнов и др., 2015].

Флавинозависимые монооксигеназы используют органический кофактор без металлической компоненты. Присоединение кислорода происходит в тот момент, когда кофактор нахо-

дится в восстановленной форме, что дает ему возможность использовать молекулярный кислород как субстрат [Massey, 1994]. Различия в каталитических циклах CYP и FMO в сжатой форме представлены на рис. 2.

FMO, так же как и CYP, можно рассматривать как следствие «эволюционной войны между животными и растениями», поэтому обе монооксигеназы способны окислять тысячи растительных алкалоидов и других природных продуктов, а также тысячи синтетических препаратов [Krueger, Williams, 2005]. FMO и CYP проявляют сходство по тканевому распределению, молекулярной массе, субстратной специфичности.

Таблица 2. Семейства CYP и FMO, участвующие в функционировании системы биотрансформации

Table 2. CYP and FMO families involved in the functioning of the xenobiotic biotransformation system

Семейство Family	Функции Function	Состав Composition	Названия Name
<b>CYP1</b>	Метаболизм ксенобиотиков и стероидов Metabolism of xenobiotics and steroids	3 подсемейства, 3 гена, 1 псевдоген 3 subfamilies, 3 genes, 1 pseudogene	CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1
<b>CYP2</b>	«	13 подсемейств, 16 генов, 16 псевдогенов 13 subfamilies, 16 genes, 16 pseudogenes	CYP2A6, CYP2A7, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1
<b>CYP3</b>	«	1 подсемейство, 4 гена, 2 псевдогена 1 subfamily, 4 genes, 2 pseudogenes	CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43
<b>FMO</b>	«	1 семейство, 5 генов, 10 псевдогенов 1 family, 5 genes, 10 pseudogenes	FMO 1–4, FMO5

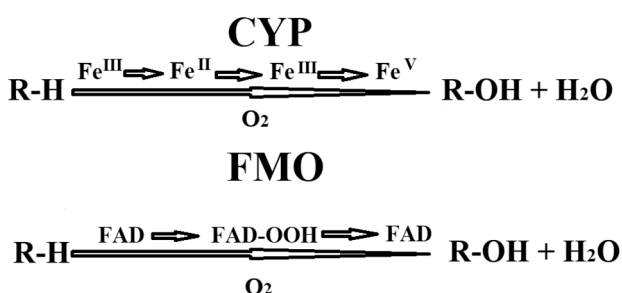


Рис. 2. Схема окисления субстратов (R-H) цитохромами P-450 (CYP) и флавиномоноксигеназами (FMO)  
Fig. 2. Scheme of substrate oxygenation (R-H) by cytochromes P-450 (CYP) and flavin-containing monooxygenase (FMO)

В печени взрослого человека количество FMO3 достигает значений до 65 % от количества, обычно наблюдаемого для CYP3A4 [Koukouritaki et al., 2002]. Возрастные особенности экспрессии FMO1 и FMO3 в печени человека частично сходны с таковыми двух изоформ семейства CYP3A при переключении фетальных изоформ (CYP3A7 и FMO1) на взрослые (CYP3A4 и FMO3) [Zane et al., 2018]. Несмотря на то что «временной переключатель» экспрессии ферментов группы CYP3A показывает сходство с таковым FMO, существуют важные отличия. Во-первых, в отличие от CYP3A4 FMO3 не детектируется в фетальной печени. Во-вторых, депрессия CYP3A7 и активация CYP3A4 взаимосвязаны и общий уровень экспрессии CYP3A остается постоянным [Lacroix et al., 1997].

Семейство FMO гораздо меньше по численности (как отмечено выше, всего пять семейств с одним ферментом), чем CYP. В отличие от CYP ксенобиотики не индуцируют экспрессию FMO.

Исключением является FMO5, которая индуцируется в гепатоцитах рифампицином, в клетках HerG2 гиперфоринном, в клетках рака молочной железы синтетическим прогестином R5020 [Phillips, Shephard, 2017].

В отличие от CYP FMO, как показано выше, метаболизируют ряд эндогенных субстратов. FMO и CYP часто используют одни и те же субстраты, но в результате реакций образуются разные метаболиты, отличающиеся по токсикологическим и фармакологическим свойствам [Hao et al., 2009]. CYP, как и FMO, могут окислять гетероатомы азота и серы, они чаще катализируют гидроксирование, деалкилирование или эпоксидацию углерода [Guengerich, 2001]. Если CYP обрабатывает большую часть ксенобиотиков со скоростью 1–20 молекул в минуту, то FMO – 30–60. CYP могут метаболизировать субстрат до молекул, содержащих различные радикалы и другие электрофилы, в то время как FMO продуцируют не содержащие радикалы соединения, которые обычно полярны и легко экскретируются из клетки. Ряд соединений в процессе биоактивации при участии CYP превращаются в высокотоксичные производные, такие как эпоксиды, оксоны, первичные арил N-гидроксиамины. В частности, цитохромы семейства CYP1 метаболизируют бензпирен до бензпирен-7,8-эпоксида, который окисляется эпоксидгидролазой до бензпирен-7,8-дигидродиола. Далее CYP1 метаболизируют превращение этого интермедиата в «суперканцероген» – бензпирен-7,8-дигидродиол-9,10-эпоксид [Смирнов и др., 2015]. Процесс получил название «биологическая активация канцерогенов» [Beresford, 1993]. Окисление при участии FMO приводит к образова-

нию нетоксичных молекул [Koukouritaki et al., 2002].

Механизмы катализа FMO и CYP имеют существенные различия. Цитохромы P450 требуют присутствия субстрата для начала каталитического цикла, а FMO нет [Krueger, Williams, 2005]. CYP окисляет молекулы с помощью последовательного одноэлектронного процесса, и по этой причине в результате катализа могут возникать высокореактивные, потенциально токсичные продукты, способные инактивировать или ингибировать саму молекулу CYP. Напротив, FMO окисляют субстраты с нуклеофильным гетероатомом через, как отмечено выше, двухэлектронный процесс, который приводит к образованию полярных, легко экскретируемых продуктов биотрансформации.

В отличие от FMO, которые акцептируют электроны непосредственно от NADPH, CYP получают их от NADPH через дополнительный фермент NADPH-CYP-редуктазу и активируют кислород только после связывания с окисляемым субстратом. В случае FMO образуется стабильный 4 $\alpha$ -гидропероксифлавин (FAD-OOH), а у CYP формируется относительно нестабильный комплекс Fe-O<sub>2</sub>. Для FMO предпочтительны нуклеофильные соединения, в то время как CYP акцептируют наименее нуклеофильные. CYP окисляют молекулы через ряд электрофильных реакций, сопровождающихся созданием радикальных молекул, FMO окисляют соединения через реакции нуклеофильного присоединения [Cashman, 2004; Cashman, Zhang, 2006]. В ряде случаев продукты реакций, катализируемых FMO, даже если они относительно реактивны, не ингибируют фермент, но могут ингибировать или инактивировать находящиеся рядом белки, включая CYP [Kedderis, Rickert, 1985; Cerny, Hanzlik, 2005].

Инкубирование микросомальной фракции при pH 8,4–9,4 приводило к прекращению активности CYP (pH оптимум 7,4) и не воздействовало на активность FMO (pH оптимум 9–10). Другим отличием является более низкая термостабильность FMO. При отсутствии в среде NADPH подавление активности происходило при 50 °C, тогда как CYP сохраняли активность на уровне 85 % от начального [Cashman, 2005].

Детергенты могут подавлять функциональную активность CYP и не оказывать влияния на FMO. Например, относительно большие количества Тритона X100 применяются при работе с FMO3 без потери последней функциональной активности [Cashman, 2008].

Несмотря на то что список субстратов FMO меньше, чем CYP, они тем не менее играют чрезвычайно важную роль в метаболизме

ксенобиотиков в фазе I биотрансформации [Hines et al., 1994]. Например, в метаболизме таких препаратов, как бензидамин, итоприд и арбидол, принимает участие FMO, а не CYP [Lang et al., 1998]. Некоторые соединения являются субстратами для обоих ферментов (дифенилгидрамин и ципразидон) [Lang, Rettie, 2000]. Такой метаболит FMO, как ингибитор Src-киназы TG100435, также является субстратом и для CYP [Kousba et al., 2007].

Важным отличием FMO от CYP является то, что первый не подвержен ни быстрой индукции, ни ингибированию. Предложена гипотеза, что в обычных условиях FMO существуют в полностью индуцированном состоянии из-за постоянного воздействия на животных огромного количества субстанций, ежедневно получаемых с пищей [Mitchell, 2008].

## Заключение

Флавиномоноксигеназы – ферменты, использующие FAD в качестве кофермента и присутствующие у всех без исключения представителей животного мира. Сейчас известно пять форм FMO (FMO1–5). Общий предшественник всех млекопитающих имел кластер, содержащий *FMO1–4* и отдельный локус *FMO5*, которые возникли из дубликации анцестрального гена примерно 210–275 млн лет назад. FMO метаболизируют широкий спектр молекул, содержащих нуклеофильные атомы S, N, P, Se.

FMO вместе с CYP являются неотъемлемой частью фазы I системы биотрансформации ксенобиотиков.

FMO и CYP часто окисляют одни и те же субстраты. Тем не менее окислительные циклы ферментов имеют существенные отличия. FMO окисляют субстраты с нуклеофильным гетероатомом через двухэлектронный процесс, который приводит к образованию полярных, легко экскретируемых нетоксичных продуктов. В каталитическом цикле FMO образуется стабильное соединение 4 $\alpha$ -гидропероксифлавин (FAD-OOH), не требующее наличия субстрата. CYP окисляет субстрат через образование нестабильного комплекса кислорода с ионом железа переменной валентности (Fe-O<sub>2</sub>) и активируется только в присутствии субстрата. Неприятной особенностью метаболического цикла CYP может быть превращение некоторых ксенобиотиков, попадающих в организм, в активные метаболиты – стимуляторы канцерогенеза.

Изучение особенностей функционирования FMO, помимо фундаментальной направленности, имеет выраженный медицинский аспект, связанный с возникновением ряда заболева-

ний из-за генетического полиморфизма этой группы белков. Полученный к настоящему времени массив данных указывает на важную роль FMO в функционировании системы биотрансформации эндогенных соединений и ксенобиотиков. Однако ряд вопросов, связанных с механизмами субстратной специфики, особенно с взаимодействиями с другими семействами ферментов I фазы биотрансформации остается нерешенным. Поэтому необходимость продолжения исследований этой группы монооксигеназ не вызывает сомнений.

*Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (№ 0218-2019-0076 (№ г. р. АААА-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. Этоксирезорруфин О-деэтилаза – систематическая принадлежность и функциональные особенности как фермента фазы I биотрансформации ксенобиотиков (обзор) // Ученые записки ПетрГУ. 2015. № 4. С. 18–23.

Atta-Asafo-Adjei E., Lawton M. P., Philpot R. M. Cloning, sequencing, distribution, and expression in *Escherichia coli* of flavin-containing monooxygenase1C1. Evidence for a third gene subfamily in rabbits // J. Biol. Chem. 1993. Vol. 268. P. 9681–9689.

Beresford A. P. “CYP1A1: friend or foe” // Drug. Metab. Rev. 1993. Vol. 25. P. 503–517. doi: 10.3109/03602539308993984

Cashman J. R. Structural and catalytic properties of the mammalian flavin-containing monooxygenase // Chem. Res. Toxicol. 1995. Vol. 8(2). P. 166–181. doi: 10.1021/tx00044a001

Cashman J. R. The implications of polymorphisms in mammalian flavin-containing monooxygenases in drug discovery and development // Drug Discov. Today. 2004. Vol. 9(13). P. 574–581. doi: 10.1016/S1359-6446(04)03136-8

Cashman J. R. Some distinctions between flavin-containing and cytochrome P450 monooxygenases // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. Vol. 338. P. 599–604. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.08.009

Cashman J. R. Role of flavin-containing monooxygenase in drug development // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2008. Vol. 4(12). P. 1507–1521. doi: 10.1517/17425250802522188

Cashman J. R., Zhang J. Human flavin-containing monooxygenases // Annu Rev. Pharmacol Toxicol. 2006. Vol. 46. P. 65–100. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141043

Cerny M. A., Hanzlik R. P. Cyclopropylamine inactivation of cytochromes P450: role of metabolic intermediate complexes // Arch. Biochem. Biophys. 2005. Vol. 436. P. 265–275. doi: 10.1016/j.abb.2005.02.020

Chenprakhon P., Wongnate T., Chaipen P. Monooxygenation of aromatic compounds by flavin-dependent monooxygenases // Protein Sci. 2019. Vol. 28(1). P. 8–29. doi: 10.1002/pro.3525

Cherrington N. J., Cao Y., Cherrington J. W., Rose R. L., Hodgson E. Physiological factors affecting protein expression of flavin-containing monooxygenases 1,3, and 5 // Xenobiotica. 1998. Vol. 28. P. 673–682. doi: 10.1080/004982598239254

Choi H. S., Kim J. K., Vho E. H., Kim Y. C., Kim J. I., Kim S. W. A novel flavin-containing monooxygenase from *Methylophaga* sp strain SK1 and its indigo synthesis in *Escherichia coli* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol. 306. P. 930–936. doi: 10.1016/s0006-291x(03)01087-8

Decker C. J., Doerge D. R., Cashman J. R. Metabolism of benzimidazoline-2-thiones by rat hepatic microsomes and hog liver flavin-containing monooxygenase // Chem. Res. Toxicol. 1992. Vol. 5. P. 726–733. doi: 10.1021/tx00029a021

Eswaramoorthy S., Bonanno J. B., Burley S. K., Swaminathan S. Mechanism of action of a flavin-containing monooxygenase // PNAS. 2006. Vol. 103(26). P. 9832–9837. doi: 10.1073/pnas.0602398103

Falls J. G., Blake B. L., Cao Y., Levi P. E., Hodgson E. Gender differences in hepatic expression of flavin-containing monooxygenase isoforms (FMO1, FMO3, and FMO5) in mice // J. Biochem. Toxicol. 1995. Vol. 10. P. 171–177. doi: 10.1002/jbt.2570100308

Fiorentini F., Geier M., Binda C., Winkler M., Faber K., Hall M., Mattevi A. Biocatalytic characterization of human FMO5: Unearthing Baeyer–Villiger reactions in humans // ACS Chem. Biol. 2016. Vol. 11(4). P. 1039–1048. doi: 10.1021/acschembio.5b01016

Fraaije M. W., Kamerbeek N. M., van-Berkel W. J. J., Janssen D. B. Identification of a Baeyer–Villiger monooxygenase sequence motif // FEBS Lett. 2002. Vol. 518. P. 43–47. doi: 10.1016/s0014-5793(02)02623-6

Guengerich F. P. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity // Chem. Res. Toxicol. 2001. Vol. 14. P. 611–650. doi: 10.1021/tx0002583

Gut I., Conney A. H. Trimethylamine *N*-oxygenation and *N*-demethylation in rat liver microsomes // Biochem. Pharmacol. 1993. Vol. 46. P. 239–244. doi: 10.1016/0006-2952(93)90409-p

Hao D. C., Chen S. L., Mu J., Xiao P. G. Molecular phylogeny, long-term evolution, and functional divergence of flavin-containing monooxygenases // Genetica. 2009. Vol. 137. P. 173–187. doi: 10.1007/s10709-009-9382-y

Henderson M. C., Krueger S. K., Stevens J. F., Williams D. E. Human flavin-containing monooxygenase form 2 *S*-oxygenation: sulfenic acid formation from thioureas and oxidation of glutathione // Chem. Res. Toxicol. 2004. Vol. 17. P. 633–640. doi: 10.1021/tx034253s

Hernandez D., Janmohamed A., Chandan P., Phillips I. R., Shephard E. A. Organization and evolution of the flavin-containing monooxygenase genes of human

and mouse: identification of novel gene and pseudogene clusters // *Pharmacogenetics*. 2004. Vol. 14(2). P. 117–130. doi: 10.1097/00008571-200402000-00006

Hines R. N., Cashman J. R., Philpot R. M., Williams D. E., Ziegler D. M. The mammalian flavin-containing monooxygenases: molecular characterization and regulation of expression // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. Vol. 125. P. 1–6. doi: 10.1006/taap.1994.1042

Hines R. N., Hopp K. A., Franco J., Saeian K., Begun F. P. Alternative processing of the human FMO6 gene renders transcripts incapable of encoding a functional flavin-containing monooxygenase // *Mol. Pharmacol.* 2002. Vol. 62. P. 320–325. doi: 10.1124/mol.62.2.320

Huijbers M. M. E., Montersino S., Westphal A. H., Tischler D., Van Berkel W. J. H. Flavin dependent monooxygenases // *Arch. Biochem. Biophys.* 2014. Vol. 544. P. 2–17. doi: 10.1016/j.abb.2013.12.005

Jeitner T. M., Lawrence D. A. Mechanisms for the cytotoxicity of cysteamine // *Toxicol. Sci.* 2001. Vol. 63. P. 57–64. doi: 10.1093/toxsci/63.1.57

Jones K. C., Ballou D. P. Reactions of the 4a-hydroperoxide of liver microsomal flavin-containing monooxygenase with nucleophilic and electrophilic substrates // *J. Biol. Chem.* 1986. Vol. 261. P. 2553–2559.

Kedderis G. L., Rickert D. E. Loss of rat liver microsomal cytochrome P-450 during methimazole metabolism. Role of flavin-containing monooxygenase // *Drug Metab. Dispos.* 1985. Vol. 13. P. 58–61.

Khomenko T., Deng X., Sandor Z., Tarnawski A. S., Szabo S. Cysteamine alters redox state, HIF-1 $\alpha$ -transcriptional interactions and reduces duodenal mucosal oxygenation: novel insight into the mechanisms of duodenal ulceration // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 317. P. 121–127. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.03.017

Koukouritaki S. B., Simpson P., Yeung C. K., Rettie A. E., Hines R. N. Human hepatic flavin-containing monooxygenase 1 (FMO1) and 3 (FMO3) development expression // *Pediatric Res.* 2002. Vol. 51(2). P. 236–243. doi: 10.1203/00006450-200202000-00018

Kousba A., Soll R., Yee S., Martin M. Cyclic conversion of the novel Src kinase inhibitor [7-(2,6-dichloro-phenyl)-5-methyl-benzo[1,2,4]triazin-3-yl]-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-amine (TG100435) and its N-oxide metabolite by flavin-containing monooxygenases and cytochrome P450 reductase // *Drug Metab. Dispos.* 2007. Vol. 35(12). P. 2242–2251. doi: 10.1124/dmd.107.017384

Krueger S. K., Williams D. E. Mammalian flavin-containing monooxygenases: structure/function, genetic polymorphisms and role in drug metabolism // *Pharmacol. Ther.* 2005. Vol. 106. P. 357–387. doi: 10.1016/j.pharmthera.2005.01.001

Lacroix D., Sonnier M., Moncion A., Cheron G., Cresteil T. Expression of CYP3A in the human liver. Evidence that the shift between CYP3A7 and CYP3A4 occurs immediately after birth // *Eur. J. Biochem.* 1997. Vol. 247. P. 625–634. doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.00625.x

Lang D. H., Yeung C. K., Peter R. M., Ibarra C., Gasser R., Itagaki K., Philpot R. M., Rettie A. E. Isoform specificity of trimethylamine N-oxygenation by human flavin-containing monooxygenase (FMO) and P450

enzymes: selective catalysis by FMO3 // *Biochem. Pharmacol.* 1998. Vol. 56. P. 1005–1012. doi: 10.1016/s0006-2952(98)00218-4

Lang D. H., Rettie A. E. In vitro evaluation of potential in vivo probes for human flavin-containing monooxygenase (FMO): metabolism of benzydamine and caffeine by FMO and P450 isoforms // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000. Vol. 50. P. 311–314. doi: 10.1046/j.1365-2125.2000.00265.x

Lawton M. P., Philpot R. M. Functional characterization of flavin-containing monooxygenase 1B1 expressed in *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli* and analysis of proposed FAD and membrane-binding domains // *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 5728–5734.

Lawton M. P., Cashman J. R., Cresteil T., Dolphin C., Elfarra A., Hine R. N., Hodgson E., Kimura T., Ozols J., Phillips I., Philpot R. M., Poulsen L. L., Rettie A. E., Williams D. E., Ziegler D. M. A nomenclature for the mammalian flavin-containing monooxygenase gene family based on amino acid sequence identities // *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. Vol. 308. P. 254–257. doi: 10.1006/abbi.1994.1035

Leoni C., Buratti F. M., Testai E. The participation of human hepatic P450 isoforms, flavin-containing monooxygenases and aldehyde oxidase in the biotransformation of the insecticide fenthion // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008. Vol. 233. P. 343–352. doi: 10.1016/j.taap.2008.09.004

Lin J., Cashman J. R. Detoxication of tyramine by the flavin-containing monooxygenase: stereoselective formation of the trans oxime // *Chem. Res. Toxicol.* 1997. Vol. 10. P. 842–852. doi: 10.1021/tx970030o

Mascotti M. L., Lapadula W. J., Juri Ayub M. The origin and evolution of Baeyer – Villiger monooxygenases (BVMOs): an ancestral family of flavin monooxygenases // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10(7). e0132689. doi: 10.1371/journal.pone.0132689

Mascotti M. L., Juri Ayub M., Furnham N., Thornton J. M., Laskowski R. A. Chopping and changing: the evolution of the flavin dependent monooxygenases // *J. Mol. Biol.* 2016. Vol. 428. P. 3131–3146. doi: 10.1016/j.jmb.2016.07.003

Mashiguchi K., Tanaka K., Sakai T., Sugawara S., Kawaide H., Natsume M., Hanada A., Yaeno T., Shirasu K., Yao H., McSteen P., Zhao Y., Hayashi K., Kamiya Y., Kasahara H. The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011. Vol. 108. P. 18512–18517. doi: 10.1073/pnas.1108434108

Massey V. Activation of molecular oxygen by flavins and flavoproteins // *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269(36). P. 22459–22462.

McElwain K. V., Estienne M. J., Barb C. R. Effect of cysteamine hydrochloride on secretion of growth hormone in male swine // *Life Sci.* 1999. Vol. 64. P. 2233–2238. doi: 10.1016/s0024-3205(99)00183-6

Mitchell S. C. Flavin Mono-Oxygenase (FMO) – The ‘Other’ Oxidase // *Curr. Drug Metabol.* 2008. Vol. 9. P. 280–284. doi: 10.2174/138920008784220682

Mitchell S. C., Smith R. L. A physiological role for flavin-containing monooxygenase (FMO3) in humans // *Xenobiotica*. 2010. Vol. 40(5). P. 301–305. doi: 10.3109/00498251003702753

Motika M. S., Zhang J., Cashman J. R. Flavin-containing monooxygenase 3 and human disease // *Expert*

Opin. Drug Metab. Toxicol. 2007. Vol. 3(6). P. 831–845. doi: 10.1517/17425255.3.6.831

Ohmi N., Yoshida H., Endo H., Hasegawa M., Akimoto M., Higuchi S. S-oxidation of S-methyl-esonarimod by flavin-containing mono-oxygenases in human liver microsomes // *Xenobiotica*. 2003. Vol. 33. P. 1221–1231. doi: 10.1080/00498250310001624627

Overby L. H., Buckpitt A. R., Lawton M. P., Atta-Asafo-Adjei E., Schulze J., Philpot R. M. Characterization of flavin-containing monooxygenase 5 (FMO5) cloned from human and guinea pig: evidence that the unique catalytic properties of FMO5 are not confined to the rabbit ortholog // *Arch. Biochem. Biophys.* 1995. Vol. 317(1). P. 275–284. doi: 10.1006/abbi.1995.1163

Phillips I. R., Dolphin C. T., Clair P., Hadley M. R., Hut A. J., McCombie J. R. R., Smith R. L., Shephard E. A. The molecular biology of the flavin-containing monooxygenases of man // *Chem. Biol. Interact.* 1995. Vol. 96. P. 17–32. doi: 10.1016/0009-2797(94)03580-2

Phillips I. R., Shephard E. A. Drug metabolism by flavin-containing monooxygenases of human and mouse // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017. Vol. 13(2). P. 167–181. doi: 10.1080/17425255.2017.1239718

Poulsen L. L. Organic sulfur substrates for the microsomal flavin-containing monooxygenase // *Rev. Biochem. Toxicol.* 1981. Vol. 3. P. 33–49.

Rendic S., Guengerich F. P. Survey of human oxidoreductases and cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of xenobiotic and natural chemicals // *Chem. Res. Toxicol.* 2015. Vol. 28. P. 38–42. doi: 10.1021/tx500444e

Schupke H., Hempel R., Peter G., Hermann R., Wessel K., Engel J., Kronbach T. New metabolic pathways of  $\alpha$ -lipoic acid // *Drug Metab. Dispos.* 2001. Vol. 29. P. 855–862.

## References

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V. Etoksirezorufin O-deetilaza – sistematičeskaya pri-nadležnost' i funktsional'nye osobennosti kak fermenta fazy i biotransformatsii ksenobiotikov (obzor) [Ethoxyresorufin O-deethylase – systematic accessory and its functional features of phase I enzyme of xenobiotics biotransformation (a review)]. *Uchenye zapiski PetrGU* [Proceed. PetrSU]. 2015. No. 4. P. 18–23.

Atta-Asafo-Adjei E., Lawton M. P., Philpot R. M. Cloning, sequencing, distribution, and expression in *Escherichia coli* of flavin-containing monooxygenase 1C1. Evidence for a third gene subfamily in rabbits. *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 9681–9689.

Beresford A. P. “CYP1A1: friend or foe”. *Drug. Metab. Rev.* 1993. Vol. 25. P. 503–517. doi: 10.3109/03602539308993984

Cashman J. R. Structural and catalytic properties of the mammalian flavin-containing monooxygenase. *Chem. Res. Toxicol.* 1995. Vol. 8(2). P. 166–181. doi: 10.1021/tx00044a001

Cashman J. R. The implications of polymorphisms in mammalian flavin-containing monooxygenases in drug discovery and development. *Drug Discov. Today*. 2004. Vol. 9(13). P. 574–581. doi: 10.1016/S1359-6446(04)03136-8

Siddens L. K., Krueger S. K., Henderson M. C., Williams D. E. Mammalian flavin-containing monooxygenase (FMO) as a source of hydrogen peroxide // *Biochem. Pharmacol.* 2014. Vol. 89. P. 141–147. doi: 10.1016/j.bcp.2014.02.006

Suh J. K., Poulsen L. L., Ziegler D. M., Robertus J. D. Molecular cloning and kinetic characterization of a flavin-containing monooxygenase from *Saccharomyces cerevisiae* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1996. Vol. 336. P. 268–274. doi: 10.1006/abbi.1996.0557

Suh J. K., Poulsen L. L., Ziegler D. M., Robertus J. D. Yeast flavin-containing monooxygenase generates oxidizing equivalents that control protein folding in the endoplasmic reticulum // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. Vol. 96. P. 2687–2691. doi: 10.1073/pnas.96.6.2687

Zane N. R., Chen Y., Wang M. Z., Thakker D. R. Cytochrome P450 and flavin-containing monooxygenase families: age-dependent differences in expression and functional activity // *Pediatric Research*. 2018. Vol. 83. P. 527–535. doi: 10.1038/pr.2017.226

Zhang J., Cashman J. R. Quantitative analysis of FMO gene mRNA levels in human tissues // *Drug Metab. Dispos.* 2006. Vol. 34. P. 19–26. doi: 10.1124/dmd.105.006171

Ziegler D. M., Duffel M. W., Poulsen L. L. Studies on the nature and regulation of the cellular thio: disulphide potential // *Ciba Found Symp.* 1979. Vol. 72. P. 191–204. doi: 10.1002/9780470720554.ch12

Ziegler D. M. An overview of the mechanism, substrate specificities, and structure of FMOs // *Drug Metab. Rev.* 2002. Vol. 34. P. 503–511. doi: 10.1081/dmr-120005650

Поступила в редакцию 09.07.2020

Cashman J. R. Some distinctions between flavin-containing and cytochrome P450 monooxygenases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol. 338. P. 599–604. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.08.009

Cashman J. R. Role of flavin-containing monooxygenase in drug development. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2008. Vol. 4(12). P. 1507–1521. doi: 10.1517/17425250802522188

Cashman J. R., Zhang J. Human flavin-containing monooxygenases. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2006. Vol. 46. P. 65–100. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141043

Cerny M. A., Hanzlik R. P. Cyclopropylamine inactivation of cytochromes P450: role of metabolic intermediate complexes. *Arch. Biochem. Biophys.* 2005. Vol. 436. P. 265–275. doi: 10.1016/j.abb.2005.02.020

Chenprakhon P., Wongnate T., Chaiyen P. Monooxygenation of aromatic compounds by flavin-dependent monooxygenases. *Protein Sci.* 2019. Vol. 28(1). P. 8–29. doi: 10.1002/pro.3525

Cherrington N. J., Cao Y., Cherrington J. W., Rose R. L., Hodgson E. Physiological factors affecting protein expression of flavin-containing monooxygenases 1,3, and 5. *Xenobiotica*. 1998. Vol. 28. P. 673–682. doi: 10.1080/004982598239254



- Choi H. S., Kim J. K., Vho E. H., Kim Y. C., Kim J. I., Kim S. W. A novel flavin-containing monooxygenase from *Methylophaga* sp strain SK1 and its indigo synthesis in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 306. P. 930–936. doi: 10.1016/s0006-291x(03)01087-8
- Decker C. J., Doerge D. R., Cashman J. R. Metabolism of benzimidazole-2-thiones by rat hepatic microsomes and hog liver flavin-containing monooxygenase. *Chem. Res. Toxicol.* 1992. Vol. 5. P. 726–733. doi: 10.1021/tx00029a021
- Eswaramoorthy S., Bonanno J. B., Burley S. K., Swaminathan S. Mechanism of action of a flavin containing monooxygenase. *PNAS.* 2006. Vol. 103(26). P. 9832–9837. doi: 10.1073/pnas.0602398103
- Falls J. G., Blake B. L., Cao Y., Levi P. E., Hodgson E. Gender differences in hepatic expression of flavin-containing monooxygenase isoforms (FMO1, FMO3, and FMO5) in mice. *J. Biochem. Toxicol.* 1995. Vol. 10. P. 171–177. doi: 10.1002/jbt.2570100308
- Fiorentini F., Geier M., Binda C., Winkler M., Faber K., Hall M., Mattevi A. Biocatalytic characterization of human FMO5: Unearthing Baeyer–Villiger reactions in humans. *ACS Chem. Biol.* 2016. Vol. 11(4). P. 1039–1048. doi: 10.1021/acscchembio.5b01016
- Fraaije M. W., Kamerbeek N. M., van-Berkel W. J. J., Janssen D. B. Identification of a Baeyer–Villiger monooxygenase sequence motif. *FEBS Lett.* 2002. Vol. 518. P. 43–47. doi: 10.1016/s0014-5793(02)02623-6
- Guengerich F. P. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 2001. Vol. 14. P. 611–650. doi: 10.1021/tx0002583
- Gut I., Conney A. H. Trimethylamine *N*-oxygenation and *N*-demethylation in rat liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* 1993. Vol. 46. P. 239–244. doi: 10.1016/0006-2952(93)90409-p
- Hao D. C., Chen S. L., Mu J., Xiao P. G. Molecular phylogeny, long-term evolution, and functional divergence of flavin-containing monooxygenases. *Genetica.* 2009. Vol. 137. P. 173–187. doi: 10.1007/s10709-009-9382-y
- Henderson M. C., Krueger S. K., Stevens J. F., Williams D. E. Human flavin-containing monooxygenase form 2 *S*-oxygenation: sulfenic acid formation from thioureas and oxidation of glutathione. *Chem. Res. Toxicol.* 2004. Vol. 17. P. 633–640. doi: 10.1021/tx034253s
- Hernandez D., Janmohamed A., Chandan P., Phillips I. R., Shephard E. A. Organization and evolution of the flavin-containing monooxygenase genes of human and mouse: identification of novel gene and pseudogene clusters. *Pharmacogenetics.* 2004. Vol. 14(2). P. 117–130. doi: 10.1097/00008571-200402000-00006
- Hines R. N., Cashman J. R., Philpot R. M., Williams D. E., Ziegler D. M. The mammalian flavin-containing monooxygenases: molecular characterization and regulation of expression. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. Vol. 125. P. 1–6. doi: 10.1006/taap.1994.1042
- Hines R. N., Hopp K. A., Franco J., Saeian K., Begun F. P. Alternative processing of the human FMO6 gene renders transcripts incapable of encoding a functional flavin-containing monooxygenase. *Mol. Pharmacol.* 2002. Vol. 62. P. 320–325. doi: 10.1124/mol.62.2.320
- Huijbers M. M. E., Montersino S., Westphal A. H., Tischler D., Van Berkel W. J. H. Flavin dependent monooxygenases. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014. Vol. 544. P. 2–17. doi: 10.1016/j.abb.2013.12.005
- Jeitner T. M., Lawrence D. A. Mechanisms for the cytotoxicity of cysteamine. *Toxicol. Sci.* 2001. Vol. 63. P. 57–64. doi: 10.1093/toxsci/63.1.57
- Jones K. C., Ballou D. P. Reactions of the 4a-hydroperoxide of liver microsomal flavin-containing monooxygenase with nucleophilic and electrophilic substrates. *J. Biol. Chem.* 1986. Vol. 261. P. 2553–2559.
- Kedderis G. L., Rickert D. E. Loss of rat liver microsomal cytochrome P-450 during methimazole metabolism. Role of flavin-containing monooxygenase. *Drug Metab. Dispos.* 1985. Vol. 13. P. 58–61.
- Khomenko T., Deng X., Sandor Z., Tarnawski A. S., Szabo S. Cysteamine alters redox state, HIF-1 $\alpha$  transcriptional interactions and reduces duodenal mucosal oxygenation: novel insight into the mechanisms of duodenal ulceration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 317. P. 121–127. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.03.017
- Koukouritaki S. B., Simpson P., Yeung C. K., Rettie A. E., Hines R. N. Human hepatic flavin-containing monooxygenase 1 (FMO1) and 3 (FMO3) development expression. *Pediatric Res.* 2002. Vol. 51(2). P. 236–243. doi: 10.1203/00006450-200202000-00018
- Kousba A., Soll R., Yee S., Martin M. Cyclic conversion of the novel Src kinase inhibitor [7-(2,6-dichloro-phenyl)-5-methyl-benzol[1,2,4]triazin-3-yl]-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-amine (TG100435) and its *N*-oxide metabolite by flavin-containing monooxygenases and cytochrome P450 reductase. *Drug Metab. Dispos.* 2007. Vol. 35(12). P. 2242–2251. doi: 10.1124/dmd.107.017384
- Krueger S. K., Williams D. E. Mammalian flavin-containing monooxygenases: structure/function, genetic polymorphisms and role in drug metabolism. *Pharmacol. Ther.* 2005. Vol. 106. P. 357–387. doi: 10.1016/j.pharmthera.2005.01.001
- Lacroix D., Sonnier M., Moncion A., Cheron G., Cresteil T. Expression of CYP3A in the human liver. Evidence that the shift between CYP3A7 and CYP3A4 occurs immediately after birth. *Eur. J. Biochem.* 1997. Vol. 247. P. 625–634. doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.00625.x
- Lang D. H., Yeung C. K., Peter R. M., Ibarra C., Gasser R., Itagaki K., Philpot R. M., Rettie A. E. Isoform specificity of trimethylamine *N*-oxygenation by human flavin-containing monooxygenase (FMO) and P450 enzymes: selective catalysis by FMO3. *Biochem. Pharmacol.* 1998. Vol. 56. P. 1005–1012. doi: 10.1016/s0006-2952(98)00218-4
- Lang D. H., Rettie A. E. In vitro evaluation of potential in vivo probes for human flavin-containing monooxygenase (FMO): metabolism of benzydamine and caffeine by FMO and P450 isoforms. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000. Vol. 50. P. 311–314. doi: 10.1046/j.1365-2125.2000.00265.x
- Lawton M. P., Philpot R. M. Functional characterization of flavin-containing monooxygenase 1B1 expressed in *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli*

and analysis of proposed FAD and membrane-binding domains. *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 5728–5734.

Lawton M. P., Cashman J. R., Cresteil T., Dolphin C., Elfarra A., Hine R. N., Hodgson E., Kimura T., Ozols J., Phillips I., Philpot R. M., Poulsen L. L., Rettie A. E., Williams D. E., Ziegler D. M. A nomenclature for the mammalian flavin-containing monooxygenase gene family based on amino acid sequence identities. *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. Vol. 308. P. 254–257. doi: 10.1006/abbi.1994.1035

Leoni C., Buratti F. M., Testai E. The participation of human hepatic P450 isoforms, flavin-containing monooxygenases and aldehyde oxidase in the biotransformation of the insecticide fenthion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008. Vol. 233. P. 343–352. doi: 10.1016/j.taap.2008.09.004

Lin J., Cashman J. R. Detoxication of tyramine by the flavin-containing monooxygenase: stereoselective formation of the trans oxime. *Chem. Res. Toxicol.* 1997. Vol. 10. P. 842–852. doi: 10.1021/tx970030o

Mascotti M. L., Lapadula W. J., Juri Ayub M. The origin and evolution of Baeyer – Villiger monooxygenases (BVMOs): an ancestral family of flavin monooxygenases. *PLoS ONE.* 2015. Vol. 10(7). e0132689. doi: 10.1371/journal.pone.0132689

Mascotti M. L., Juri Ayub M., Furnham N., Thornton J. M., Laskowski R. A. Chopping and changing: the evolution of the flavin dependent monooxygenases. *J. Mol. Biol.* 2016. Vol. 428. P. 3131–3146. doi: 10.1016/j.jmb.2016.07.003

Mashiguchi K., Tanaka K., Sakai T., Sugawara S., Kawaide H., Natsume M., Hanada A., Yaeno T., Shirasu K., Yao H., McSteen P., Zhao Y., Hayashi K., Kamiya Y., Kasahara H. The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011. Vol. 108. P. 18512–18517. doi: 10.1073/pnas.1108434108

Massey V. Activation of molecular oxygen by flavins and flavoproteins. *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269(36). P. 22459–22462.

McElwain K. V., Estienne M. J., Barb C. R. Effect of cysteamine hydrochloride on secretion of growth hormone in male swine. *Life Sci.* 1999. Vol. 64. P. 2233–2238. doi: 10.1016/s0024-3205(99)00183-6

Mitchell S. C. Flavin Mono-Oxygenase (FMO) – The ‘Other’ Oxidase. *Curr. Drug Metabol.* 2008. Vol. 9. P. 280–284. doi: 10.2174/138920008784220682

Mitchell S. C., Smith R. L. A physiological role for flavin-containing monooxygenase (FMO3) in humans. *Xenobiotica.* 2010. Vol. 40(5). P. 301–305. doi: 10.3109/00498251003702753

Motika M. S., Zhang J., Cashman J. R. Flavin-containing monooxygenase 3 and human disease. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2007. Vol. 3(6). P. 831–845. doi: 10.1517/17425255.3.6.831

Ohmi N., Yoshida H., Endo H., Hasegawa M., Akimoto M., Higuchi S. S-oxidation of S-methyl-esonarimod by flavin-containing mono-oxygenases in human liver microsomes. *Xenobiotica.* 2003. Vol. 33. P. 1221–1231. doi: 10.1080/00498250310001624627

Overby L. H., Buckpitt A. R., Lawton M. P., Atta-Asafo-Adjei E., Schulze J., Philpot R. M. Characterization of flavin-containing monooxygenase 5 (FMO5) cloned from human and guinea pig: evidence that the unique catalytic properties of FMO5 are not confined to the rabbit ortholog. *Arch. Biochem. Biophys.* 1995. Vol. 317(1). P. 275–284. doi: 10.1006/abbi.1995.1163

Phillips I. R., Dolphin C. T., Clair P., Hadley M. R., Hut A. J., McCombie J. R. R., Smith R. L., Shephard E. A. The molecular biology of the flavin-containing monooxygenases of man. *Chem. Biol. Interact.* 1995. Vol. 96. P. 17–32. doi: 10.1016/0009-2797(94)03580-2

Phillips I. R., Shephard E. A. Drug metabolism by flavin-containing monooxygenases of human and mouse. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017. Vol. 13(2). P. 167–181. doi: 10.1080/17425255.2017.1239718

Poulsen L. L. Organic sulfur substrates for the microsomal flavin-containing monooxygenase. *Rev. Biochem. Toxicol.* 1981. Vol. 3. P. 33–49.

Rendic S., Guengerich F. P. Survey of human oxidoreductases and cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of xenobiotic and natural chemicals. *Chem. Res. Toxicol.* 2015. Vol. 28. P. 38–42. doi: 10.1021/tx500444e

Schupke H., Hempel R., Peter G., Hermann R., Wesel K., Engel J., Kronbach T. New metabolic pathways of  $\alpha$ -lipoic acid. *Drug Metab. Dispos.* 2001. Vol. 29. P. 855–862.

Siddens L. K., Krueger S. K., Henderson M. C., Williams D. E. Mammalian flavin-containing monooxygenase (FMO) as a source of hydrogen peroxide. *Biochem. Pharmacol.* 2014. Vol. 89. P. 141–147. doi: 10.1016/j.bcp.2014.02.006

Suh J. K., Poulsen L. L., Ziegler D. M., Robertus J. D. Molecular cloning and kinetic characterization of a flavin-containing monooxygenase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 1996. Vol. 336. P. 268–274. doi: 10.1006/abbi.1996.0557

Suh J. K., Poulsen L. L., Ziegler D. M., Robertus J. D. Yeast flavin-containing monooxygenase generates oxidizing equivalents that control protein folding in the endoplasmic reticulum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 2687–2691. doi: 10.1073/pnas.96.6.2687

Zane N. R., Chen Y., Wang M. Z., Thakker D. R. Cytochrome P450 and flavin-containing monooxygenase families: age-dependent differences in expression and functional activity. *Pediatric Research.* 2018. Vol. 83. P. 527–535. doi: 10.1038/pr.2017.226

Zhang J., Cashman J. R. Quantitative analysis of FMO gene mRNA levels in human tissues. *Drug Metab. Dispos.* 2006. Vol. 34. P. 19–26. doi: 10.1124/dmd.105.006171

Ziegler D. M., Duffel M. W., Poulsen L. L. Studies on the nature and regulation of the cellular thio: disulphide potential. *Ciba Found Symp.* 1979. Vol. 72. P. 191–204. doi: 10.1002/9780470720554.ch12

Ziegler D. M. An overview of the mechanism, substrate specificities, and structure of FMOs. *Drug Metab. Rev.* 2002. Vol. 34. P. 503–511. doi: 10.1081/dmr-120005650

Received July 09, 2020

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:****Смирнов Лев Павлович**

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

**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

УДК 581.1

## **МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ЯДРОВОЙ ДРЕВЕСИНЫ: ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

**Н. А. Галибина, К. М. Никерова, Ю. Л. Мощенская, М. А. Ершова**

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

Ядровая древесина – физиологически неактивная часть ксилемы, которая образуется в результате смерти клеток паренхимы и характеризуется накоплением экстрактивных веществ, придающих древесине устойчивость к биодegradации. В обзоре обобщена последняя информация об анатомических, биохимических особенностях формирования ядровой древесины, описаны ключевые стадии ее формирования у основных лесообразующих пород, рассмотрена ее биологическая роль. Отдельное внимание уделено описанию последних достижений в изучении генов, кодирующих ключевые ферменты углеводного и фенольного обменов, метаболизма гормонов, некоторые факторы транскрипции, экспрессия которых возрастает при образовании ядровой древесины. В обзоре представлены оригинальные гипотезы, которые рассматривают образование ядровой древесины как форму старения тканей и сравнивают с программируемой клеточной смертью.

**Ключевые слова:** древесные растения; ксилогенез; заболонная древесина; транзитная зона; ядровая древесина; метаболиты; активность ферментов; экспрессия генов.

### **N. A. Galibina, K. M. Nikerova, Yu. L. Moshchenskaya, M. A. Yershova. PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF HEARTWOOD FORMATION MECHANISMS**

Heartwood is a physiologically inactive part of the xylem, which is formed as a result of parenchymal cell death and is characterized by the accumulation of extractives that prevent wood from biodegradation. The review summarizes the latest information about the anatomical and biochemical features of heartwood genesis, describes its major stages in the main stand-forming species, and examines the biological role of heartwood. Special attention is given to recent advancements in the study of the genes encoding key enzymes of carbohydrate and phenolic metabolism, hormone metabolism, and some transcription factors that are overexpressed during heartwood formation. The review presents original hypotheses that consider heartwood formation as a form of tissue aging and compare it to programmed cell death.

**Key words:** woody plants; xylogenesis; sapwood; transition zone; heartwood; metabolites; enzyme activity; gene expression.

## Введение

В современном динамично изменяющемся обществе на фоне постоянно растущих энергетических и экологических проблем древесина приобретает все большее значение как важнейший возобновляемый источник энергии и как промышленное сырье для производства многочисленных продуктов. В этой связи ускорение роста и улучшение качества древесины, ее технологических свойств – основные задачи современной лесной биотехнологии. Формирование древесины (ксилемы) происходит в результате деятельности латеральной меристемы – камбия. Производные камбия, обращенные внутрь ствола, дифференцируются в структурные элементы ксилемы: сосуды, трахеиды, волокна, клетки аксиальной и лучевой паренхимы. Этот процесс включает рост клеток растяжением, формирование вторичной клеточной стенки и в случае волокон, сосудов и трахеид – программируемую клеточную смерть (ПКС). Живые клетки паренхимы участвуют в дыхательных процессах, обеспечивают запасание питательных веществ и передвижение их по проводящим тканям растения. По мере роста дерева в нем происходит смерть паренхимных клеток ксилемы, результатом чего становится образование спелой, или ядровой (heartwood, HW) древесины. Часть ксилемы, которая содержит живые паренхимные клетки с запасными (резервными) веществами, называется заболонной (sapwood, SW) древесиной [International..., 1964].

Заболонная древесина содержит 5–35 % живой паренхимы по объему [Panshin, de Zeeuw, 1980]. У голосеменных растений этот показатель составляет приблизительно 5–8 %, у покрытосеменных – 10–35 %. Клетки паренхимы во вторичной ксилеме могут быть чрезвычайно долгоживущими, продолжительность их жизни варьирует от 2 до 200 лет [Spicer, Holbrook, 2007]. Количество и скорость образования ядровой древесины находятся под генетическим контролем [Taylor et al., 2002; Spicer, 2005] и различаются в зависимости от породы деревьев, а также условий произрастания [Bamber, Fukazawa, 1985; Gjerdrum, 2003; Уголев, 2004; Nawrot et al., 2008; Wang et al., 2010].

Внутренние слои заболони, состоящие из живых клеток паренхимы, образуют хорошо выраженную у некоторых пород область – транзитную (переходную) зону (transition zone, TZ) [International..., 1964; Shain, Mackay, 1973; Bowman et al., 2005]. В транзитной зоне синтезируются вещества, которые в дальнейшем накапливаются в ядровой древесине [Burtin et al.,

1998; Magel, 2000; Taylor et al., 2002; Spicer, 2005].

Первые четкие определения SW и HW были даны в 1964 году Международной ассоциацией анатомов древесины (International Association of Wood Anatomists, IAWA [1964, p. 32]). В 1987 году вышла книга William E. Hillis «Heartwood and tree exudates», в которой в одной из первых была собрана информация по формированию заболонной и ядровой древесины, показаны различия в химическом составе, а также обращено внимание на свойства древесины в зависимости от соотношения SW и HW. В 2002 году PhD Adam M. Taylor с соавторами из университета Орегона (Department of Wood Science and Engineering, Oregon State University, USA) представили обширный обзор литературы о причинах формирования ядровой древесины, типах ее образования у разных пород, ферментах, которые участвуют в этих процессах [Taylor et al., 2002].

В отечественной древесиноведческой литературе редко применяется деление древесины в рамках одного ствола на заболонную и ядровую. В работах русских исследователей, например, специалистов по древесиноведению С. И. Ванина, Л. М. Перельгина, Б. Н. Уголева говорится о делении пород деревьев на ядровые – с потемнением центральной части древесины, спелодревесные – у которых центральная часть древесины не отличается по цвету, но имеет меньшую влажность, и заболонные породы, у которых центральная часть древесины не отличается ни по цвету, ни по влажности. Авторы подчеркивают возможность единого характера образования ядровой древесины, которая может быть выражена в разной степени. Отмечается, что каждое дерево проходит путь образования спелой древесины, и у некоторых она может быть четко оформлена, образуя ядро [Иванов, 1939; Ванин, 1949; Уголев, 2004]. В англоязычной литературе для обозначения спелой древесины, не отличающейся по цвету от заболони, иногда используют термин «riewood» [Račko et al., 2018].

Разным аспектам изучения HW посвящено очень много работ, особенно в зарубежной литературе. Показано, что в результате образования HW снижается содержание сахаров, белков, запасных компонентов (крахмала, липидов) и увеличивается количество вторичных метаболитов фенольной природы, смол, экстрактивных веществ, придающих древесине устойчивость к биодegradации [Hauch, Magel, 1998; Magel et al., 2000; Saito et al., 2008; Macfarlane et al., 2010; Wang et al., 2010; Pfautsch et al., 2012 и др.]. В последнее время все больше внимания

уделяется изучению молекулярно-генетических показателей формирования HW. В известной нам литературе в основном исследуется уровень экспрессии генов, кодирующих ферменты, участвующие в биосинтезе флавоноидов [Yang et al., 2004; Huang et al., 2010; Lim et al., 2016]. Образование HW иногда рассматривают как форму старения тканей и сравнивают с ПКС, которая происходит при формировании из ксилемных производных камбия сосудов, волокон и трахеид [Taylor et al., 2002; Spicer, 2005; Fromm, 2013; Lim et al., 2016].

В настоящей работе обобщена информация об анатомических, биохимических особенностях формирования HW, о роли генов, регулирующих ключевые стадии ее формирования.

### Биологическая роль ядровой древесины

Живые клетки паренхимы SW являются связующим звеном для симпласта и апопласта древесных тканей и выполняют важные функции в различных процессах, таких как запасание углеводов, транспорт воды от корней к листве и раневой ответ, в то время как HW не играет видимой физиологической роли [Hillis, 1987; Taylor et al., 2002; Beekwilder et al., 2014; Celedon et al., 2016]. В отличие от SW HW имеет важные для деревоперерабатывающей промышленности качества (цвет, низкая влажность, устойчивость к биodeградации) [Scheffer, Cowling, 1966; Bamber, Fukazawa, 1985; Hillis, 1987; Onuorah, 2001; Taylor et al., 2002; Ekeberg et al., 2006].

HW часто темнее по цвету, чем заболонь. Более темный цвет обусловлен вторичными метаболитами, экстрактивными веществами HW. Токсичные экстрактивные соединения в HW определяют ее естественную устойчивость к биodeградации [Bamber, Fukazawa, 1985; Hillis, 1987]. Удаление экстрактивных веществ приводит к тому, что прочные формы древесины становятся восприимчивы к гниению [Smith et al., 1989]. Напротив, добавление экстрактивных веществ повышает устойчивость к гниению нормальной, склонной к распаду древесины [Smith et al., 1989; Onuorah, 2001]. Среди экстрактивных веществ основную массу составляют стильбены и смоляные кислоты. Отдельные деревья сосны существенно различаются между собой по количеству стильбенов в ядровой древесине, при этом указанный признак может передаваться от родителей потомству [Harju, Venäläinen, 2006; Harju et al., 2009; Partanen et al., 2011]. Помимо прямой фунгицидной активности стильбены обладают антиоксидантными свойствами, тем самым

защищая растение от свободных радикалов, используемых многими грибковыми патогенами для разрушения клеточных стенок растения [Schultz, Nicholas, 2000; Belt et al., 2017]. Процесс формирования HW сопровождается эмболией, деградацией и инкрустацией экстрактивными веществами пор у проводящих элементов ксилемы, что значительно снижает проницаемость древесины и приводит к прекращению транспорта воды [Panshin, de Zeeuw, 1980; Yamamoto, 1982; Sperry et al., 1991; Fujii et al., 1997]. Закрытие пор также препятствует проникновению организмов, вызывающих гниение, в древесине.

Процесс образования HW может сопровождаться рециркуляцией из нее питательных веществ в SW подобно резорбции питательных веществ от стареющих листьев [Bamber, Fukazawa, 1985]. При этом биогенные вещества могут представлять собой значительный источник питательных веществ, например, формирование HW у *Eucalyptus obliqua* поставляет 31 % всего фосфора, требующегося дереву [Taylor et al., 2002]. При изучении рециркуляции минеральных элементов из ядровой древесины в заболонь у *Chamaecyparis thyoides* было обнаружено, что их уровень в заболони деревьев, растущих на участках с низкой концентрацией питательных веществ в почве, поддерживался на уровне, сопоставимом с таковым на участках, более богатых питательными веществами. При этом у деревьев на бедных почвах в HW было относительно мало этих элементов. В зависимости от типа распределения элементов вдоль поперечной оси древесины было предложено разделить их на три категории: мобильные (N, P, K), промежуточные (Mg, Zn) и неподвижные (Ca, Mn) [Taylor et al., 2002]. При оценке данных о содержании минеральных элементов в древесине у 22 видов голосеменных и 71 вида покрытосеменных установлено, что количество P, N, K и S в HW ниже, чем в SW [Hillis, 1987; Magel, Holl, 1993; Magel et al., 2000; Meerts, 2002; Saito et al., 2008]. Для других элементов, таких как Ca, Mg, Mn, Fe, Al или As, структура распределения между SW и HW является более сложной и зависит от вида [Meerts, 2002] и условий произрастания [Houle et al., 2008]. На примере *Cryptomeria japonica* изучение радиального транспорта металлов путем введения рубидия (Rb) и европия (Eu) в заболонь выявило два этапа в этом процессе: (1) активный транспорт из заболони к внешней части HW через клетки лучевой паренхимы и (2) диффузия в HW [Okada et al., 2011, 2012].

Формирование ядровой древесины регулирует количество заболони на оптимальном

для растения уровне, поддерживая тем самым баланс между объемом автотрофной и гетеротрофной ткани. Соотношение HW/SW влияет на такие процессы, как (1) поддержание структуры (механическая функция), (2) водный транспорт, (3) запасание резервных соединений и (4) энергетические затраты на дыхание живой заболони [Taylor et al., 2002; Spicer, 2005; Mancuso, Shabala, 2010].

### Этапы формирования ядровой древесины

У деревьев всех пород в раннем возрасте древесина состоит только из заболони и лишь с течением времени начинается отмирание живых клеток паренхимы. С возрастом у многих древесных видов доля HW начинает занимать значительную часть ксилемы [Taylor et al., 2002; Spicer, 2005; Mancuso, Shabala, 2010]. Формирование HW начинается у белой акации на 2-й год, у некоторых видов эвкалипта – примерно в 5 лет, у сосны – в 12–20 лет, у ясени – в 60–70 лет и у бука – в 80–100 лет [Иванов, 1939; Dadswell, Hillis, 1962]. Можно выделить несколько этапов при формировании HW: обезвоживание ксилемы в транзитной зоне, отложение экстрактивных веществ, изменения в структуре клеточной стенки, разрушение ядра клеток [Nakada, Fukatsu, 2012].

В хвойных породах TZ содержит меньше воды, чем SW [Nakada et al., 1999, Nakada, 2006, 2007; Kuroda et al., 2009]. Исчезновение воды на границе между заболонью и транзитной зоной – одно из первых событий в образовании ядровой древесины [Nakada, 2006, 2007; Kuroda et al., 2009]. Отсутствие транспорта воды в HW обусловлено закрытием пор, соединяющих клетки между собой. Поры могут быть заблокированы инкрустацией экстрактивными веществами, которая происходит резко на границе HW/SW или в TZ [Yamamoto, 1982].

Экстрактивные вещества HW синтезируются из локально доступных соединений и метаболитов, транслоцированных из флоэмы и заболони [Hillis, 1987]. Процесс отложения соединений HW называют «псевдоодревеснением», поскольку он отличается от лигнификации – процесса, при котором лигнин откладывается в клеточных стенках формирующихся элементов ксилемы [Magel et al., 2000].

Гибель клеток паренхимы является ключевым этапом в формировании HW. Shain и Maskau [1973], определяя жизнеспособность паренхимы древесины (путем измерения потребления кислорода и/или путем наблюдения цитологических изменений), продемонстрировали, что активность лучевой паренхимы по-

степенно снижается с увеличением расстояния от камбия. При этом в TZ наблюдается всплеск метаболизма, что, по мнению авторов, связано с интенсивными обменными процессами в переходной зоне, предшествующими формированию HW. На примере разных видов (*Cryptomeria japonica*, *Melia azedarach*, *Pinus sylvestris*, *Larix decidua*, *Pseudotsuga menziesii* и *Robinia pseudoacacia*) было показано, что разрушению ядра в клетках паренхимы предшествуют различные изменения в его форме [Hillis, 1987]. Несмотря на большое число гипотез, высказанных за долгую историю изучения HW, факторы, которые запускают и регулируют этот процесс, до сих пор неизвестны. В настоящее время смерть лучевых клеток паренхимы древесины понимают как активный, контролируемый на генетическом уровне процесс старения клеток [Spicer, 2005; Spicer, Holbrook, 2007].

R. Nakada и E. Fukatsu [2012], изучая на примере *Larix kaempferi* (Lamb.) Carriere сезонные изменения в тканях ствола при формировании HW, выдвинули предположение, что дегидратация трахеид является инициацией этого процесса. Как показали авторы, разные этапы формирования HW происходят в разные сезоны (рис. 1): в первую очередь наблюдается исчезновение свободной воды из просвета трахеид (т. е. переход от заболони к транзитной зоне); ПКС клеток лучевой паренхимы происходит между апрелем и июлем, когда камбий наиболее активен; и, наконец, окрашенные экстрактивные вещества ядровой древесины (т. е. переход от TZ к HW) откладываются поздней осенью и ранней зимой [Nakada, Fukatsu, 2012].

### Метаболические процессы при формировании ядровой древесины

Образование HW – запрограммированная гибель клеток в стареющих слоях заболони – является последним этапом в жизненном цикле живых паренхимных клеток ксилемы, сопровождающимся снижением скорости метаболизма и ферментативной активности.

Гибель клеток паренхимы ксилемы начинается с уменьшения содержания белков и запасных веществ (крахмала, липидов) из-за повышенной активности гидролизующих ферментов, таких как амилазы, фосфатазы и липазы [Burtin et al., 1998; Magel et al., 2000]. В переходной зоне возрастает гидролиз сахарозы, образующейся при расщеплении полимеров, а также в результате постоянного импорта из внешних тканей заболони. Утилизация сахарозы происходит при участии ферментов ее

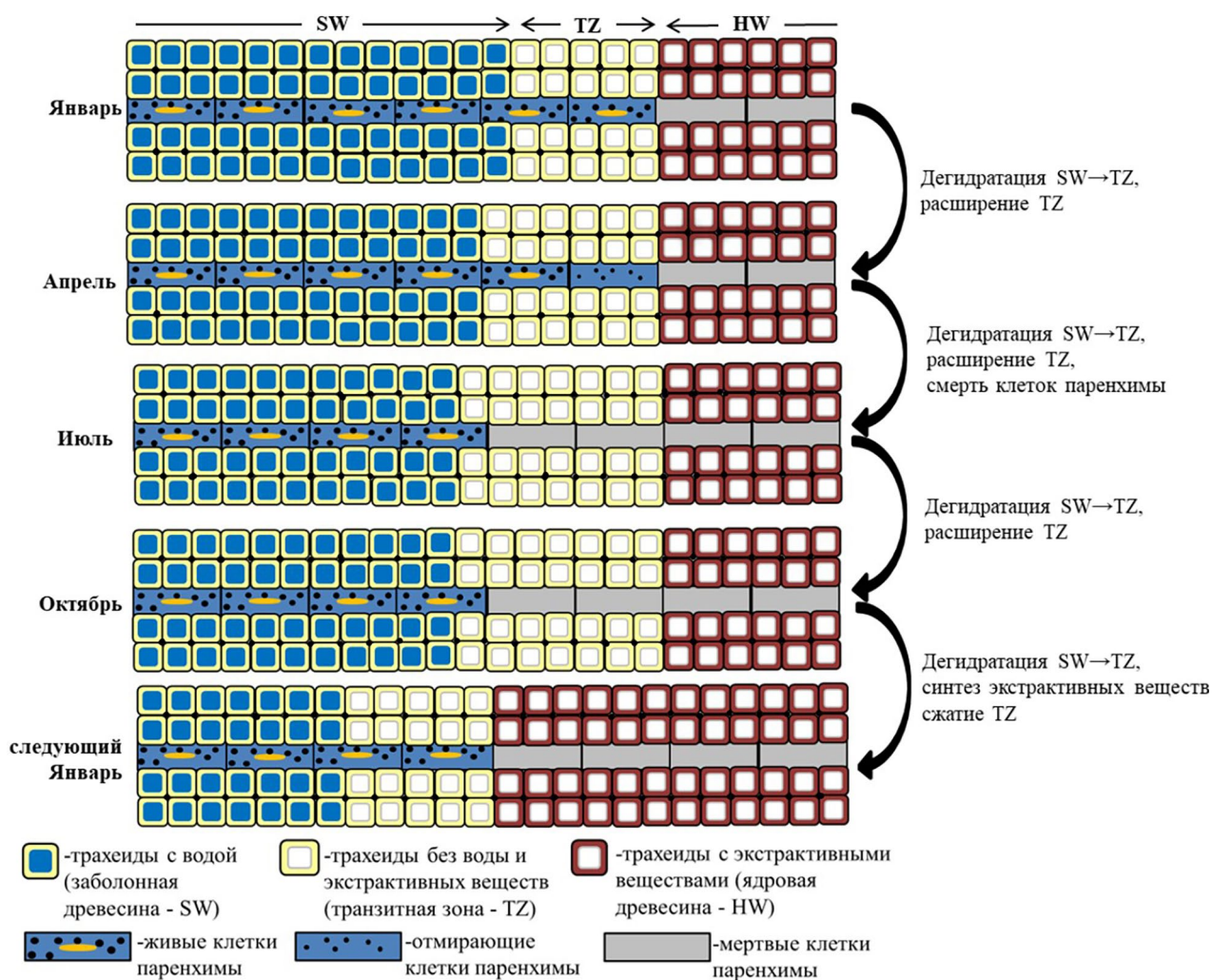


Рис. 1. Схематическое изображение сезонных изменений, происходящих в тканях ксилемы при формировании ядровой древесины [по: Nakada, Fukatsu, 2012 с изменениями]

Fig. 1. Schematic representation of seasonal changes occurring in xylem tissues during the heartwood formation [after: Nakada, Fukatsu, 2012 with changes]

гидролиза: сахарозосинтазы (СС) и инвертазы (рис. 2) [Xu et al., 1989; Magel et al., 2000]. Высокая активность этих ферментов поддерживает акцепторные свойства TZ.

Вначале продукты распада сахарозы (фруктоза, глюкоза и UDP-глюкоза) преимущественно используются для получения энергии (субстратное и окислительное фосфорилирование) [Holl, Lenzian, 1973; Magel, Holl, 1993] и в незначительной степени для синтеза экстрактивных веществ. Экстрактивные вещества фенольной природы являются сильными ингибиторами транспорта электронов в митохондриях, на основании чего митохондрии считаются первыми органеллами, прекращающими активность при формировании HW [Ziegler, 1968; Hillis, 1987].

Углеродные скелеты, накапливающиеся за счет нефункциональных митохондрий (фос-

фоенлипируват), вместе с продуктом пентозофосфатного пути (ПФП) (эритрозо-4-фосфат) (рис. 2) являются основными субстратами шикиматного пути – механизма, используемого растениями для образования бензольного ядра (рис. 3). В переходной зоне и/или внутренних слоях заболони обнаруживается повышение активности некоторых ферментов цикла Кребса (малат- и сукцинатдегидрогеназа), а также фермента, катализирующего первую реакцию ПФП (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа) [Hauch, Magel, 1998].

Конечным продуктом шикиматного пути является фенилаланин (рис. 3), который включается в биосинтез флаваноидов посредством фенилпропаноидного метаболизма и биосинтетических путей флаваноидов (рис. 4) [Hillis 1987; Magel et al., 2000; Veritognolo et al., 2002]. При этом участвуют такие ферменты, как фе-



## Метаболизм сахарозы и гликолиз

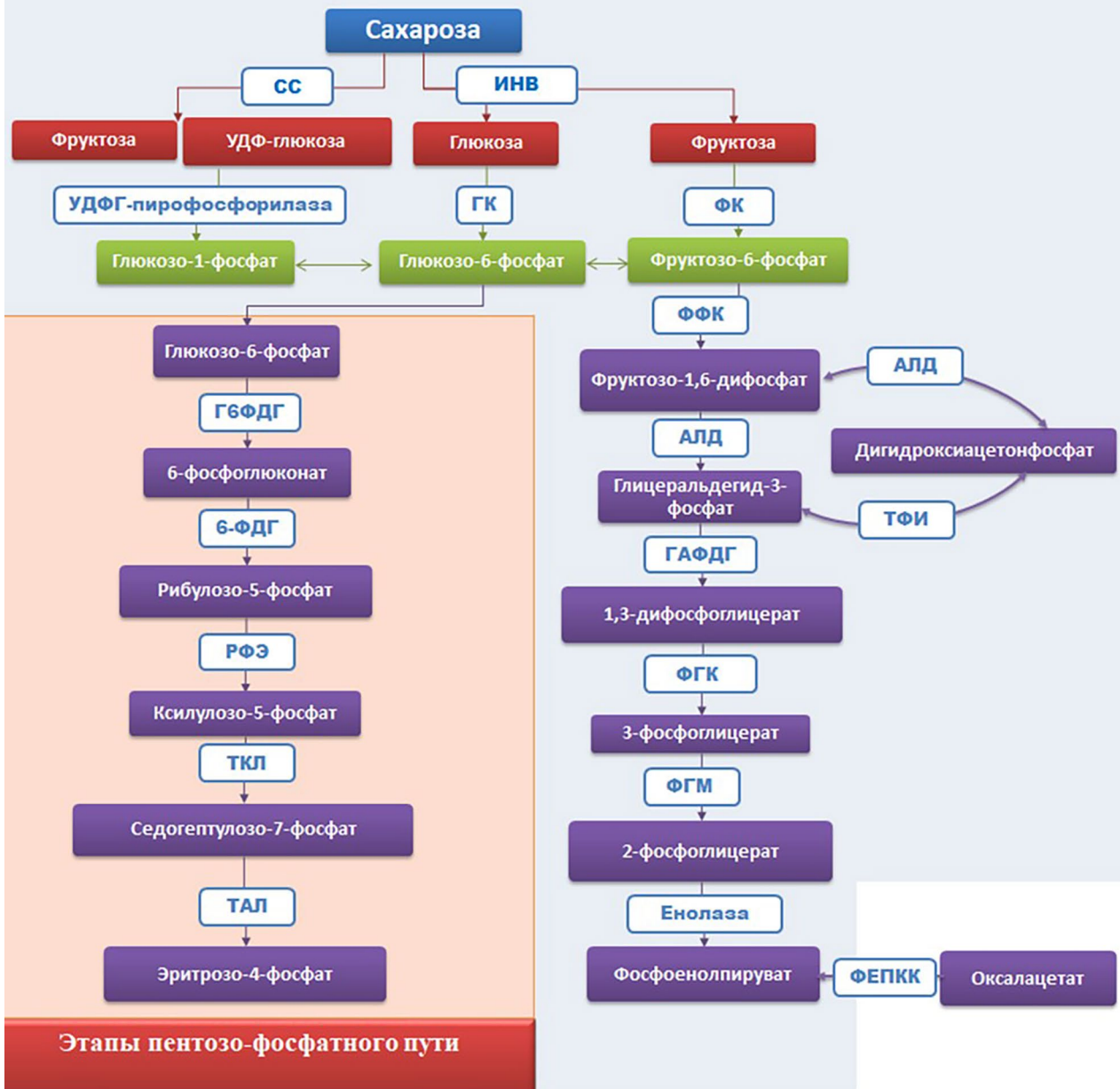


Рис. 2. Пути метаболизма сахарозы и основные этапы гликолиза и пентозо-фосфатного пути, предшествующие формированию ядровой древесины:

СС – сахарозосинтаза, ИНВ – инвертаза, ГК – гексокиназа, ФК – фруктокиназа, ФФК – фосфофруктокиназа, АЛД – альдолаза, ТФИ – триозофосфатизомераза, ГАФДГ – глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, ФГК – фосфоглицерокиназа, ФГМ – фосфоглицеромутаза, ФЕПКК – фосфоенолпируваткарбоксыкиназа, Г6ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 6-ФДГ – 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, РФЭ – рибулозо-5-фосфат-3-эпимераза, ТКЛ – транскетолаза, ТАЛ – трансальдолаза

Fig. 2. Sucrose metabolism pathways and the main stages of glycolysis and the pentose phosphate pathway preceding the heartwood formation:

СС – sucrose synthase, ИНВ – invertase, ГК – hexokinase, ФК – fructokinase, ФФК – phosphofructokinase, АЛД – aldolase, ТФИ – triosephosphate isomerase, ГАФДГ – glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, ФГК – phosphoglycerokinase, ФГМ – phosphoglyceromutase, ФЕПКК – phosphoenolpyruvate carboxykinase, Г6ФДГ – glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-ФДГ – 6-phosphogluconate dehydrogenase, РФЭ – ribulose-5-phosphate-3-epimerase, ТКЛ – transketolase, ТАЛ – transaldolase



Рис. 3. Схематическое изображение этапов шикиматного пути:

ДАГФ – 3-деокси-D-арабиногептулозонат-7-фосфат, ДГХС – 3-дегидрохинатсинтаза, ДГХД – 3-дегидрохинатдегидротаз, ШК – шикиматкиназа, ЕПШФС – 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтаза, ХС – хоризматсинтаза, ХМ – хоризматмутаза, ПАТ – префенатаминотрансфераза, АДГ – аргенатдегидрогеназа

Fig. 3. Schematic representation of the shikimate pathway stages:

ДАГФ – 3-deoxy-D-arabinoheptulosonate-7-phosphate, ДГХС – 3-dehydroquinate synthase, ДГХД – 3-dehydroquinate dehydratase, ШК – shikimate kinase, ЕПШФС – 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, ХС – chorismate synthase, ХМ – chorismate mutase, ПАТ – prephenate aminotransferase, АДГ – argenate dehydrogenase

нилаланинаммиаклиаза (ФАЛ) – ключевой фермент, переключающий метаболизм на синтез флаваноидов; халконсинтаза (ХС) – ключевой фермент синтеза флаваноидных компонентов; флаванон-3-гидроксилаза и дигидрофлаванол-4-редуктаза [Burtin et al., 1998; Duroux et al., 1998; Magel et al., 2000; Beritognolo et al., 2002; Taylor et al., 2002; Mayer et al., 2006; Moraes, Pereira, 2012]. Несмотря на повышенную активность этих ферментов в TZ, считается, что основная масса экстрактивных веществ ядровой древесины формируется вторичными реакциями, такими как гидролиз фенольных гликозидов [Duroux et al., 1998], окисление, интерконверсия и полимеризация низкомолекулярных фенольных соединений [Dellus et al., 1997; Burtin et al., 1998], в которых в качестве ферментов могут выступать пероксидазы [Dehon et al., 2002].

Выделяют два типа образования HW, основанные на макро- и микроскопических и биохимических исследованиях, – *Robinia*-Type (семейство Бобовые) и *Juglans*-Type (семейство Ореховые). У растений, отнесенных к первому типу, экстрактивные вещества накапливаются в узкой зоне между заболонью и ядровой древесиной. При этом в стареющей заболони нет никаких фенольных прекурсоров [Nair et al., 1981; Bergström et al., 1999; Bergström, 2003; Magel et al., 2000]. Экстрактивные вещества синтезируются из сахарозы, образуемой из крахмала [Magel et al., 2000]. В TZ повышается активность СС, ФАЛ и ХС. Молекулярный анализ показал, что если активность ХС регулируется на уровне экспрессии кодирующих ее генов, то активности ФАЛ – в основном на посттрансляционном уровне [Magel, Hübner, 1997; Magel et al., 2000].

У растений, отнесенных ко второму типу, фенольные прекурсоры аккумулируются в стареющих тканях заболони и уже преобразуются в TZ [Burtin et al., 1998; Taylor et al., 2002]. Присутствие этих веществ, по-видимому, вызывает нежелательное изменение цвета заболони во время транспортировки и хранения древесины [Koch, 2004] или запланированное во время обработки паром [Burtin et al., 1998]. Фенольные экстрактивные вещества также могут синтезироваться *de novo* из сахаров в TZ [Beritognolo et al., 2002] за счет деятельности ФАЛ и ХС, как у первого типа [Dellus et al., 1997; Burtin et al., 1998; Mayer et al., 2006]. Встречается у таких растений, как *Pseudotsuga* [Dellus et al., 1997], *Platycarya* [Tanaka et al., 1998], *Prunus serotina* [Mayer et al., 2006] и *Eucalyptus globulus* [Moraes, Pereira, 2012].



Рис. 4. Основные этапы биогенеза фенилпропаноидов и флавоноидов при формировании ядровой древесины:

ФАЛ – фенилаланинаммиаклиаза, 4ГТК – 4-гидроксилаза *транс*-коричной кислоты, ФОК – фенолоксидаза, ОМТ – *о*-метилтрансфераза, ХС – халконсинтаза

Fig. 4. Main stages of phenylpropanoids and flavonoids biogenesis in the heartwood formation:

ФАЛ – phenylalanine ammonia lyase, 4ГТК – 4-hydroxylase of *trans*-cinnamic acid, ФОК – phenoloxidase, ОМТ – *о*-methyltransferase, ХС – chalcone synthase

### Молекулярно-генетический контроль формирования ядровой древесины

До сих пор неясно, когда и как происходит иницирование образования HW. В некоторых работах [Magel et al., 2000; Plomion et al., 2001; Yang et al., 2004; Spicer, 2005; Huang et al., 2009] формирование HW определяется как сложный биологический процесс, обусловленный ПКС клеток лучевой паренхимы в TZ, ориентированных как в осевом, так и в радиальном направлении. Имеются данные об участии растительных гормонов – этилена и ауксина в регуляции образования HW [Hillis, 1987; Nilsson et al., 2002; Yang et al., 2004; Lim et al., 2016]. Известно, что образование HW у древесных пород в значительной степени зависит от скорости роста, возраста, вида и условий окружающей среды [Gjerdrum, 2003], вместе с тем в литературе имеется множество данных, что этот процесс регулируется молекулярно-генетическими фак-

торами [Yang et al., 2004; Huang et al., 2009; Lim et al., 2016; Celedon, Bohlmann, 2017].

В некоторых работах [Yang et al., 2004; Huang et al., 2009; Lim et al., 2016; Celedon, Bohlmann, 2017] показано изменение экспрессии генов в ходе образования HW. Транскриптомный анализ позволил выявить ряд генов – индикаторов образования HW, имеющих статистически значимую дифференциальную экспрессию в TZ, по сравнению с SW (табл.). Полученные данные показывают, что в TZ в большей степени экспрессируются те гены, которые участвуют в процессах вторичного метаболизма, в ходе которых образуются экстрактивные вещества.

В исследованиях, проведенных на растениях *Robinia pseudoacacia* L. и *Juglans nigra*, была показана корреляция между содержанием экстрактивных веществ в TZ и уровнем транскрипции генов, кодирующих ФАЛ (*PAL*) и ХС (*CHS*) [Magel, Hübner, 1997; Beritognolo et al., 2002]. Исследование древесины сосны обыкновенной

Гены, гиперэкспрессирующиеся в транзитной зоне по сравнению с заболонью в ходе формирования ядровой древесины

Genes overexpressed in the transition zone compared to sap wood during heartwood formation

Ген Gene	Название белка Protein name	Ссылка Reference
<b>Метаболизм сахарозы Metabolism of sucrose</b>		
<i>SUS</i>	Сахарозосинтаза Sucrose synthase	Yang et al., 2004; Lim et al., 2016
<i>PFK</i>	Фосфофруктокиназа Phosphofructokinase	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>INV</i>	Инвертаза Invertase	«
<i>FK</i>	Фруктокиназа Fructokinase	«
<i>GPI</i>	Глюкозо-6-фосфатизомераза Glucose-6-phosphate isomerase	«
<i>HK</i>	Гексокиназа Hexokinase	«
<b>Гликолиз Glycolysis</b>		
<i>FBA</i>	Фруктозо-1,6-дифосфатальдолоза Fructose-1,6-diphosphate aldolase	«
<i>TAL</i>	Трансальдолаза Transaldolase	«
<i>TFI</i>	Триозофосфатизомераза Triosephosphate isomerase	«
<i>PGK</i>	Фосфоглицераткиназа Phosphoglycerate kinase	«
<i>ENO</i>	Енолаза Enolase	Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017
<b>Пентозо-фосфатный путь Pentose-phosphate pathway</b>		
<i>G6PDH</i>	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа Glucose-6-phosphate dehydrogenase	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>6PGDH</i>	6-фосфоглюконатдегидрогеназа 6-phosphogluconate dehydrogenase	«
<i>TKL/TKT</i>	Транскетолаза Transketolase	«
<b>Глюконеогенез Gluconeogenesis</b>		
<i>PEPCK</i>	Фосфоенолпируваткарбоксикиназа Phosphoenolpyruvate carboxykinase	Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017
<b>Шикиматный путь Shikimate pathway</b>		
<i>DHS</i>	3-дезоксид-арабиногептулозонат-7-фосфатсинтаза 3-deoxy-D-arabinoheptulosonate-7-phosphate synthase	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>DHQS</i>	Дегидрохиннатсинтаза Dehydroquinnate synthase	«
<i>SDH</i>	Шикиматдегидрогеназа Shikimate dehydrogenase	«
<i>SK</i>	Шикиматкиназа Shikimate kinase	«
<i>EPSPS</i>	5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтаза 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase	«
<i>CS</i>	Хоризматсинтаза Chorismate synthase	«
<i>CM</i>	Хоризматмутаза Chorismate mutase	«
<i>PDT</i>	Префенатдегидратаза Prephenate dehydratase	«

Окончание табл.

Table (continued)

Ген Gene	Название белка Protein name	Ссылка Reference
<b>Биогенез фенолпропаноидов и флавоноидов</b> <b>Biogenesis of phenylpropanoids and flavonoids</b>		
<i>PAL</i>	Фенилаланинаммиаклиаза Phenylalanine ammonia lyase	Beritognolo et al., 2002; Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Celedon, Bohlmann, 2017; Lim, 2017
<i>4CL</i>	4-кумарат-КоА-лигаза 4-coumarate-CoA ligase	Hauch, Magel, 1998; Magel et al., 2000; Beritognolo et al., 2002; Lim et al., 2016; Celedon, Bohlmann, 2017
<i>STS</i>	Стильбенсинтаза Stilbene synthase	Lim et al., 2016; Celedon, Bohlmann, 2017; Lim, 2017
<i>OMT</i>	О-метилтрансфераза O-methyl transferase	Yang et al., 2004; Lim et al., 2016;
<i>CHS</i>	Халконсинтаза Chalcone synthase	Magel, Hübner, 1997; Beritognolo et al., 2002
<b>Метаболизм гормонов</b> <b>Hormone metabolism</b>		
<i>Ga2ox</i>	Гибберелин-2-оксидаза Gibberelin-2-oxidase	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>ACO</i>	Аминоциклопропан-1-карбоксилатоксидаза Aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	«
<i>SAM</i>	S-аденозилметионинсинтаза S-adenosylmethionine synthase	Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017
<b>Дегидратация и программируемая клеточная смерть</b> <b>Dehydration and programmed cell death</b>		
<i>BFN</i>	Бифункциональная эндонуклеаза Bifunctional endonuclease	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>DRP</i>	Белки, связанные с высыханием растений DRPs (Desiccation-Related Protein)	«
<b>Формирование клеточной стенки и лигнификация</b> <b>Cell wall formation and lignification</b>		
<i>HCT</i>	Шикимат-О-гидроксидинамоилтрансфераза Shikimate-O-hydroxycinnamoyl transferase	«
<i>C3H</i>	Кумарат-3-гидроксилаза Coumarate-3-hydroxylase	«
<i>CCOMT</i>	Каффеоил-КоА-О-метилтрансфераза Caffeoyl-CoA-O-methyl transferase	Lim et al., 2016; Lim, 2017; Paasela et al., 2017
<i>CCR</i>	Циннамоил-КоА-редуктаза Cinnamoyl-CoA reductase	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>CAD</i>	Циннамоил-алкоголь-дегидрогеназа Cinnamoyl alcohol dehydrogenase	Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>ABF</i>	α-L-арабинофуранозидаза α-L-arabinofuranosidase	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>XET</i>	Ксилоглюкан-эндотрансгликозилаза Xyloglucan endotransglycosylase	«
<b>Факторы транскрипции</b> <b>Transcription factors</b>		
<i>MYB</i>	MYB-белок (myeloblastosis) MYB- protein (myeloblastosis)	«
<i>NAC</i>	NAC-доменсодержащий белок NAC-domain-containing protein	Lim et al., 2016
<i>KNAT3</i>	Гомеодоменсодержащий белок (KNOTTED-like for <i>Arabidopsis thaliana</i> ) Homeodomain-containing protein (KNOTTED-like for <i>Arabidopsis thaliana</i> )	Huang et al., 2009
<b>Ответные реакции растений</b> <b>Plant responses</b>		
<i>CHI (Class VII)</i>	Хитиназа (Class VII) Chitinase (Class VII)	Lim et al., 2016; Lim, 2017
<i>PR10</i>	PR-белок (pathogenesis-related) PR-protein (pathogenesis-related)	«

с использованием транскриптомного анализа также выявило повышенный паттерн экспрессии гена *PAL*, а также генов *4CL*, *STS*, *OMT*, кодирующих 4-кумарат-КоА-лигазу, стильбенсинтазу и О-метилтрансферазу соответственно [Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017]. Данные ферменты играют ключевую роль в биосинтезе фенолпропаноидов в TZ, что является особенностью формирования ядровой древесины у хвойных пород [Celedon, Bohlmann, 2017].

У растений *Pinus sylvestris* во время формирования HW также активируются гены биосинтеза лигнина [Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017; Paasela et al., 2017] (табл.). Одним из основных компонентов экстрактивных веществ хвойных пород являются смоляные кислоты, однако в работе Lim с соавторами [2016] показано, что экспрессия генов *TPS* и *CYP720B*, кодирующих дитерпенсинтазу и цитохром P450, была выше в SW, по сравнению с TZ, в течение всего года. Полученные данные указывают на то, что смоляные кислоты у *P. sylvestris* загружаются из заболони, а не синтезируются в переходной зоне, из чего следует, что формирование ядровой древесины у данного вида относится к типу II [Celedon, Bohlmann, 2017].

На растениях *P. sylvestris* и *Robinia pseudoacacia* была показана также гиперэкспрессия генов *G6PDH*, *6PGDH*, *TKL/TKT*, *PEPCK*, кодирующих ферменты гликолиза и ПФП (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, транскетолаза, фосфоенолпируваткарбоксикиназа) [Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017]. Интересными являются данные по уровню экспрессии гена, кодирующего *CC (SUS)*, показано 4–5-кратное ее увеличение в TZ, по сравнению с SW [Yang et al., 2004; Lim et al., 2016; Lim, 2017]. Активность *CC* часто рассматривают как показатель метаболической активности растительных тканей [Winter, Hubner, 2000], что указывает на возможный синтез метаболитов в транзитной зоне еще до начала ПКС.

Наряду с вышеперечисленными генами важную роль в регуляции ПКС, процессов вторичного метаболизма, ответных реакций, а также реакций биосинтеза компонентов вторичной клеточной стенки играют факторы транскрипции (ТФ), в частности ТФ с NAC-доменом и MYB-доменом [Dubos et al., 2010; Bollhöner et al., 2012; Nakano et al., 2015]. В исследовании, проведенном на сосне [Lim et al., 2016; Lim, 2017], выявлена гиперэкспрессия *MYB* и *NAC* в TZ по сравнению с SW в течение всего года. Было также показано, что экспрессия данных ТФ коррелирует с экспрессией генов, вовлеченных в биосинтез стильбенов в TZ. В ходе работы, проведенной на растениях *Juglans nig-*

*ra* L. [Huang et al., 2009], получены данные, свидетельствующие также о возможном участии в формировании HW еще одного ТФ – *KNAT3* (KNOTTED-like for *Arabidopsis thaliana* 3). Выявлено значительное превышение уровня транскрипции гена *KNAT3* в TZ и внутренних слоях заболони по сравнению с внешней заболонью.

Исследования, проведенные на растениях разных видов, показали, что при формировании HW, так же как и при ПКС, происходит нарушение целостности клеток, фрагментация ядра, дегенерация митохондрий, разрушение вакуолей и высвобождение фенольных экстрактивных веществ [Nauch, Magel, 1998; Magel et al., 2000]. В некоторых исследованиях [Farage-Barhom et al., 2008; Bollhöner et al., 2012] имеются данные о том, что важным участником регуляции ПКС растений является бифункциональная эндонуклеаза, кодируемая геном *BFN*. Наряду с этим на растениях *P. sylvestris* показано тридцатикратное увеличение экспрессии гена *BFN* в TZ в ходе формирования HW [Lim et al., 2016; Lim, 2017]. Гиперэкспрессия гена *BFN* согласуется с имеющимися данными о ядерной дегенерации клеток лучевой паренхимы в TZ. Это свидетельствует, что ПКС действительно является этапом формирования HW [Taylor et al., 2002; Spicer, 2005; Nakada, Fukatsu, 2012].

Имеющиеся в литературе данные указывают на то, что формированию HW предшествует потеря воды в TZ [Rust, 1999; Bergström, 2003; Nakada, Fukatsu, 2012]. В исследованиях Lim с соавт. [2016, 2017] показано снижение в TZ уровня транскрипции генов, кодирующих белки аквапорины, связанные с межклеточным транспортом и гомеостазом [Nachez et al., 2006]. На фоне снижения экспрессии аквапоринов в TZ, по сравнению с заболонью, наблюдается превышение уровня транскрипции генов *DRP* (Desiccation-Related Protein), кодирующих белки, связанные с высыханием растений. Гиперэкспрессия *DRPs* защищает клетки переходной зоны от дефицита воды в ходе формирования HW. Кроме того, в TZ показана высокая, по сравнению с заболонью, активность генов *PR10* и *CHI*, кодирующих PR-белок (pathogenesis-related) и хитиназу участвующих в защитных реакциях растений [Lim et al., 2016; Lim, 2017]. Показано, что хитиназа участвует также в лигнификации вторичной клеточной стенки [Grover, 2012].

## Заключение

С момента первого описания разных по качеству частей древесины (заболонной и ядровой), выявления того, что свойства древесины существенно зависят от соотношения этих частей,

и до настоящего времени у специалистов разных областей не уменьшался интерес к изучению процесса формирования ядровой древесины. В зависимости от развития приборной базы и появления современных методов исследования приоритетными были разные аспекты этой проблемы: изучение анатомических особенностей и анализ жизнедеятельности паренхимных клеток при формировании ядровой древесины; химический состав заболонной и ядровой древесины; биохимические вопросы, включающие изучение ферментов углеводного и фенольного метаболизма, которые задействованы в формировании ядровой древесины; изучение экспрессии генов углеводного и фенольного метаболизма; поиск транскрипционных факторов, регулирующих формирование ядровой древесины; изучение образования ядровой древесины с позиций программируемой клеточной смерти.

Несмотря на долгую историю изучения формирования ядровой древесины, наши знания о механизмах, регулирующих ее образование, ограничены. Экспериментально трудно наблюдать процессы, происходящие в заболони и приводящие к образованию ядровой древесины. Это связано с невысоким процентом живых клеток в пределах переходной зоны и, следовательно, малым количеством ДНК и РНК, которые, кроме того, имеют низкое качество. Накопление фенольных компонентов в клетках паренхимы также затрудняет применение современных биохимических и молекулярных методов. В связи с этим процесс формирования ядровой древесины остается малоизученным и требует дальнейшего исследования у многих коммерчески важных видов и основных лесообразующих пород.

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

## Литература

Ванин С. И. Древесиноведение. Л.: Гослестехиздат, 1949. 472 с.

Иванов Л. А. Анатомия растений. Л.: Гослестехиздат, 1939. С. 83–96.

Уголев Б. Н. Древесиноведение и товароведение коммерческих пород: Учеб. пособие к проведению лабораторной работы для студентов по спец. 022900. М.: Изд-во МГУЛ, 2004. 76 с.

Bamber R. K., Fukazawa K. Sapwood and heartwood: A review // *Forestry Abstr.* 1985. Vol. 46. P. 567–580.

Beekwilder J., Houwelingen A., Cankar K., Dijk A., Jong R., Stoopen G., Bouwmeester H., Achkar J., Sonke T., Bosch D. Valencene synthase from the heart-

wood of Nootka cypress (*Callitropsis nootkatensis*) for biotechnological production of valencene // *Plant Biotechnol. J.* 2014. Vol. 12, no. 2. P. 174–182. doi: 10.1111/pbi.12124

Belt T., Keplinger T., Hänninen T., Rautkaria L. Cellular level distributions of Scots pine heartwood and knot heartwood extractives revealed by Raman spectroscopy imaging // *Industrial Crops & Products.* 2017. Vol. 108 P. 327–335. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.06.056

Bergström B. Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris* // *Forestry.* 2003. Vol. 76, no. 1. P. 45–53. doi: 10.1093/forestry/76.1.45

Bergström B., Gustafsson G., Gref R., Ericsson A. Seasonal changes of pinosylvin distribution in the sapwood/heartwood boundary of *Pinus sylvestris* // *Trees.* 1999. No. 14. P. 65–71. doi: 10.1007/PL00009754

Beritognolo I., Magel E., Abdel-Latif A., Charpentier J., Jay-Allemand C., Breton C. Expression of genes encoding chalcone synthase, flavanone 3-hydroxylase and dihydroflavonol 4-reductase correlates with flavanol accumulation during heartwood formation in *Juglans nigra* // *Tree Physiol.* 2002. No. 22. P. 291–300. doi: 10.1093/treephys/22.5.291

Bollhöner B., Prestele J., Tuominen H. Xylem cell death: emerging understanding of regulation and function // *J. Exp. Bot.* 2012. Vol. 63, no. 3. P. 1081–1094. doi: 10.1093/jxb/err4382012

Bowman W. P., Barbour M. M., Turnbull M. H., Tissue D. T., Whitehead D., Griffin K. L. Sap flow rates and sapwood density are critical factors in within- and between-tree variation in CO<sub>2</sub> efflux from stems of mature *Dacrydium cupressinum* trees // *New Phytologist.* 2005. Vol. 167, no. 3. P. 815–828.

Burtin P., Jay-Allemand C., Charpentier J., Janin G. Natural wood colouring process in *Juglans* sp. (*J. nigra*, *J. regia* and hybrid *J. nigra* 23 × *J. regia*) depends on native phenolic compounds accumulated in the transition zone between sapwood and heartwood // *Trees.* 1998. No. 12. P. 258–264.

Celedon J., Chiang A., Yuen M., Diaz-Chavez M. L., Madilao L. L., Finnegan P. M., Barbour E. L., Bohlmann J. Heartwood-specific transcriptome and metabolite signatures of tropical sandalwood (*Santalum album*) reveal the final step of (Z)-santalol fragrance biosynthesis // *Plant J.* 2016. Vol. 86, no. 4. P. 289–299. doi: 10.1111/tpj.13162

Celedon J., Bohlmann J. An extended model of heartwood secondary metabolism in formed by functional genomics // *Tree Physiol.* 2017. No. 38. P. 311–319. doi: 10.1093/treephys/tpx070

Dadswell H. E., Hillis W. E. Chapter 1-Wood // *Wood Extractives and their Significance to the Pulp and Paper Industry.* 1962. P. 3–55.

Dehon L., Macheix J. J., Durand M. Involvement of peroxidases in the formation of the brown coloration of heartwood in *Juglans nigra* // *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53, no. 367. P. 303–311.

Dellus V., Mila I., Scalabert A., Menard C., Michon V., Herve du Penhoat C. L. M. Douglas-fir polyphenols and heartwood formation // *Phytochem.* 1997. Vol. 45, no. 8. P. 1573–1578.

- Dubos C., Stracke R., Grotewold E., Weisshaar B., Martin C., Lepiniec L. MYB transcription factors in *Arabidopsis* // Trends Plant Sci. 2010. Vol. 15, no. 10. P. 573–581. doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.005
- Duroux L., Delmotte F., Lancelin J., Keravis G., Jay-Allemand C. Insight into naphthoquinone metabolism:  $\beta$ -glucosidase-catalysed hydrolysis of hydrojuglone  $\beta$ -d-glucopyranoside // Biochem J. 1998. Vol. 333, no. 2. P. 275–283 doi: 10.1042/bj3330275
- Ekeberg D., Flæte P., Eikenes M., Fongen M., Naess-Andresen C. F. Qualitative and quantitative determination of extractives in heartwood of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) by gas chromatography // J. Chromatogr. A. 2006. No. 1109. P. 267–272. doi: 10.1016/j.chroma.2006.01.027
- Farage-Barhom S., Burd S., Sonogo L., Perl-Treves R., Lers A. Expression analysis of the BFN1 nuclease gene promoter during senescence, abscission, and programmed cell death-related processes // J. Exp. Bot. 2008. Vol. 59, no. 12. P. 3247–3258. doi: 10.1093/jxb/ern176
- Fromm J. Cellular aspects of wood formation. Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2013. P. 3–39.
- Fujii T., Suzuki Y., Kuroda N. Bordered pit aspiration in the wood of *Cryptomeria japonica* in relation to air permeability // IAWA J. 1997. Vol. 18, no. 1. P. 69–76.
- Gjerdrum P. Heartwood in relation to age and growth rate in *Pinus sylvestris* L. in Scandinavia // Forestry. 2003. Vol. 76, no. 4. P. 413–424.
- Grover A. Plant chitinases: Genetic diversity and physiological roles // Crit. Rev. Plant Sciences. 2012. Vol. 31. P. 57–73. doi: 10.1080/07352689.2011.616043
- Hachez C., Zelazny E., Chaumont F. Modulating the expression of aquaporin genes in planta: A key to understand their physiological functions? // Biochim. Biophys. Acta – Biomembranes. 2006. Vol. 1758, no. 8. P. 1142–1156.
- Harju A. M., Venäläinen M. Measuring the decay resistance of Scots pine heartwood indirectly by the Folin-Ciocalteu assay // Can. J. Forest Res. 2006. No. 36. P. 1797–1804. doi: 10.1139/x06-074
- Harju K., Vesterinen J., Yli-Kauhaluoma J. Solid-phase synthesis of amino acid derived *N*-unsubstituted pyrazoles via sydnone // Organic Letters. 2009. Vol. 11, no. 11. P. 2219–2221. doi: 10.1021/ol900704b
- Hauch S., Magel E. Extractable activities and protein content of sucrose-phosphate synthase, sucrose synthase and neutral invertase in trunk tissues of *Robinia pseudoacacia* L. are related to cambial wood production and heartwood formation // Planta. 1998. Vol. 207. P. 266–274.
- Hillis W. E. Heartwood and tree exudates. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1987. 268 p.
- Holl W., Lenzian K. Respiration in the sapwood and heartwood of *Robinia pseudoacacia* // Phytochem. 1973. Vol. 12, no. 5. P. 975–977. doi: 10.1016/0031-9422(73)85002-2
- Houle D., LaFlèche M. R., Duchesne L. Sequential extractions of elements in tree rings of balsam fir and white spruce // Comm. Soil Sci. Plant Anal. 2008. Vol. 39, no. 7–8. P. 1138–1146.
- Huang Z., Meilan R., Woeste K. A KNAT3-like homeobox gene from *Juglans nigra* L., JnKNAT3-like, highly expressed during heartwood formation // Plant Cell Rep. 2009. No. 28. P. 1717–1724. doi: 10.1007/s00299-009-0771-6
- Huang Z., Tsai C., Harding S., Meilan R., Woeste K. A Cross-species transcriptional profile analysis of heartwood formation in black walnut // Plant Mol. Biol. Rep. 2010. No. 28. P. 222–230. doi: 10.1007/s11105-009-0144-x
- International association of wood anatomists (IAWA). Multilingual glossary of terms used in wood anatomy. Winterthur, Switzerland: Verlagsanstalt Buchdruckerei Konkordia, 1964. 186 p.
- Koch K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development // Current Opinion in Plant Biol. 2004. No. 7. P. 235–246.
- Kuroda K., Yamashita K., Fujiwara F. Cellular level observation of water loss and the refilling of tracheids in the xylem of *Cryptomeria japonica* during heartwood formation // Trees. 2009. No. 23. P. 1163–1172. doi: 10.1007/s00468-009-0356-6
- Lim K., Harju A., Paulin L., Kärkkäinen K., Paase-la T., Venäläinen M., Auvinen P., Teeri T. Developmental changes in Scots pine transcriptome during heartwood formation // Plant Physiol. 2016. No. 172(3). P. 1–38. doi: 10.1104/pp.16.01082
- Lim K. Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) heartwood formation and wounding stress: A view from the transcriptome // Biol. 2017.
- Macfarlane C., Lardner T., Patterson K., Grigg A. H. A new model for predicting understorey leaf area from biomass in eucalypt forest to test the ecohydrological equilibrium theory // Methods Ecol. Evol. 2010. Vol. 1, no. 4. P. 371–379. doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00038.x
- Magel E., Einig W., Hampp R. Carbohydrates in trees // Developments in Crop Science. 2000. Vol. 26. P. 317–336. doi: 10.1016/S0378-519X(00)80016-1
- Magel E., Holl W. Storage carbohydrates and adenine nucleotides in trunks of *Fagus sylvatica* L. in relation to discolored wood // Holzforschung. 1993. Vol. 47, no. 1. P. 19–24. doi: 10.1515/hfsg.1993.47.1.19
- Magel E., Hübner B. Distribution of phenylalanine ammonia lyase and chalcone synthase within trunks of *Robinia pseudoacacia* L. // Botanica Acta. 1997. Vol. 110, no. 4. doi: 10.1111/j.1438-8677.1997.tb00646.x
- Mancuso S., Shabala S. Waterlogging signalling and tolerance in plants. Berlin; Heidelberg, Germany: Springer, 2010. P. 1–294.
- Mayer I., Koch G., Puls J. Topochemical investigations of wood extractives and their influence on colour changes in American black cherry (*Prunus serotina* Borkh.) // Holzforschung. 2006. Vol. 60, no. 6. P. 589–594. doi: 10.1515/HF.2006.100
- Meerts P. Mineral nutrient concentrations in sapwood and heartwood: a literature review // Ann. For. Sci. 2002. Vol. 59. P. 713–722. doi: 10.1051/forest:2002059
- Morais M. C., Pereira H. Variation of extractives content in heartwood and sapwood of *Eucalyptus globulus* trees // Wood Sci. Technol. 2012. Vol. 46, no. 4. P. 709–719.



- Nair M. N. B., Shah J. J., Pandalai R. C. Wood anatomy and histochemical changes of sapwood during heartwood formation in *Bridelia retusa* Spreng // Plant Sci. 1981. Vol. 90, no. 5. P. 425–433.
- Nakada R., Fujisawa Y., Hirakawa Y. Soft X-ray observation of water distribution in the stem of *Cryptomeria japonica* D. Don I: General description of water distribution // J. Wood Sci. 1999. Vol. 45. P. 188–193.
- Nakada R. Within-stem water distribution in living trees of some conifers // IAWA J. 2006. Vol. 27, no. 3. P. 313–327. doi: 10.1163/22941932-90000157
- Nakada R. Variation of water distribution within living stems and its causal factors in *Cryptomeria japonica* (L. f.) D. Don // Bull. of the Forest Tree Breeding Center (Japan). 2007. No. 23. P. 121–254.
- Nakada R., Fukatsu E. Seasonal variation of heartwood formation in *Larix kaempferi* // Tree Physiol. 2012. Vol. 32. P. 1497–1508. doi: 10.1093/treephys/tps108
- Nakano Y., Yamaguchi M., Endo H., Rejab N. A., Misato O. NAC–MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants // Front. Plant Sci. 2015. doi: 10.3389/fpls.2015.00288
- Nawrot M., Pazdrowski W., Szymański M. Dynamics of heartwood formation and axial and radial distribution of sapwood and heartwood in stems of European larch (*Larix decidua* Mill.) // J. Forest Sci. 2008. No. 54. P. 409–417.
- Nilsson M., Wikman S., Eklund L. Induction of discolored wood in Scots pine (*Pinus sylvestris*) // Tree Physiol. 2002. Vol. 22, no. 5. P. 331–338.
- Okada N., Hirakawa Y., Katayama Y. Application of activable tracers to investigate radial movement of minerals in the stem of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) // J. Wood Sci. 2011. Vol. 57, no. 5. P. 421–428.
- Okada N., Hirakawa Y., Katayama Y. Radial movement of sapwood-injected rubidium into heartwood of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) in the growing period // J. Wood Sci. 2012. No. 58. P. 1–8. doi: 10.1007/s10086-011-1218-6
- Onuorah E. O. The efficacy of heartwood extracts of *Azelia africana* and *Erythrophleum suaveolens* as wood preservative // Journal-Timber Development Association of India. 2001. Vol. 47, no. 1/2. P. 10–26.
- Paasela T., Lim K. J., Pietiäinen M., Teeri T. H. The O-methyltransferase PMT 2 mediates methylation of pinosylvin in Scots pine // New Phytologist. 2017. Vol. 214, no. 4. P. 1537–1550.
- Panshin A. J., de Zeeuw C. Textbook of wood technology. Toronto; Orlando, Canada: McGraw-Hill, 1980. 722 p.
- Partanen J., Harju A., Venäläinen M., Kärkkäinen K. Highly heritable heartwood properties of Scots pine: possibilities for selective seed harvest in seed orchards // Can. J. For. Res. 2011. No. 41. P. 1993–2000. doi: 10.1139/X11-116
- Pfautsch S., Macfarlane C., Ebdon N., Meder R. Assessing sapwood depth and wood properties in *Eucalyptus* and *Corymbia* spp. using visual methods and near infrared spectroscopy (NIR) // Trees. 2012. Vol. 26, no. 3. P. 963–974.
- Plomion C., Leprovost G., Stokes A. Wood formation in trees // Plant Physiol. 2001. Vol. 127, no. 4. P. 1513–1523.
- Račko V., Kačík F., Mišíková O., Hlaváč P., Čunderlík I., Ďurkovič J. The onset of hazel wood formation in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) stems // Ann. Forest Sci. 2018. Vol. 75, no. 3. 82 p.
- Rust S. Comparison of three methods for determining the conductive xylem area of Scots pine (*Pinus sylvestris*) // Forestry. 1999. Vol. 72, no. 2. P. 103–108.
- Saito K., Mitsutani T., Imai T., Matsushita Y., Fukushima K. Discriminating the indistinguishable sapwood from heartwood in discolored ancient wood by direct molecular mapping of specific extractives using time-of-flight secondary ion mass spectrometry // Anal. Chem. 2008. Vol. 80, no. 5. P. 1552–1557.
- Scheffer T. C., Cowling E. Natural resistance of wood to microbial deterioration // Ann. Rev. Phytopathol. 1966. Vol. 4. P. 147–170.
- Schultz T. P., Nicholas D. D. Naturally durable heartwood: Evidence for a proposed dual defensive function of the extractives // Phytochem. 2000. Vol. 54. P. 47–52.
- Shain L., Mackay J. P. G. Seasonal fluctuation in respiration if aging xylem in relation to heartwood formation in *Pinus radiata* // Can. J. Bot. 1973. Vol. 51. P. 737–741.
- Smith A. L., Campbell C. L., Walker D. B., Hannover J. W. Extracts from black locust as wood preservatives: Extraction of decay resistance from black locust heartwood // Holzforschung. 1989. Vol. 43. P. 293–296.
- Sperry J. S., Perry A. H., Sullivan J. E. M. Pit membrane degradation and air-embolism formation in aging xylem vessels of *Populus tremuloides* // J. Exp. Bot. 1991. Vol. 42, no. 244. P. 1399–1406.
- Spicer R. Senescence in secondary xylem: Heartwood formations an active developmental program // Physiol. Ecol. 2005. P. 457–475. doi: 10.1016/B978-012088457-5/50024-1
- Spicer R., Holbrook N. M. Parenchyma cell respiration and survival in secondary xylem: does metabolic activity decline with cell age // Plant Cell Env. 2007. Vol. 30. P. 934–943.
- Tanaka T., Jiang Z. H., Kouno I. Distribution of ellagic acid derivatives and a diarylheptanoid in wood of *Platycarya strobilacea* // Phytochem. 1998. Vol. 47, no. 5. P. 851–854.
- Taylor A., Gartner B., Morrell J. Heartwood formation and natural durability – a review // Wood Fiber Sci. 2002. Vol. 34, no. 4. P. 587–611.
- Wang L., Li X., Lian H., Ni D., He Y., Chen X., Ruan Y. Evidence that high activity of vacuolar invertase is required for cotton fiber and arabidopsis root elongation through osmotic dependent and independent pathways, respectively // Plant Physiol. 2010. Vol. 154. P. 744–756.
- Winter H., Huber S. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: Localization and regulation of activity of key enzymes // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2000. Vol. 35, no. 4. P. 253–289.
- Xu D., Sung S., Loboda T., Kormanik P., Black C. Characterization of sucrolysis via the uridine diphosphate and pyrophosphate-dependent sucrose synthase pathway // Plant Physiol. 1989. Vol. 90. P. 635–642.
- Yamamoto K. Yearly and seasonal process of maturation of ray parenchyma cells in *Pinus* species // Res. Bull. Coll. Exp. For. Hokkaido Univ. 1982. Vol. 39. P. 245–296.

Yang J., Kamdem D., Keathley D., Han K. Seasonal changes in gene expression at the sapwood – heartwood transition zone of black locust (*Robinia pseudo-acacia*) revealed by cDNA microarray analysis // *Tree Physiol.* 2004. Vol. 24. P. 461–474.

Ziegler H. Biologische Aspekte der Kernholzbildung // *HOLZ als Roh- und Werkstoff.* 1968. Vol. 26, no. 2. P. 61–68.

Поступила в редакцию 12.10.2020

## References

Ivanov L. A. Anatomiya rastenii [Plant anatomy]. Leningrad: Goslestekhizdat, 1939. P. 83–96.

Ugolev B. N. Drevesinovedenie i tovarovedenie kommercheskikh porod: Ucheb. posobie k provedeniyu laboratornoi raboty dlya studentov po spets. 022900 [Wood science and commodity science of commercial breeds: A textbook for laboratory work for students of specialty 022900]. Moscow: MGUL, 2004. 76 p.

Vanin S. I. Drevesinovedenie [Wood science]. Leningrad: Goslestekhizdat, 1949. 472 p.

Bamber R. K., Fukazawa K. Sapwood and heartwood: A review. *Forestry Abstr.* 1985. Vol. 46. P. 567–580.

Beekwilder J., Houwelingen A., Cankar K., Dijk A., Jong R., Stoopen G., Bouwmeester H., Achkar J., Sonke T., Bosch D. Valencene synthase from the heartwood of Nootka cypress (*Callitropsis nootkatensis*) for biotechnological production of valencene. *Plant Biotechnol. J.* 2014. Vol. 12, no. 2. P. 174–182. doi: 10.1111/pbi.12124

Belt T., Keplinger T., Hänninen T., Rautkaria L. Cellular level distributions of Scots pine heartwood and knot heartwood extractives revealed by Raman spectroscopy imaging. *Industrial Crops & Products.* 2017. Vol. 108. P. 327–335. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.06.056

Bergström B. Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris*. *Forestry.* 2003. Vol. 76, no. 1. P. 45–53. doi: 10.1093/forestry/76.1.45

Bergström B., Gustafsson G., Gref R., Ericsson A. Seasonal changes of pinosylvin distribution in the sapwood/heartwood boundary of *Pinus sylvestris*. *Trees.* 1999. No. 14. P. 65–71. doi: 10.1007/PL00009754

Beritognolo I., Magel E., Abdel-Latif A., Charpentier J., Jay-Allemand C., Breton C. Expression of genes encoding chalcone synthase, flavanone 3-hydroxylase and dihydroflavonol 4-reductase correlates with flavanone accumulation during heartwood formation in *Juglans nigra*. *Tree Physiol.* 2002. No. 22. P. 291–300. doi: 10.1093/treephys/22.5.291

Bollhöner B., Prestele J., Tuominen H. Xylem cell death: emerging understanding of regulation and function. *J. Exp. Bot.* 2012. Vol. 63, no. 3. P. 1081–1094. doi: 10.1093/jxb/err438

Bowman W. P., Barbour M. M., Turnbull M. H., Tissue D. T., Whitehead D., Griffin K. L. Sap flow rates and sapwood density are critical factors in within- and between-tree variation in CO<sub>2</sub> efflux from stems of mature *Dacrydium cupressinum* trees. *New Phytologist.* 2005. Vol. 167, no. 3. P. 815–828.

Burtin P., Jay-Allemand C., Charpentier J., Janin G. Natural wood colouring process in *Juglans* sp. (*J. nigra*, *J. regia* and hybrid *J. nigra* 23 × *J. regia*) depends on native phenolic compounds accumulated in the transition zone between sapwood and heartwood. *Trees.* 1998. No. 12. P. 258–264.

Celedon J., Chiang A., Yuen M., Diaz-Chavez M. L., Madilao L. L., Finnegan P. M., Barbour E. L., Bohlmann J. Heartwood-specific transcriptome and metabolite signatures of tropical sandalwood (*Santalum album*) reveal the final step of (Z)-santalol fragrance biosynthesis. *Plant J.* 2016. Vol. 86, no. 4. P. 289–299. doi: 10.1111/tpj.13162

Celedon J., Bohlmann J. An extended model of heartwood secondary metabolism in formed by functional genomics. *Tree Physiol.* 2017. No. 38. P. 311–319. doi: 10.1093/treephys/tpx070

Dadswell H. E., Hillis W. E. Chapter 1-Wood. *Wood Extractives and their Significance to the Pulp and Paper Industry.* 1962. P. 3–55.

Dehon L., Macheix J. J., Durand M. Involvement of peroxidases in the formation of the brown coloration of heartwood in *Juglans nigra*. *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53, no. 367. P. 303–311.

Dellus V., Mila I., Scalabert A., Menard C., Michon V., Herve du Penhoat C. L. M. Douglas-fir polyphenols and heartwood formation. *Phytochem.* 1997. Vol. 45, no. 8. P. 1573–1578.

Dubos C., Stracke R., Grotewold E., Weisshaar B., Martin C., Lepiniec L. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* 2010. Vol. 15, no. 10. P. 573–581. doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.005

Duroux L., Delmotte F., Lancelin J., Keravis G., Jay-Allemand C. Insight into naphthoquinone metabolism:  $\beta$ -glucosidase-catalysed hydrolysis of hydrojuglone  $\beta$ -D-glucopyranoside. *Biochem J.* 1998. Vol. 333, no. 2. P. 275–283. doi: 10.1042/bj3330275

Ekeberg D., Flæte P., Eikenes M., Fongen M., Naess-Andresen C. F. Qualitative and quantitative determination of extractives in heartwood of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) by gas chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2006. No. 1109. P. 267–272. doi: 10.1016/j.chroma.2006.01.027

Farage-Barhom S., Burd S., Sonogo L., Perle Treves R., Lers A. Expression analysis of the BFN1 nuclease gene promoter during senescence, abscission, and programmed cell death-related processes. *J. Exp. Bot.* 2008. Vol. 59, no. 12. P. 3247–3258. doi: 10.1093/jxb/ern176

Fromm J. Cellular aspects of wood formation. Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2013. P. 3–39.

Fujii T., Suzuki Y., Kuroda N. Bordered pit aspiration in the wood of *Cryptomeria japonica* in relation to air permeability. *IAWA J.* 1997. Vol. 18, no. 1. P. 69–76.

Gjerdrum P. Heartwood in relation to age and growth rate in *Pinus sylvestris* L. in Scandinavia. *Forestry.* 2003. Vol. 76, no. 4. P. 413–424.

Grover A. Plant chitinases: Genetic diversity and physiological roles. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2012. Vol. 31. P. 57–73. doi: 10.1080/07352689.2011.616043

- Hachez C., Zelazny E., Chaumont F. Modulating the expression of aquaporin genes in planta: A key to understand their physiological functions? *Biochim. Biophys. Acta – Biomembranes*. 2006. Vol. 1758, no. 8. P. 1142–1156.
- Harju A. M., Venalainen M. Measuring the decay resistance of Scots pine heartwood indirectly by the Folin-Ciocalteu assay. *Can. J. Forest Res.* 2006. No. 36. P. 1797–1804. doi: 10.1139/x06-074
- Harju K., Vesterinen J., Yli-Kauhaluoma J. Solid-phase synthesis of amino acid derived *N*-unsubstituted pyrazoles via sydrones. *Organic Letters*. 2009. Vol. 11, no. 11. P. 2219–2221. doi: 10.1021/ol900704b
- Hauch S., Magel E. Extractable activities and protein content of sucrose-phosphate synthase, sucrose synthase and neutral invertase in trunk tissues of *Robinia pseudoacacia* L. are related to cambial wood production and heartwood formation. *Planta*. 1998. Vol. 207. P. 266–274.
- Hillis W. E. Heartwood and tree exudates. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1987. 268 p.
- Holl W., Lenzian K. Respiration in the sapwood and heartwood of *Robinia pseudoacacia*. *Phytochem*. 1973. Vol. 12, no. 5. P. 975–977. doi: 10.1016/0031-9422(73)85002-2
- Houle D., LaFlèche M. R., Duchesne L. Sequential extractions of elements in tree rings of balsam fir and white spruce. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 2008. Vol. 39, no. 7–8. P. 1138–1146.
- Huang Z., Meilan R., Woeste K. A KNAT3-like homeobox gene from *Juglans nigra* L., JnKNAT3-like, highly expressed during heartwood formation. *Plant Cell Rep.* 2009. No. 28. P. 1717–1724. doi: 10.1007/s00299-009-0771-6
- Huang Z., Tsai C., Harding S., Meilan R., Woeste K. A Cross-species transcriptional profile analysis of heartwood formation in black walnut. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2010. No. 28. P. 222–230. doi: 10.1007/s11105-009-0144-x
- International association of wood anatomists (IAWA). Multilingual glossary of terms used in wood anatomy. Winterthur, Switzerland: Verlagsanstalt Buchdruckerei Konkordia, 1964. 186 p.
- Koch K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biol.* 2004. No. 7. P. 235–246.
- Kuroda K., Yamashita K., Fujiwara F. Cellular level observation of water loss and the refilling of tracheids in the xylem of *Cryptomeria japonica* during heartwood formation. *Trees*. 2009. No. 23. P. 1163–1172. doi: 10.1007/s00468-009-0356-6
- Lim K., Harju A., Paulin L., Kärkkäinen K., Paase-la T., Venäläinen M., Auvinen P., Teeri T. Developmental changes in Scots pine transcriptome during heartwood formation. *Plant Physiol.* 2016. No. 172(3). P. 1–38. doi: 10.1104/pp.16.01082
- Lim K. Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) heartwood formation and wounding stress: A view from the transcriptome. *Biol.* 2017.
- Macfarlane C., Lardner T., Patterson K., Grigg A. H. A new model for predicting understorey leaf area from biomass in eucalypt forest to test the ecohydrological equilibrium theory. *Methods Ecol. Evol.* 2010. Vol. 1, no. 4. P. 371–379. doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00038.x
- Magel E., Einig W., Hampp R. Carbohydrates in trees. *Developments in Crop Science*. 2000. Vol. 26. P. 317–336. doi: 10.1016/S0378-519X(00)80016-1
- Magel E., Holl W. Storage carbohydrates and adenine nucleotides in trunks of *Fagus sylvatica* L. in relation to discolored wood. *Holzforschung*. 1993. Vol. 47, no. 1. P. 19–24. doi: 10.1515/hfsg.1993.47.1.19
- Magel E., Hübner B. Distribution of phenylalanine ammonia lyase and chalcone synthase within trunks of *Robinia pseudoacacia* L. *Botanica Acta*. 1997. Vol. 110, no. 4. doi: 10.1111/j.1438-8677.1997.tb00646.x
- Mancuso S., Shabala S. Waterlogging signalling and tolerance in plants. Berlin; Heidelberg, Germany: Springer, 2010. P. 1–294.
- Mayer I., Koch G., Puls J. Topochemical investigations of wood extractives and their influence on colour changes in American black cherry (*Prunus serotina* Borkh.). *Holzforschung*. 2006. Vol. 60, no. 6. P. 589–594. doi: 10.1515/HF.2006.100
- Meerts P. Mineral nutrient concentrations in sapwood and heartwood: a literature review. *Ann. For. Sci.* 2002. Vol. 59. P. 713–722. doi: 10.1051/forest:2002059
- Morais M. C., Pereira H. Variation of extractives content in heartwood and sapwood of *Eucalyptus globulus* trees. *Wood Sci. Technol.* 2012. Vol. 46, no. 4. P. 709–719.
- Nair M. N. B., Shah J. J., Pandalai R. C. Wood anatomy and histochemical changes of sapwood during heartwood formation in *Bridelia retusa* Spreng. *Plant Sci.* 1981. Vol. 90, no. 5. P. 425–433.
- Nakada R., Fujisawa Y., Hirakawa Y. Soft X-ray observation of water distribution in the stem of *Cryptomeria japonica* D. Don I: General description of water distribution. *J. Wood Sci.* 1999. Vol. 45. P. 188–193.
- Nakada R. Within-stem water distribution in living trees of some conifers. *IAWA J.* 2006. Vol. 27, no. 3. P. 313–327. doi: 10.1163/22941932-90000157
- Nakada R. Variation of water distribution within living stems and its causal factors in *Cryptomeria japonica* (L. f.) D. Don. *Bull. of the Forest Tree Breeding Center (Japan)*. 2007. No. 23. P. 121–254.
- Nakada R., Fukatsu E. Seasonal variation of heartwood formation in *Larix kaempferi*. *Tree Physiol.* 2012. Vol. 32. P. 1497–1508. doi: 10.1093/treephys/tps108
- Nakano Y., Yamaguchi M., Endo H., Rejab N. A., Misato O. NAC–MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants. *Front. Plant Sci.* 2015. doi: 10.3389/fpls.2015.00288
- Nawrot M., Pazdrowski W., Szymański M. Dynamics of heartwood formation and axial and radial distribution of sapwood and heartwood in stems of European larch (*Larix decidua* Mill.). *J. Forest Sci.* 2008. No. 54. P. 409–417.
- Nilsson M., Wikman S., Eklund L. Induction of discolored wood in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Tree Physiol.* 2002. Vol. 22, no. 5. P. 331–338.
- Okada N., Hirakawa Y., Katayama Y. Application of activable tracers to investigate radial movement of minerals in the stem of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). *J. Wood Sci.* 2011. Vol. 57, no. 5. P. 421–428.

Okada N., Hirakawa Y., Katayama Y. Radial movement of sapwood-injected rubidium into heartwood of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) in the growing period. *J. Wood. Sci.* 2012. No. 58. P. 1–8. doi: 10.1007/s10086-011-1218-6

Onuorah E. O. The efficacy of heartwood extracts of *Azelia africana* and *Erythrophleum suaveolens* as wood preservative. *Journal-Timber Development Association of India.* 2001. Vol. 47, no. 1/2. P. 10–26.

Paasela T., Lim K. J., Pietiäinen M., Teeri T. H. The O-methyltransferase PMT 2 mediates methylation of pinosylvin in Scots pine. *New Phytologist.* 2017. Vol. 214, no. 4. P. 1537–1550.

Panshin A. J., de Zeeuw C. Textbook of wood technology. Toronto, Orlando, Canada: McGraw-Hill, 1980. 722 p.

Partanen J., Harju A., Venäläinen M., Kärkkäinen K. Highly heritable heartwood properties of Scots pine: possibilities for selective seed harvest in seed orchards. *Can. J. For. Res.* 2011. No. 41. P. 1993–2000. doi: 10.1139/X11-116

Pfautsch S., Macfarlane C., Ebdon N., Meder R. Assessing sapwood depth and wood properties in *Eucalyptus* and *Corymbia* spp. using visual methods and near infrared spectroscopy (NIR). *Trees.* 2012. Vol. 26, no. 3. P. 963–974.

Plomion C., Leprovost G., Stokes A. Wood formation in trees. *Plant Physiol.* 2001. Vol. 127, no. 4. P. 1513–1523.

Račko V., Kačík F., Mišíková O., Hlaváč P., Čunderlík I., Ďurkovič J. The onset of hazel wood formation in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) stems. *Ann. Forest Sci.* 2018. Vol. 75, no. 3. 82 p.

Rust S. Comparison of three methods for determining the conductive xylem area of Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Forestry.* 1999. Vol. 72, no. 2. P. 103–108.

Saito K., Mitsutani T., Imai T., Matsushita Y., Fukushima K. Discriminating the indistinguishable sapwood from heartwood in discolored ancient wood by direct molecular mapping of specific extractives using time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2008. Vol. 80, no. 5. P. 1552–1557.

Scheffer T. C., Cowling E. Natural resistance of wood to microbial deterioration. *Ann. Rev. Phytopathol.* 1966. Vol. 4. P. 147–170.

Schultz T. P., Nicholas D. D. Naturally durable heartwood: Evidence for a proposed dual defensive function of the extractives. *Phytochem.* 2000. Vol. 54. P. 47–52.

Shain L., Mackay J. P. G. Seasonal fluctuation in respiration of aging xylem in relation to heartwood formation in *Pinus radiata*. *Can. J. Bot.* 1973. Vol. 51. P. 737–741.

Smith A. L., Campbell C. L., Walker D. B., Hanover J. W. Extracts from black locust as wood preservatives: Extraction of decay resistance from black locust heartwood. *Holzforschung.* 1989. Vol. 43. P. 293–296.

Sperry J. S., Perry A. H., Sullivan J. E. M. Pit membrane degradation and air-embolism formation in aging xylem vessels of *Populus tremuloides*. *J. Exp. Bot.* 1991. Vol. 42, no. 244. P. 1399–1406.

Spicer R. Senescence in secondary xylem: Heartwood formations an active developmental program. *Physiol. Ecol.* 2005. P. 457–475. doi: 10.1016/B978-012088457-5/50024-1

Spicer R., Holbrook N. M. Parenchyma cell respiration and survival in secondary xylem: does metabolic activity decline with cell age. *Plant Cell Env.* 2007. Vol. 30. P. 934–943.

Tanaka T., Jiang Z. H., Kouno I. Distribution of ellagic acid derivatives and a diarylheptanoid in wood of *Platycarya strobilacea*. *Phytochem.* 1998. Vol. 47, no. 5. P. 851–854.

Taylor A., Gartner B., Morrell J. Heartwood formation and natural durability – a review. *Wood Fiber Sci.* 2002. Vol. 34, no. 4. P. 587–611.

Wang L., Li X., Lian H., Ni D., He Y., Chen X., Ruan Y. Evidence that high activity of vacuolar invertase is required for cotton fiber and arabidopsis root elongation through osmotic dependent and independent pathways, respectively. *Plant Physiol.* 2010. Vol. 154. P. 744–756.

Winter H., Huber S. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: Localization and regulation of activity of key enzymes. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2000. Vol. 35, no. 4. P. 253–289.

Xu D., Sung S., Loboda T., Kormanik P., Black C. Characterization of sucrolysis via the uridine diphosphate and pyrophosphate-dependent sucrose synthase pathway. *Plant Physiol.* 1989. Vol. 90. P. 635–642.

Yamamoto K. Yearly and seasonal process of maturation of ray parenchyma cells in *Pinus* species. *Res. Bull. Coll. Exp. For. Hokkaido Univ.* 1982. Vol. 39. P. 245–296.

Yang J., Kamdem D., Keathley D., Han K. Seasonal changes in gene expression at the sapwood – heartwood transition zone of black locust (*Robinia pseudo-acacia*) revealed by cDNA microarray analysis. *Tree Physiol.* 2004. Vol. 24. P. 461–474.

Ziegler H. Biologische Aspekte der Kernholzbildung. *HOLZ als Roh- und Werkstoff.* 1968. Vol. 26, no. 2. P. 61–68.

Received October 12, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Галибина Наталия Алексеевна

заместитель директора по научной работе, д. б. н.  
Институт леса КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: galibina@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 768160

## CONTRIBUTORS:

### Galibina, Natalia

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

**Никерова Ксения Михайловна**

руководитель аналитической лаборатории, к. б. н.  
Институт леса КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: knikerova@yandex.ru  
тел.: (8142) 768160

**Мощенская Юлия Леонидовна**

старший научный сотрудник лаб. физиологии и цитологии  
древесных растений, к. б. н.  
Институт леса КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: tselishcheva.yulia@mail.ru  
тел.: (8142) 768160

**Ершова Мария Алексеевна**

аспирант лаб. физиологии и цитологии древесных  
растений  
Институт леса КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: santa\_maria\_gera@mail.ru  
тел.: (8142) 768160

**Nikerova, Ksenia**

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

**Moshchenskaya, Yulia**

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

**Yershova, Maria**

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

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 577.3

### СОПРЯЖЕННОСТЬ КОНФОРМАЦИОННЫХ И ФАЗОВЫХ СОСТОЯНИЙ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА В СОЛЕВЫХ РАСТВОРАХ ПО ДАННЫМ МЕТОДА ЭПР СПИНОВЫХ МЕТОК

**С. П. Рожков, А. С. Горюнов, М. Ю. Крупнова**

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

Использование сывороточных альбуминов (СА) в модельных системах при исследовании биологической активности химических соединений и наноматериалов, а также физико-химических, в частности фазовых, свойств биологических жидкостей, в том числе нуклеоплазмы и цитоплазмы живой клетки, требует более глубоких представлений о взаимосвязи конформационных (структурно-динамических) состояний белковых молекул с фазовыми состояниями белковых дисперсий в широком диапазоне температур и составов. Обычно используемые при изучении этой взаимосвязи совместное построение и анализ кривой стабильности белка и фазовых диаграмм белкового раствора существенно осложнены в случае сывороточного альбумина повышенной склонностью этого белка к агрегации. В настоящей работе для этих целей предлагается экспериментально-теоретический подход, основанный на применении электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновых меток (малеимида-ТЕМПО и дихлортриазин-ТЕМПО), ковалентно связанных с молекулой белка и чувствительных к изменению как структурно-динамического состояния белковых молекул, так и фазового состояния белковых растворов (дисперсий). Представлены данные о характеристиках подвижности спин-меток (времени корреляции, термодинамических функциях, константе равновесия), отражающих состояние внутри- и межмолекулярных взаимодействий молекул СА человека. Показано, что переходы на температурных зависимостях этих характеристик от температуры и концентрации NaCl, CaCl<sub>2</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, сахарозы, полиэтиленгликоля и тяжелой воды отражают взаимопревращения низко- и высокотемпературного конформеров белка и их агрегатов, а также фазовые переходы типа жидкость-жидкость, в том числе реэнтрантные. На основе полученных результатов предложена фазовая диаграмма дисперсии СА, описывающая фазовые переходы типа жидкость-жидкость вблизи температур холодной и тепловой денатурации с учетом роли нативных конформеров белка, их агрегатов и переходов между ними в области физиологических температур.

**Ключевые слова:** белковый раствор; электронный парамагнитный резонанс; взаимодействие белков с низко- и высокомолекулярными веществами; фазовая диаграмма.

## S. P. Rozhkov, A. S. Goryunov, M. Yu. Krupnova. INTERRELATION OF SERUM ALBUMIN CONFORMATIONAL AND PHASE STATES IN SALT SOLUTIONS AS STUDIED BY EPR SPIN LABELING

The use of serum albumins (SA) in model systems in the study of the biological activity of chemical compounds and nanomaterials, as well as the physicochemical properties, in particular, phase properties of biological fluids, including the nucleoplasm and cytoplasm of living cells, requires a deeper understanding of the relationship of conformational (structural-dynamic) states of protein molecules with phase states of protein dispersions in a wide range of temperatures and compositions. The joint plotting and analysis of the protein stability curve and phase diagrams of protein solutions commonly used in the study of this relationship are significantly complicated by this protein's elevated tendency to aggregate. In this paper, an experimental-theoretical approach, based on the application of the electron spin resonance (ESR) of spin labels (maleimido-TEMPO and dichlorotriazine-TEMPO spin labels) covalently bound to the protein and sensitive to changes in both the structural-dynamic state of protein molecules and the phase state of protein dispersions, is proposed for studying this relationship. Data on the mobility characteristics of the spin labels (correlation times, state functions, equilibrium constants), indicating the state of intra- and intermolecular interactions of SA molecules, are presented. Transitions in temperature dependences of these characteristics on the temperature and concentration of NaCl, CaCl<sub>2</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, sucrose, polyethylene glycol, and heavy water have been shown to reflect the interconversions of protein conformers and their aggregates as well as liquid-liquid phase transitions, including those of a reentrant type. Based on the results, a phase diagram of the SA dispersion describing liquid-liquid phase transitions in the temperature range of cold and thermal denaturation and taking into account the role of native protein conformers, their aggregates and transitions between them in the physiological interval has been proposed.

**Key words:** protein solution; electron spin resonance; protein interactions with low- and high-molecular weight substances; phase diagram.

### Введение

Из всего многообразия белков сывороточные альбумины (СА) наиболее часто служат в качестве модельных объектов для анализа биологической активности химических соединений и наночастиц в различных областях биофизических исследований. К примеру, они используются в качестве сенсоров конформационных и фазовых изменений при взаимодействии биомолекул с наночастицами различной природы при образовании белковой короны [Treuel et al., 2014], для функционализации бионаноконъюгатов [Li et al., 2016], индукции и ингибирования процессов фибриллообразования [Zaman et al., 2014]. Это обусловлено как доступностью и дешевизной сывороточных альбуминов, так и относительной полнотой знания [Ландау, 1981; Peters, 1996] их конформационного состояния, межмолекулярного взаимодействия и фазового поведения в различных дисперсиях, моделирующих как состояние молекулярного краудинга, так и соответствующего микроокружения белков. Особое значение это приобретает в свете обнаруженных в последнее время способностей различного типа безмембранных органелл в цитоплазме к фазо-

вым переходам (ФП) типа жидкость-жидкость (L-L), участником которых обычно являются внутренне неупорядоченные белки [Dignon et al., 2019]. Хотя молекулярные механизмы таких переходов остаются во многом неизвестными [Shin, Brangwynne, 2017], установлено, что склонность к L-L переходам определяется термореактивным поведением аминокислотных остатков белковых цепей. Это позволяет проводить направленную разработку таких последовательностей с желаемыми свойствами по отношению к нижним (НКТП) и верхним (ВКТП) критическим температурам L-L переходов [Dignon et al., 2019].

Однако часто микроокружение обеспечивается солевым составом. При этом предполагается [Uversky et al., 2001], что потенциал связывания белков с ионами поливалентных металлов является важным фактором индуцированных металлом конформационных изменений белка, приводящих к появлению частично свернутых интермедиатов. Даже низкие концентрации некоторых металлов могут непосредственно вызывать образование фибрилл. В свою очередь, наличие специфических центров связывания ионов и температурные зависимости их эффективности определяются аминокислотной

последовательностью [Ma, Cui, 2006]. Недавно на основе анализа поведения кривых стабильности белка было установлено, что расположение в ряду Гоффмейстера анионов и катионов, обеспечивающих ион-специфические эффекты биомолекулярных реакций, также существенно зависит от температуры [Senske et al., 2016]. Таким образом, варьируя концентрации различных солей или pH растворов нативного глобулярного белка, можно менять зарядовое состояние белка и влиять на его внутреннюю неупорядоченность, тем самым регулируя положение L–L переходов на фазовой диаграмме. Так, было показано [Juarez et al., 2009a], что сывороточный альбумин человека (САЧ) при уменьшении pH и в присутствии солей при комнатных и повышенных температурах способен образовывать фибриллы, путь к формированию которых и их структура существенно зависят от микроокружения. Эта способность определяется повышенной склонностью альбумина к олигомеризации и агрегации в целом. При этом остается открытым вопрос о последовательности образования фибрилл: в один шаг непосредственно из раствора мономеров или в два шага через предварительное образование олигомеров [Juarez et al., 2009b; Auer et al., 2012].

Потенциальные возможности альбумина к образованию агрегатов и/или олигомеров, наличие фракций белка, отличающихся по типу и количеству переносимых низкомолекулярных соединений, обуславливает необходимость разработки более полной фазовой диаграммы (ФД) дисперсии СА, которая увязывала бы его структурно динамическое состояние с фазовыми свойствами (термодинамической устойчивостью) дисперсии [Zhang et al., 2006].

Мы полагаем, что ФП L–L сопряжены с денатурационными переходами, как тепловыми, так и холодowymi. При этом в состоянии кластеров (микрофаз) плотной жидкости [Dumetz et al., 2008; Vekilov, 2012] оказываются метастабильные интермедиаты сворачивания типа расплавленной и/или предрасплавленной глобулы [Рожков, Горюнов, 2017, 2019]. Как правило, критическая температура высокотемпературного перехода (система с НКТП) снижается с ростом концентрации электролита [Matsarskaia et al., 2016, 2018], а критическая температура низкотемпературного перехода (система с ВКТП) сначала повышается в присутствии солей, а затем понижается, как это показано экспериментально для лизоцима [Grigsby et al., 2001] и теоретически для системы вода-белок-соль [Rozhkov, Goryunov, 2010, 2014]. Аналогичные явления наблюдаются и в присутствии водорастворимых полимеров

типа полиэтиленгликолей (ПЭГ) [Wang et al., 2014], которые часто используются для создания эффектов молекулярного краудинга.

Кластеры плотной жидкости содержат до тысячи молекул белка и возникают вблизи фазовой границы L–L переходов, являясь результатом баланса сил коллоидного взаимодействия: короткодействующего потенциала притяжения и дальнедействующего отталкивания [Vekilov, 2012]. В связи с этим общая задача расшифровки механизмов образования и стабилизации кластеров белков как фазовых явлений оказывается тесным образом сопряжена с проблемой белкового фолдинга и требует учета особенностей конформационного состояния молекул белков в физиологической области температур и составов белковых растворов. Как показано современными методами с использованием Ферстеровского переноса энергии [Aznauryan et al., 2013], наряду с молекулами белка в нативном состоянии в области физиологических температур всегда присутствует большая фракция белка в состоянии, близком к денатурированному. Вместе с тем нативное состояние является наиболее стабильным в этом диапазоне, что позволяет экспериментальным путем строить кривую стабильности белка [Sanfelice, Temussi, 2016; Alfano et al., 2017], которая представляет собой температурную зависимость разности свободной энергии между денатурированными и нативными молекулами  $\Delta G_N^D = G^D - G^N$ . Как следует из ее колоколообразной формы, полная дестабилизация нативных частиц происходит в двух нулевых точках  $\Delta G_N^D = 0$ , расположенных в области низких и высоких температур, а стабилизация (максимум  $\Delta G_N^D$ ) – в области физиологических температур. Присутствие любых агентов, (де)стабилизирующих структуру белка или воды в растворе, равно как и адсорбентов, в первую очередь будет влиять на форму кривой стабилизации, что дает возможность изучать и анализировать их активность [Alfano et al., 2017].

Одним из методов, которые позволяют параллельно изучать как конформационное состояние молекул, так и межмолекулярные взаимодействия и образование комплексов (ассоциатов) белковых молекул в растворе, является метод ЭПР спиновых меток и зондов [Лихтенштейн, 1974; Кузнецов, 1976; Метод..., 1979]. Конформационные и фазовые переходы молекул белка с ковалентно связанными спин-метками должны неизбежно сказываться на динамических и релаксационных характеристиках спин-меток, изменяющихся вслед за локальными изменениями микровязкости, удельной поверхностной энергии, диэлектрических



свойств среды. В настоящей работе использовался основанный на ЭПР спин-меток подход, который надежно зарекомендовал себя при изучении структурно-динамических свойств как белковых молекул, так и их комплексов (ассоциатов) [Рожков, Кяйвяряйнен, 1985; Rozhkov, Goryunov, 2000; Rozhkov, 2004].

Если молекула белка имеет лишь один центр связывания спиновой метки, как в случае спин-метки ТЕМПО-малеимид на САЧ, возникнет возможность, с одной стороны, рассчитать константу конформационного равновесия между состояниями микроокружения и соответствующие значения разности термодинамических функций этих состояний, а с другой – оценить изменения эффективного расстояния между молекулами белка, определяя среднее расстояние диполь-дипольного взаимодействия между спин-метками. Это позволяет наблюдать как за структурно-динамическим, так и за фазовым состоянием дисперсии молекул белка.

Если же молекула белка имеет несколько центров связывания спин-метки, как в случае ТЕМПО-дихлортриазина [Бондарев и др., 1988], открывается возможность регистрировать трансглобулярные структурные изменения, которые находят свое отражение в поведении кривой стабильности (температурной зависимости свободной энергии денатурации) макромолекул белка и ее изменений под действием физических и химических факторов.

На примере САЧ обсуждаются возможности метода для анализа стабильности белка в области физиологических температур, позволяющие проводить оценку изменения фазовых и конформационных состояний молекул белков, индуцируемых электролитами и другими компонентами раствора. При этом рассматриваются также некоторые особенности ФД состояния СА, поскольку в теоретическом плане одной из важных нерешенных проблем в протеомике является разработка глобальных ФД, которые учитывали бы всевозможные структуры и переходы между ними [Buell, 2017]. Поэтому цель настоящей работы – методом ЭПР спин-метки обнаружить изменения структурного состояния растворов САЧ, сопряженные с индуцируемыми солью изменениями конформационного состояния макромолекулы САЧ, как локального, так и трансглобулярного, и установить их взаимосвязь с фазовым состоянием раствора. Это позволит на основании полученных результатов, а также сложившихся к настоящему времени представлений о фазовых свойствах белковых систем ответить на более общий вопрос об особенностях ФД состояний растворов СА, в частности, о положении на ней областей стабильно-

сти конформеров и ассоциатов белка, а также о фазовых переходах между этими состояниями, включая L–L ФП.

## Материалы и методы

В работе использовались препараты лиофилизированного порошка необезжиренного (5-я фракция) САЧ и спиновые метки на основе ТЕМПО-малеимида производства компании Sigma-Aldrich, а также на основе ТЕМПО-дихлортриазина (2,2,6,6-тетраметил-N-1-оксипиперидин-4-аминодихлортриазин), синтезированная методом, описанным в [Жданов, 1981]. Фосфатный буфер (pH 7,3), в том числе содержащий 0,15 М NaCl, для раствора САЧ готовили с применением химически чистых реагентов. В работе также использовались тяжелая вода с атомной долей дейтерия 99,8 %, а также химически чистые сахара, полиэтиленгликоль ММ 40000 (ПЭГ-40), NaCl,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , NaOH, HCl. Все растворы приготовлены на ультрачистой дистиллированной, дегазированной и деионизованной воде (MilliQ). Растворы спин-меченого САЧ (САЧ-СМ) для ЭПР спектроскопии получены на основе 1 мМ исходного раствора в 0,01 М фосфатном буфере + 0,15 М NaCl (pH 7,3) путем разбавления до требуемой концентрации в объеме образца 100–300 мкл. Растворы с разным содержанием тяжелой воды получали путем добавления концентрированного раствора белка в буферные растворы с соответствующей концентрацией  $\text{D}_2\text{O}$ . pH растворов доводились до требуемой величины в растворах разного состава с использованием заготовленных кислых и щелочных 0,12 М фосфатных буферов. pH всех образцов тщательно контролировался с помощью калиброванного pH-микроэлектрода и pH-метра. Измерения в растворах, содержащих  $\text{D}_2\text{O}$ , проводились при pH, равном pH измеренному, чтобы гарантировать неизменность электростатического состояния макромолекул. Вязкость растворов сахарозы определяли с помощью рефрактометра ИРФ-22 и соответствующей номограммы. Вязкость растворов сахарозы с ПЭГ-40 определяли с использованием вискозиметра Оствальда.

Спектры ЭПР САЧ-СМ регистрировались на радиоспектрометре ЭПР X-диапазона Bruker EMX 6/1 с термостатируемой ячейкой резонатора ( $\pm 0,2^\circ\text{C}$ ) при амплитуде модуляции 1 Гс и СВЧ мощности 12,6 мВт во избежание насыщения и искажения сигнала. Условия экспериментов и модификация САЧ спиновыми метками подробно описаны ранее [Рожков, Кяйвяряйнен, 1985; Rozhkov, Goryunov, 2000;

Rozhkov, 2004]. Важной характеристикой получаемого спектра спин-метки в области медленных вращений является наличие двух хорошо разрешенных внешних экстремумов, обусловленных сверхтонким взаимодействием, и центральной компоненты за счет наложения различных составляющих сверхтонкой структуры. При этом спин-метка может иметь несколько центров связывания с белком (как в случае с меткой на основе ТЕМПО-дихлортриазина на IgG [Бондарев и др., 1988]) или один центр связывания (проксил-малеимид на альбумине [Pavićević et al., 2017]), но в обоих случаях содержать несколько компонент в спектре. Так, установлено, что двухкомпонентность спектра спин-метки ТЕМПО-малеимида обусловлена равновесием двух состояний структуры белка, в которых микровязкость и подвижность радикала существенно различаются [Wetzel et al., 1980]. Константа равновесия  $K$  определяется конформационными флуктуациями полости в структуре белка, где локализуется аминокислотный остаток Цис-34, с которым связывается спин-метка. Поскольку концентрация спинов (спин-меток) в каждом состоянии пропорциональна площади под соответствующей компонентой сигнала поглощения  $N \sim kI(\Delta H)^2$ , где  $k$  – константа, характеризующая форму линии,  $I$  и  $\Delta H$  – амплитуда и ширина широкой (A) и узкой (B) линий спектра соответственно [Пул, 1970; Rozhkov, Goryunov, 2000], то:

$$K_p^{\text{эф}} = I_0^A(\Delta H_0)_A^2 / I_0^B(\Delta H_0)_B^2, \quad (1)$$

где  $K_p^{\text{эф}}$  – эффективные значения  $K$ . Это позволяет рассчитать изменение эффективной энтропии  $\Delta S^{\text{эф}}$ , энтальпии  $\Delta H^{\text{эф}}$  и свободной энергии состояния спин-метки в полости.

Расчет времени корреляции диффузии спин-метки зависит от выбранной модели ее диффузии и отражает диффузию как самой спин-метки с частотой  $\nu_1 = \tau_R^{-1}$ , так и белковой глобулы с частотой  $\nu_2 = \tau_M^{-1}$ . В этом случае измеряемое время корреляции  $\tau^{\text{эф}} \sim \nu_1^{-1} + \nu_2^{-1}$  будет эффективным. Эффективное время корреляции  $\tau^{\text{эф}}$  рассчитывали по известной формуле [Кузнецов, 1976]:

$$\tau^{\text{эф}} = a(1 - S)^b 32/A_z.$$

Здесь  $S = A_z^*/A_z$ , где  $A_z$  – половина расстояния по полю между внешними экстремумами спектра, соответствующего условию предельно медленного вращения спин-метки, а  $A_z^*$  – та же величина для спектра исследуемой спин-метки. Параметры  $a$  и  $b$  определяются моделью вращения спин-метки и остаточной шириной индивидуальной линии спектра, и в рамках используемой нами модели (изотропная или

слабоанизотропная скачкообразная диффузия) их значения составляют  $a = 25,5 \cdot 10^{-14}$  Тл/с и  $b = -0,615$ . Такая модель диффузии выбрана потому, что характер вращения белка и метки совпадает [Кузнецов, 1976]. Если «скачки» самой метки могут быть обусловлены конформационными изменениями ее микроокружения, то «скачки» макромолекулы можно объяснить с учетом потенциала взаимодействия белок-белок. Лишь преодоление потенциального барьера взаимодействия «скачком» может обеспечить макромолекуле одновременно трансляционную диффузию и вращательную переориентацию:

$$\nu = (\tau^{\text{эф}})^{-1} = \tau_R^{-1} + \tau_M^{-1}. \quad (2)$$

Для изотропной модели движения спин-метки был предложен способ [Кяйвярайнен, 1975], позволяющий разделять эффективное время корреляции  $\tau^{\text{эф}} = \tau_{R+M}$  на составляющие  $\tau_R$  и  $\tau_M$ , используя зависимости результирующей частоты вращения спин-метки от отношения  $T/\eta$ . С учетом закона Стокса – Эйнштейна для вращательной диффузии макромолекулы уравнение (2) запишется как:

$$\tau_{R+M}^{-1} = \tau_R^{-1} + 3kT/4\pi V_M \eta_1,$$

где  $\eta_1$  – вязкость растворителя,  $V_M$  – эффективный объем белка. При постоянной температуре величина  $\tau_R$  определяется эффективной микровязкостью белковой матрицы ( $\eta_2^{\text{эф}}/T$ ), а  $\tau_M$  – вязкостью растворителя ( $\eta_1^{\text{эф}}/T$ ). Если вязкость растворителя изменяется в небольших пределах, то изменением собственного времени корреляции спин-метки можно пренебречь, поскольку микровязкость водно-белковой матрицы на два порядка больше и соответствующее слагаемое вносит практически постоянный вклад в динамику спин-метки независимо от вязкости. В этом случае  $\tau_{R+M}^{-1} \approx \tau_M^{-1}$ , и выражение для наклона зависимости  $\tau_{R+M}^{-1}$  от  $T/\eta_1$  будет иметь вид:

$$\Delta(\tau_{R+M}^{-1})/\Delta(T/\eta_1) = 3k/(4\pi \tau_M^{\text{эф}}). \quad (3)$$

В стандартных условиях ( $(\eta/T)_{\text{ст.}} = 3 \times 10^{-5}$  Пз/К) величина наклона составит  $3 \times 10^{-5}/\tau_M$ . Лишь при значениях вязкости растворителя, сравнимых с эффективной микровязкостью белковой матрицы, можно ожидать отклонения этой зависимости от линейности. Аппроксимация линейного участка зависимости  $\tau_{R+M}^{-1}$  от  $T/\eta$  к бесконечной вязкости в точке пересечения с осью ординат дает:  $\tau_{R+M}^{-1} = \tau_R^{-1}$ . Ранее на основе этих фактов нами был предложен способ расчета значений удельной поверхностной энергии в области локализации спиновой метки [Рошков, Горюнов, 2006].

В то же время наклон экстраполяционных зависимостей будет зависеть от  $V_M$ , величина которого определяется сегментальной подвижностью белка. Последнюю, в свою очередь, отражает ход кривой стабильности белка  $\Delta G_N^D$  от температуры. Чем ближе к экстремуму кривой стабильности (стабильность нативного состояния), тем больше эффективный объем белка  $V_M$  [Royer, Winter, 2011]. По мере уменьшения стабильности нативного состояния (смещения температуры в область как холодной, так и тепловой денатурации) эффективный объем уменьшается (подвижность растет):  $V_M \sim \tau_M^{\text{эф}}$ . Если добавление в раствор белка сахарозы, стабилизирующей структуру белка [Arakawa, Timasheff, 1982; Рожков, 1991], представить как приращение эффективной температуры  $T/\eta$ , то изменение  $\Delta G_N^D$  под влиянием сахарозы может быть рассмотрено как инкремент энергии стабилизации  $|\Delta G_N^D(T+\Delta(T/\eta)) - \Delta G_N^D(T)|/\Delta(T/\eta)$ . Если приращение приходится на максимум кривой энергии стабилизации, то наклон будет мал, а  $V_M$  будет принимать большие значения ( $V_M \sim \tau_M^{\text{эф}}$ ). Метод ЭПР спин-метки позволяет регистрировать эти изменения путем построения вязкостных изотерм  $\tau_M^{\text{эф}}$ .

Изменение расстояний между парамагнитными центрами в застеклованных (77 К) дисперсиях белков определяли по диполь-дипольному уширению линий спектра, используя параметр  $d_1/d$  – отношение суммарной интенсивности крайних компонент спектра к интенсивности центральной компоненты и соответствующей номограмме [Лихтенштейн, 1974].

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

## Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены температурные зависимости времени корреляции  $\tau_M^{\text{эф}}$  для САЧ-СМ в фосфатном буферном растворе, содержащем 0,15 М NaCl, а также тяжелую воду и ПЭГ-40.  $\tau_M^{\text{эф}}$  рассчитано по формуле (3) на основе параметров спектров ЭПР, полученных для ТЕМПО-дихлортриазиновой спин-метки, связанной с молекулами САЧ. Для САЧ-СМ в буферном растворе с NaCl характер зависимости немонотонный, с выраженным температурным изменением (переходом)  $\tau_M^{\text{эф}}$  в окрестности 33 °С. В то же время в растворе, содержащем  $D_2O$ , наблюдается два температурных перехода – в окрестности 15 и 33 °С (рис. 1/2).

Структурно-динамическое состояние молекул альбумина характеризуется рядом обра-

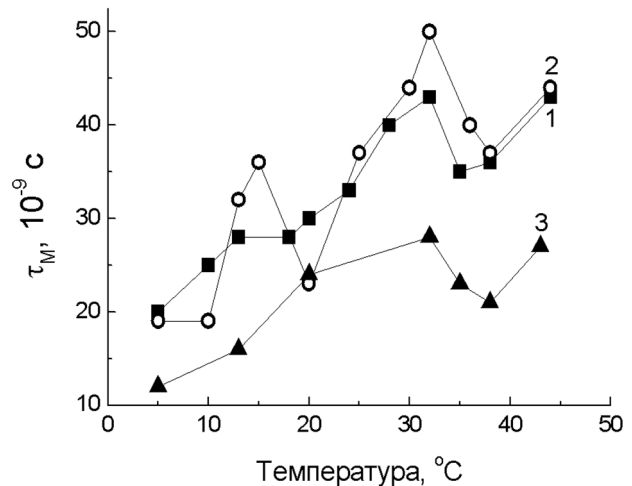


Рис. 1. Температурные изменения эффективного времени вращательной корреляции  $\tau_M^{\text{эф}}$  молекул сывороточного альбумина человека (САЧ), модифицированных спиновой меткой на основе ТЕМПО-дихлортриазина:

1 – в 0,01 М фосфатном буферном растворе pH 7,3, содержащем 0,15 М NaCl; 2 – то же в присутствии 5 %  $D_2O$ ; 3 – то же, что 1, в присутствии 2 % ПЭГ-40. Концентрация САЧ 13 мг/мл.  $\tau_M^{\text{эф}}$  пропорционально эффективному объему вращения молекулы САЧ

Fig. 1. Temperature changes of the effective rotational correlation time  $\tau_M^{\text{ef}}$  of human serum albumin (HSA) molecule, modified by TEMPO-dychlortriazine based spin label:

1 – in 0.01 M phosphate buffer solution pH 7.3, containing 0.15 M NaCl; 2 – the same in presence of 5 %  $D_2O$ ; 3 – the same as 1 in presence of 2 % PEG-40. HSA concentration 13 mg/mL.  $\tau_M^{\text{ef}}$  is proportional to the effective molecule rotation volume of HSA

тимых конформационных переходов в области нефизиологических значений pH [Fullerton et al., 2006]. Повышение температуры до 55 °С также вызывает постепенное и обратимое изменение конформации белка на уровне вторичной структуры. Наиболее значимые изменения, обусловленные разворачиванием одного из доменов белка, проявляются около 42–43 °С [Rezaei et al., 2006; Iosin et al., 2011]. Для области 58–65 °С характерно резкое начало денатурационных процессов [Borzova et al., 2016]. В то же время холодовая денатурация происходит в области отрицательных температур, при этом L–L переход с ВКТП в области положительных температур наблюдали в присутствии ПЭГ [Wang, Annunziata, 2006].

Сравнительно недавно было обнаружено [Bian et al., 2014], что в диапазоне температур 12–20 °С сывороточный альбумин в растворе представлен единственным нативным конформером А, в то время как в диапазоне температур 22–50 °С белок представлен двумя нативными конформерами А и В, причем доля кон-

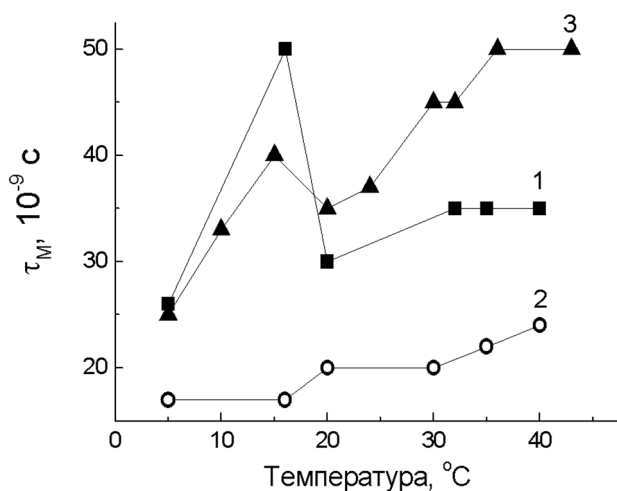


Рис. 2. Температурные изменения эффективного времени вращательной корреляции  $\tau_M^{\text{эф}}$  молекул сывороточного альбумина человека (САЧ), модифицированных меткой на основе ТЕМПО-дихлортриазина, в 0,01 М фосфатном буферном растворе pH 7,3, содержащем:

1 – 0,15 М NaCl и 0,6 М  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 2 – 0,15 М NaCl и 1 М  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 3 – 0,75 М NaCl. Концентрация САЧ – 30 мг/мл

Fig. 2. Temperature changes of the effective rotational correlation time  $\tau_M^{\text{эф}}$  of human serum albumin (HSA) molecule, modified by TEMPO-dichlorotriazine based spin label in 0.01 M phosphate buffer solution pH 7.3, containing:

1 – 0.15 M NaCl and 0.6 M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 2 – 0.15 M NaCl and 1 M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 3 – 0.75 M NaCl. HSA concentration 30 mg/mL

формера В растет с температурой. При 58 °С и выше происходит спонтанное превращение А в В. Эти данные об А и В конформерах позволяют объяснить наличие двух обнаруженных нами максимумов (переходов) в присутствии  $\text{D}_2\text{O}$  (рис. 2). Известно, что стабильность структуры белка под влиянием  $\text{D}_2\text{O}$  возрастает в соответствующих интервалах, что указывает на важную роль гидратации в стабилизации. Кроме того,  $\text{D}_2\text{O}$  способствует стабилизации мономерной формы белка [Reslan, Kauzer, 2016]. Конформеры А и В должны иметь соответствующие кривые стабилизации, что также, вероятно, проявляется в присутствии  $\text{D}_2\text{O}$  [Braun et al., 2017]. Это означает, что обнаруженные переходы обусловлены конформационными превращениями молекул САЧ.

Чтобы рассмотреть взаимосвязь этих превращений со структурным состоянием дисперсии САЧ, была исследована реакция конформеров белка на изменение ионной силы растворителя посредством увеличения концентрации солей, обладающих менее (NaCl) и более  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  выраженной способностью «высаливать» САЧ. Под «высаливанием» подразумевается уменьшение термодинамической

устойчивости дисперсии, содержащей белки в соответствующей конформации.

На рис. 2 показаны температурные зависимости величины  $\tau_M^{\text{эф}}$  при изменении содержания хлорида натрия и сульфата аммония. При концентрациях, которые можно отнести к диапазону средних, общая тенденция, как и по данным рис. 1, заключается в увеличении  $\tau_M^{\text{эф}}$  с ростом температуры. Однако положение перехода смещается в область более низких температур. При повышении концентрации соли растет низкотемпературный максимум, но в области более высоких температур значения  $\tau_M^{\text{эф}}$  уменьшаются, что, вероятно, отражает дестабилизацию структуры белка. В области «высаливающих» концентраций солей значения  $\tau_M^{\text{эф}}$  во всем диапазоне температур значительно уменьшаются (рис. 2/2). Похожая тенденция наблюдается и в присутствии ПЭГ-40 (рис. 1/3). Здесь  $\tau_M^{\text{эф}}$  при 5 °С еще ниже – 12 нс, и наблюдается фазовое разделение (ФП L–L) раствора, проявляющееся как помутнение при достижении соответствующей температуры и критической концентрации белка. Эти особенности поведения  $\tau_M^{\text{эф}}$  отражают ФП L–L с верхней критической температурой, который регистрируется в дисперсии альбумина в таких условиях [Wang, Annunziata, 2006].

Значение  $\tau_M^{\text{эф}}$  при 5 °С, равное 12 нс, фиксировалось ранее в растворах антидинитрофенильных антител (IgG-СМ) со спин-меченым гаптенем динитрофенилом в присутствии полимеров ПЭГ и декстрана [Рожков, 1984]. При этом также наблюдалось помутнение раствора. Иммуноглобулины принадлежат к классу белков с ВКТР [Wang et al., 2014], то есть фазовое разделение L–L в дисперсии этих белков происходит при понижении температуры, а критическая точка сдвигается в сторону более высоких температур с ростом концентрации ПЭГ. Таким образом, низкотемпературный переход с ВКТР наблюдается как для САЧ-СМ, так и для IgG-СМ в присутствии ПЭГ.

Другой ФП L–L в дисперсии альбумина – с нижней критической температурой – наблюдается в присутствии трехвалентных солей в диапазоне 15–20 °С [Matsarskaia et al., 2016]. В этом случае фазовое разделение идет при повышенных температурах, а с ростом концентрации соли температура перехода уменьшается. Вероятно, этот же переход имеет место и в нашем случае при увеличении концентрации  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Такой эффект можно объяснить тем, что в условиях фазового разделения наряду с молекулами в исходном нативном состоянии появляются более лабильные конформеры, которые группируются в кластеры отдельной

фазы при ФП L–L с НКТР. В целом стабильность нативного состояния молекул падает, и эффективный объем молекулы белка  $V_m \sim \tau_m$  определяется самодиффузией отдельных структурных доменов белка, а не макромолекулы в целом. С другой стороны, форма спектров ЭПР спин-метки в условиях помутнения по-прежнему указывает на существенную иммобилизацию подвижности метки, поскольку она в этом случае определяется значением времени корреляции  $\tau_R$ , которое может существенно возрастать в присутствии солей из-за их поверхностно-инактивных свойств. Это приводит к росту поверхностного натяжения и стабилизации собственной динамики метки в области ее локализации [Рожков, Горюнов, 2006].

Для спин-метки ТЕМПО-малеимида, имеющей единственный центр посадки на Цис-34 молекулы САЧ и флуктуирующей между двумя состояниями с разным микроокружением, на основе формулы (1) были рассчитаны эффективные значения разности термодинамических функций – энтальпии  $\Delta H$ , энтропии  $T\Delta S$ , свободной энергии  $\Delta G$  между состояниями. Результаты расчетов для различных молярных концентраций NaCl и CaCl<sub>2</sub> представлены на рис. 3. Значения  $\Delta H$ ,  $T\Delta S$  и  $\Delta G$  перехода отражают состояния водно-белковой матрицы. Обращает на себя внимание резкое изменение энтальпии и энтропии состояния метки в области концентраций NaCl ~ 0,3 М при концентрации белка 200 мг/мл. Однако ранее было показано, что скачок термодинамических функций происходит при тем меньшей концентрации NaCl, чем меньше концентрация белка, т. е. выполняется условие  $m_2/m_3 = \text{const}$  [Rozhkov, 2004], где  $m_2$  и  $m_3$  – молярные концентрации белка и соли соответственно. Это означает, что переход обусловлен не только общими молярными концентрациями белка и соли, но и их соотношением, что подтверждается данными других авторов [Braun et al., 2017; Matsarskaia et al., 2018]. В работе [Rozhkov, Goryunov, 2010] теоретически показано, что такое соотношение концентраций компонент характеризует положение линий спинодали и бинодали, которыми описывают ФП L–L, на ФД системы вода-белок-соль.

Как следует из рис. 3, в присутствии CaCl<sub>2</sub> также наблюдается «скачок» термодинамических функций, но он является менее резким и происходит при существенно меньших концентрациях ионов. При дальнейшем увеличении концентрации CaCl<sub>2</sub>, превышающей 1 М, значения  $\Delta S$  и  $\Delta H$  уменьшаются, т. е. наблюдается как бы обратный переход. Аналогичная зависимость получена ранее и для MgCl<sub>2</sub> [Рожков, 1997]. При этом в диапазоне концентраций

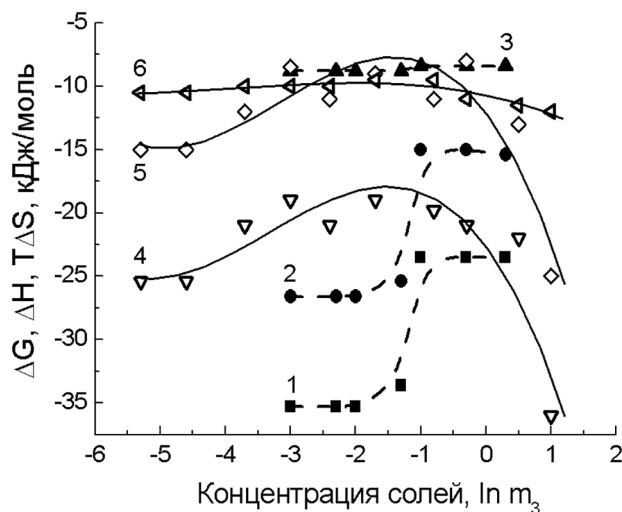


Рис. 3. Эффективные значения термодинамических функций состояния водно-белковой матрицы – энтальпии  $\Delta H$ , энтропии  $T\Delta S$ , свободной энергии  $\Delta G$ , приведенных к 15°C, для растворов молекул сывороточного альбумина человека (САЧ), модифицированных меткой на основе ТЕМПО-малеимида, при разных молярных концентрациях солей  $m_3$ :

1, 2, 3 – NaCl; 4, 5, 6 – CaCl<sub>2</sub>; 1, 4 –  $\Delta H$ ; 2, 5 –  $T\Delta S$ ; 3, 6 –  $\Delta G$ . Концентрация САЧ – 110 мг/мл

Fig. 3. Effective values of the thermodynamic state functions of the water-protein matrix – enthalpy  $\Delta H$ , entropy  $T\Delta S$ , free energy  $\Delta G$  reduced to 15°C, for the solutions of human serum albumin (HSA) molecules, modified by TEMPO-maleimide based spin label, at different molar salt concentrations  $m_3$ :

1, 2, 3 – NaCl; 4, 5, 6 – CaCl<sub>2</sub>; 1, 4 –  $\Delta H$ ; 2, 5 –  $T\Delta S$ ; 3, 6 –  $\Delta G$ . HSA concentration 110 mg/mL

1–2 М наблюдался фазовый переход раствора, проявляющийся как помутнение при достижении критической концентрации белка и соли (ФП L–L), тогда как дальнейшее повышение концентрации соли (> 2 М) приводило к тому, что раствор вновь становился прозрачным. Именно таким образом проявляются так называемые *реентрантные* (возвратные) фазовые переходы, также относящиеся к категории ФП L–L [Zhang et al., 2010] и обнаруживаемые в дисперсиях альбумина. Соли трехвалентных металлов вызывают как прямой, так и возвратный фазовый переход уже при малых концентрациях благодаря высоким значениям ионной силы, что связано с повышенным зарядом катионов и их способностью к сорбции в центрах специфического связывания на белке. При этом зависимость коэффициента активности соли от ее ионной силы для них является убывающей при низких концентрациях и возрастающей при повышении концентрации соли [Герасимов, 1973]. Это согласуется с изменением растворимости белка и его взаимодействия с ионами

электролита. Аналогичный механизм проявляется и в присутствии двухвалентных ионов  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{MgCl}_2$  [Рожков, 1997], но при их большей концентрации по сравнению с трехвалентными. В этом случае увеличение активности при повышении ионной силы сопровождается повышенной сорбцией как трехвалентных катионов, так и  $\text{Ca}^{+2}$  и  $\text{Mg}^{+2}$  на поверхности белка и образованием нового электростатического потенциала отталкивания, но уже другого знака по сравнению с исходным.

На рис. 4 представлены температурные зависимости параметра  $d_1/d$ , рассчитанного из характеристик спектра ЭПР спин-метки ТЕМПО-малеимид, связанной с САЧ, для разных концентраций NaCl в дисперсии белка. Эти зависимости  $d_1/d$  отражают изменение среднего расстояния взаимодействия между спин-метками ( $l$ ) в дисперсии ( $d_1/d \sim l^{-1}$ ). Данные получены на основе измерения диполь-дипольного взаимодействия между спин-метками, зависящего от расстояния между ними, на молекулах белка в условиях полной заморозки (остановки диффузии макромолекул) при 77 К [Лихтенштейн, 1974]. Для этого образцы, предварительно выдержанные при соответствующей температуре, мгновенно погружали в жидкий азот. Предполагается, что каждое фазовое состояние дисперсии в определенном диапазоне температур стабильности фазы характеризуется своим средним распределением диполей спин-меток и соответствующим средним расстоянием между молекулами белка.

Данные рис. 4 указывают, что расстояние между спин-метками увеличивается под влиянием возрастающих концентраций NaCl. Наиболее вероятно, это связано с изменением структурного (фазового) состояния раствора (дисперсии), что согласуется с данными рис. 3, также указывающими на фазовый переход. Используя методику оценки из работы Г. И. Лихтенштейна [1974], мы определили, что среднее расстояние между спин-метками в растворах с высокой концентрацией солей на 1–2 нм больше, чем в низкосолевых. При этом в диапазоне средних концентраций соли фазовая перестройка начинается с высоких температур. Естественно предположить, что сначала меняется структура раствора, связанная со стабильностью А-конформера САЧ в области повышенных температур, поскольку зачастую температура и соли действуют симбатно, разрушая гидратационный барьер стабилизации А-конформера. Вместе с тем известно, что при комнатных температурах доля олигомеров альбумина может составлять до 20 % [Fullerton et al., 2006], и скорее всего, это связано с тем,

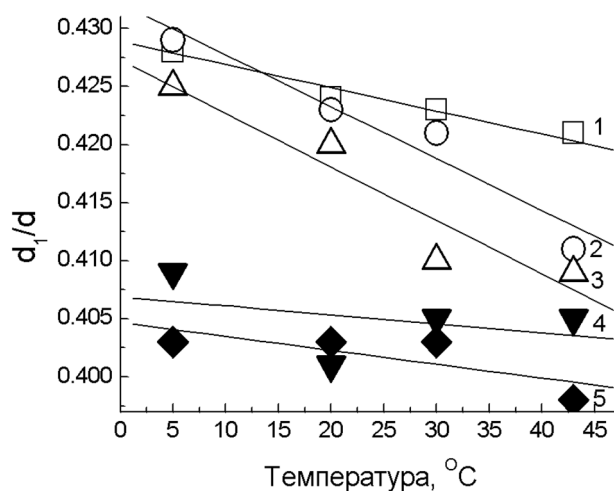


Рис. 4. Температурные зависимости параметра  $d_1/d$  спектра ЭПР для ТЕМПО-малеимидных спин-меток на молекулах сывороточного альбумина человека (САЧ) при разных концентрациях NaCl. Линейная аппроксимация призвана показать, что в целом температурные зависимости являются убывающими.

1 – 0,001 M NaCl; 2 – 0,01 M NaCl; 3 – 0,15 M NaCl; 4 – 0,5 M NaCl; 5 – 1,2 M NaCl. Концентрация САЧ – 50 мг/мл; 0,001 M фосфатный буфер, pH 7,3. Температура регистрации спектра 77 К.  $d_1/d$  пропорционально среднему расстоянию между спин-метками ( $d_1/d \sim l^{-1}$ )

Fig. 4. Temperature dependences of the ESR spectrum parameter  $d_1/d$  for TEMPO-maleimide spin labels at human serum albumin (HSA) molecules at different NaCl concentrations. The linear approximation is intended to show that, in general, the temperature dependences are decreasing.

1 – 0.001 M NaCl; 2 – 0.01 M NaCl; 3 – 0.15 M NaCl; 4 – 0.5 M NaCl; 5 – 1.2 M NaCl. HSA concentration 50 mg/mL; 0.001 M phosphate buffer, pH 7.3. Temperature of the spectrum registration 77 K.  $d_1/d$  is proportional to the average distance between spin labels ( $d_1/d \sim l^{-1}$ )

что белок находится в состоянии А-конформера. Возможно, именно постепенное разрушение олигомеров под действием температуры и солей будет приводить к увеличению среднего расстояния диполь-дипольного взаимодействия. При этом в области умеренных концентраций солей разрушение олигомеров сначала будет способствовать росту концентрации мономеров в А-конформации (рост  $\tau_{M}^{ab}$  в области низких температур на рис. 2), а затем превращению А-конформеров в В-конформеры с их последующим участием в высокотемпературных ФП L–L с НКТР.

Представленные результаты по соль-индуцируемому фазовым переходам в дисперсии САЧ-СМ, наряду с данными литературы, позволяют качественно определить на ФД области, где могут наблюдаться различные состояния белка и его дисперсии, в том числе ассоциаты белка и фазовые переходы между этими со-

стояниями: L-L ФП [Wang, Annunziata, 2006], A и B конформационные состояния [Bian et al., 2014]; олигомеры белка [Fullerton et al., 2006], упорядоченные агрегаты амилоидоподобных фибрилл [Juarez et al., 2009a, b].

На рис. 5 в координатах температура – концентрация белка (при фиксированной концентрации соли) представлена гипотетическая ФД водной дисперсии СА с нижней и верхней критическими температурами L-L переходов и соответствующими линиями бинадалей. Мы считаем, что условные кривые растворимости конформеров А и В хотя и не совпадают с кривыми растворимости белка в целом, но располагаются в непосредственной близости. В области промежуточных температур линии растворимости А и В могут пересекать линии растворимости

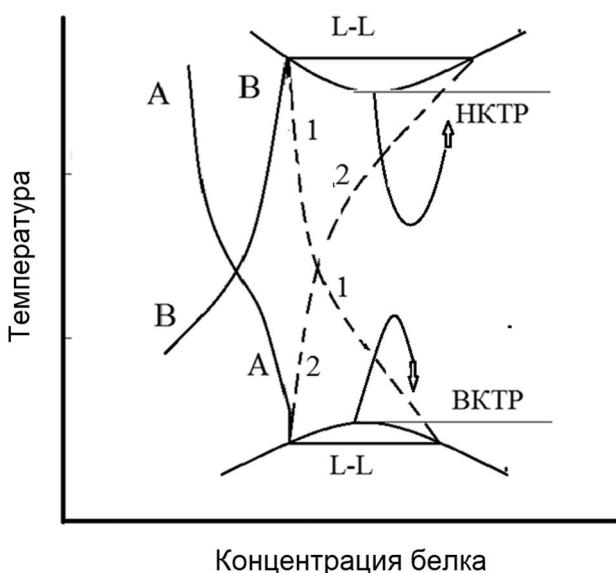


Рис. 5. Гипотетическая фазовая диаграмма водно-солевых растворов сывороточного альбумина в координатах температура – концентрация.

А и В – кривые растворимости конформеров белка. Фазовые переходы жидкость-жидкость в области линий бинадали (горизонтальные отрезки) соответствуют системам с нижней и верхней критическими температурами растворения (НКТП и ВКТП). Пунктирные линии – возможные кривые растворимости для олигомеров белка (1) и криволинейных фибрилл (2) в закритической области между НКТП и ВКТП. Кривые со стрелками показывают возможные изменения температур критических точек при увеличении концентрации солей

Fig. 5. A hypothetical phase diagram of serum albumin water-salt solutions in temperature – concentration coordinates.

A and B are the solubility curves of protein conformers. Liquid-liquid phase transitions in the region of binodal lines (horizontal segments) correspond to the systems with lower and upper critical solution temperatures (LCST and UCST). Dashed lines are the probable solution curves for the protein oligomers (1) and curved fibrils (2) in the overcritical region between LCST and UCST. Arrow curves show possible changes of the critical point temperatures when the salt concentration increases

сти белка, и это отражает тот факт, что при повышении температуры химический потенциал конформера В становится меньше, чем у конформера А, который все больше превращается в В-форму, а при пониженных температурах, напротив, химический потенциал А-конформера становится ниже и он преобладает в растворе белка. Слева от этих линий конформеры образуют истинный раствор, тогда как справа от них находится область состояний, в которой наблюдается образование соответствующих надмолекулярных образований (конденсационных состояний) в растворе белка. Так, в области повышенных температур справа от кривой А могут возникать фибриллы белка путем одноступенчатой конденсации, в то время как на линии бинадали в этой области олигомеры и В-конформеры белка образуют конденсационные структуры в результате ФП L-L, в которых также возможно образование как фибрилл из олигомеров (двухступенчатое фибриллообразование), так и аморфных агрегатов-сферулитов [Adachi et al., 2015]. В результате дестабилизации конденсационных образований, возникающих при ФП L-L в этой области температур, справа от линии бинадали возможно образование метастабильного состояния, представленного криволинейными фибриллами. Такие структуры были обнаружены на примере лизоцима [Miti et al., 2015]. Их растворимость понижается с понижением температуры (кривая 2 на рис. 5), в то время как растворимость олигомеров повышается (кривая 1 на рис. 5) при понижении температуры.

На положение ВКТП и НКТП на температурной шкале существенное влияние могут оказывать изменение концентрации и типов ионов солей и водорастворимых полимеров. В соответствии с распространенными в настоящее время представлениями о симбатном действии роста температуры и солей на состояние гидратации, мы считаем, что с ростом концентрации солей и полимеров разность НКТП и ВКТП может уменьшаться, а при дальнейшем увеличении ионной силы – вновь увеличиваться, создавая условия для реэнтрантных фазовых переходов. Эта возможность отражена на рис. 5 кривыми со стрелками рядом с НКТП и ВКТП. Таким образом, ФД на рис. 5 представляет возможные фазовые состояния дисперсии при изменении ее состава по концентрации как белка, так и осмолитов. При этом с ростом концентрации соли концентрация белка, при которой возможно превращение, уменьшается. При постоянном же составе то или иное конформационное и фазовое изменение может и не наблюдаться в заданном диапазоне температур.

## Заключение

Представлены результаты исследования структурно-динамических свойств сывороточного альбумина человека в водных дисперсиях методом электронного парамагнитного резонанса спиновых меток. В ходе изучения взаимосвязи между фазовыми переходами в дисперсиях САЧ и конформационным состоянием молекул белка получены данные о характеристиках подвижности спин-меток (времени корреляции, термодинамических функциях, константе равновесия), отражающих состояние внутри- и межмолекулярных взаимодействий молекул САЧ. На основании данных о зависимостях этих характеристик от температуры и концентрации NaCl, CaCl<sub>2</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, полиэтиленгликоля и тяжелой воды показано, что переходы на температурных зависимостях времени корреляции  $\tau_M^{эф}$  спин-метки, находящейся на молекуле САЧ, отражают взаимопревращения низко- и высокотемпературного конформеров белка и их агрегатов. Под влиянием возрастающих концентраций NaCl и сульфата аммония стабилизируется низко-температурный конформер, в том числе и за счет индуцируемого солью разрушения белковых олигомеров. Это проявляется в изменении среднего расстояния между молекулами САЧ в дисперсии. При этом дестабилизация В-конформера ведет к появлению L-L перехода с НКТР. Зависимость константы равновесия структурных состояний белка и рассчитанные на ее основе зависимости свободной энергии, энтальпии и энтропии от концентрации CaCl<sub>2</sub> отражают реэнтрантный фазовый переход типа L-L с НКТР.

На основе полученных результатов на фазовой диаграмме состояний водной дисперсии САЧ определены области термо- и соль-индуцируемых фазовых переходов L-L, а также сопутствующих конформационных состояний и надмолекулярных структур белка – кластеров, олигомеров и других агрегатов.

Показаны возможности и эффективность метода ЭПР спиновых меток для регистрации конформационных изменений, а также для характеристики сопряженных с этими изменениями фазовых свойств дисперсий белка. В дальнейшем данный метод и в целом предложенный подход будет использован для изучения взаимного влияния белков и наночастиц различной природы, для уточнения и обобщения установленных особенностей ФД белка. Конформационные состояния и ассоциаты молекул белка могут быть более детально отображены с помощью ФД в координатах температура – химиче-

ский потенциал компонентов, либо температура – осмотическое давление. Это позволит разработать обобщенную ФД глобулярных белков, учитывающую конформационные, в том числе денатурированные, состояния белка.

*Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0082).*

## Литература

- Бондарев Г. Н., Исаев-Иванов В. В., Исаева-Иванова Л. С., Клейнер А. С., Красоцкая Г. И., Фомичев В. Н., Незлин Р. С., Крымов В. Н., Оранский Л. Г., Бахматский В. Д. Распределение спиновой метки темподихлортриазина по молекуле иммуноглобулина // Биофизика. 1988. Т. 33, № 2. С. 212–215.
- Вассерман А. М., Коварский А. Л. Спиновые метки и зонды в физикохимии полимеров. М.: Наука, 1986. 246 с.
- Герасимов Я. И., Древинг В. П., Еремин Е. Н., Киселев А. В., Лебедев В. П., Панченков Г. М., Шлыгин А. И. Курс физической химии. Т. 2. М.: Химия, 1973. 614 с.
- Жданов Р. И. Парамагнитные модели биологически активных соединений. М.: Наука, 1981. 280 с.
- Кузнецов А. Н. Метод спиновой зонды (основы и применение). М.: Наука, 1976. 210 с.
- Кяйвярйнен А. И. Раздельное определение собственных времен корреляции спин-меченых белков и связанных с ними меток // Молекуляр. биология. 1975. Т. 9, № 6. С. 805–811.
- Ландау М. А. Молекулярные механизмы действия физиологически активных соединений. М.: Наука, 1981. 262 с.
- Лихтенштейн Г. И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии. М.: Наука, 1974. 256 с.
- Метод спиновых меток. Теория и применение / Ред. Л. Берлинер. М.: Мир, 1979. 639 с.
- Пул Ч. Техника ЭПР-спектроскопии. М.: Мир, 1970. 558 с.
- Рожков С. П. Изучение гибкости некоторых белков крови методом спиновой метки: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Купавна, 1984. 23 с.
- Рожков С. П. Стабилизация белка сахарозой по данным метода спиновой метки // Биофизика. 1991. Т. 36, № 4. С. 571–576.
- Рожков С. П. Стабилизация альбумина CaCl<sub>2</sub> и MgCl<sub>2</sub> регулируемым взаимодействием макромолекул: исследование методом спиновой метки // Биофизика. 1997. Т. 42, № 5. С. 1020–1028.
- Рожков С. П., Горюнов А. С. Определение удельной поверхностной энергии гидратной оболочки белка методом ЭПР с использованием спиновой метки // Биофизика. 2006. Т. 51, № 2. С. 236–241. doi: 10.1134/S0006350906020060
- Рожков С. П., Горюнов А. С. Стабильные, метастабильные и закритическая фазы в растворах глобулярных белков между верхней и нижней темпера-



- турами их денатурации // *Биофизика*. 2017. Т. 62, № 4. С. 665–673. doi: 10.1134/S0006350917040182
- Рожков С. П., Горюнов А. С.* Фазовые свойства белковых растворов и денатурация белка // *Труды КарНЦ РАН*. 2019. № 6. С. 5–15. doi: 10.17076/eb1031
- Рожков С. П., Кяйвярайнен А. И.* Изучение гибкости молекул сывороточного альбумина методом спиновой метки // *Биофизика*. 1985. Т. 30, № 5. С. 772–776.
- Adachi M., So M., Sakurai K., Kardos J., Goto Y.* Supersaturation-limited and unlimited phase transitions compete to produce the pathway complexity in amyloid fibrillation // *J. Biol. Chem.* 2015. Vol. 290, no. 29. P. 18134–18145. doi: 10.1074/jbc.M115.648139
- Alfano C., Sanfelice D., Martin S. R., Pastore A., Temussi P. A.* An optimized strategy to measure protein stability highlights differences between cold and hot unfolded states // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. P. 15428. doi: 10.1038/ncomms15428
- Arakawa T., Timasheff S. N.* Stabilization of protein structure by sugars // *Biochemistry*. 1982. Vol. 21. P. 6536–6544. doi: 10.1021/bi00268a033
- Auer S., Ricchiuto P., Kashchiev D.* Two-step nucleation of amyloid fibrils: omnipresent or not? // *J. Mol. Biol.* 2012. Vol. 422, no. 5. P. 723–730. doi: 10.1016/j.jmb.2012.06.022
- Aznauryan M., Nettels D., Holla A., Hofmann H., Schuler B.* Single-molecule spectroscopy of cold denaturation and the temperature-induced collapse of unfolded proteins // *J. Am. Chem. Soc.* 2013. Vol. 135, no. 38. P. 14040–14043. doi: 10.1021/ja407009w
- Bian L., Wu D., Hu W.* Temperature-induced conformational transition of bovine serum albumin in neutral aqueous solution by reversed-phase liquid chromatography // *Biomed. Chromatogr.* 2014. Vol. 28. P. 295–301. doi: 10.1002/bmc.3020
- Borzova V. A., Markossian K. A., Chebotareva N. A., Klymenov S. Y., Stein-Margolina V. A., Markov D. I., Kurganov B. I., Poliansky N. B., Muranov K. O., Shubin V. V.* Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin // *PLoS One*. 2016. Vol. 11, no. 4: e0153495. doi: 10.1371/journal.pone.0153495
- Braun M. K., Wolf M., Matsarskaia O., Da Vela S., Roosen-Runge F., Sztucki M., Roth R., Zhang F., Schreiber F.* Strong isotope effects on effective interactions and phase behavior in protein solutions in the presence of multivalent ions // *J. Phys. Chem. B*. 2017. Vol. 121, no. 7. P. 1731–1739. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b12814
- Buell A. K.* The nucleation of protein aggregates – from crystals to amyloid fibrils // *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 2017. Vol. 329. P. 187–226. doi: 10.1016/bs.ircmb.2016.08.014
- Dignon G. L., Zheng W., Kim Y. C., Mittal J.* Temperature-Controlled Liquid-Liquid Phase Separation of Disordered Proteins // *ACS Cent. Sci.* 2019. Vol. 5(5). P. 821–830. doi: 10.1021/acscentsci.9b00102
- Dumetz A. C., Chockla A. M., Kaler E. W., Lenhoff A. M.* Protein phase behavior in aqueous solutions: crystallization, liquid – liquid phase separation, gels, and aggregates // *Biophys. J.* 2008. Vol. 94, no. 2. P. 570–583. doi: 10.1529/biophysj.107.116152
- Fullerton G. D., Kanal K. M., Cameron I. L.* Osmotically unresponsive water fraction on proteins: Non-ideal osmotic pressure of bovine serum albumin as a function of pH and salt concentration // *Cell Biol. Int.* 2006. Vol. 30, no. 1. P. 86–92. doi: 10.1016/j.cellbi.2005.11.001
- Grigsby J. J., Blanch H. W., Prausnitz J. M.* Cloud-point temperatures for lysozyme in electrolyte solutions: effect of salt type, salt concentration and pH // *Biophys. Chem.* 2001. Vol. 91, no. 3. P. 231–243. doi: 10.1016/s0301-4622(01)00173-9
- Iosin M., Canpean V., Astilean S.* Spectroscopic studies on pH- and thermally induced conformational changes of bovine serum albumin adsorbed onto gold nanoparticles // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2011. Vol. 217, no. 2–3. P. 395–401. doi: 10.1016/j.jphotochem.2010.11.012
- Juarez J., Goy-Lopez S. G., Cambón A., Taboada P., Mosquera V.* Influence of electrostatic interactions on the fibrillation process of human serum albumin // *J. Phys. Chem. B*. 2009. Vol. 113, no. 30. P. 10521–10529. doi: 10.1021/jp902224d
- Juarez J., Taboada P., Goy-Lopez S., Cambón A., Madec M.-B., Yeates S. G., Mosquera V.* Additional supra-self assembly of human serum albumin under amyloid-like forming solution conditions // *J. Phys. Chem. B*. 2009. Vol. 113, no. 36. P. 12391–12399. doi: 10.1021/jp904167e
- Li D., Zhang W., Yu X., Wang Z., Su Z., Wei G.* When biomolecules meet graphene: from molecule-level interactions to material design and applications // *Nanoscale*. 2016. Vol. 8, no. 47. P. 19491–19509. doi: 10.1039/C6NR07249F
- Ma L., Cui Q.* Temperature dependence of salt-protein association is sequence specific // *Biochemistry*. 2006. Vol. 45, no. 48. P. 14466–14472. doi: 10.1021/bi0613067
- Matsarskaia O., Braun M. K., Roosen-Runge F., Wolf M., Zhang F., Roth R., Schreiber F.* Cation-induced hydration effects cause lower critical solution temperature behavior in Protein Solutions // *J. Phys. Chem. B*. 2016. Vol. 120, no. 31. P. 7731–7736. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b04506
- Matsarskaia O., Roosen-Runge F., Lotze G., Möller J., Mariani A., Zhang F., Schreiber F.* Tuning phase transitions of aqueous protein solutions by multivalent cations // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. Vol. 20, no. 42. P. 27214–27225. doi: 10.1039/c8cp05884a
- Miti T., Mulaj M., Schmit J. D., Muschol M.* Stable, metastable and kinetically trapped amyloid aggregate phases // *Biomacromolecules*. 2015. Vol. 16, no. 1. P. 326–335. doi: 10.1021/bm501521r
- Pavičević A., Luo J., Popović-Bijelić A., Mojović M.* Maleimido-proxyl as an EPR spin label for the evaluation of conformational changes of albumin // *Eur. Biophys. J.* 2017. Vol. 46, no. 8. P. 773–787. doi: 10.1007/s00249-017-1257-z
- Peters T.* All about albumin: biochemistry, genetics and medical applications. San Diego, CA, Academic Press, Inc., 1996.
- Reslan M., Kayser V.* The effect of deuterium oxide on the conformational stability and aggregation of bovine serum albumin // *Pharm. Dev. Technol.* 2016. Vol. 23, no. 10. P. 1030–1036. doi: 10.1080/10837450.2016.1268157
- Rezaei T. M., Moghaddamnia S. H., Ranjbar B., Amani M., Marashi S.-A.* Conformational study of human serum albumin in pre-denaturation temperatures

by differential scanning calorimetry, circular dichroism and UV spectroscopy // *J. Biochem. Mol. Biol.* 2006. Vol. 39, no. 5. P. 530–536. doi: 10.5483/BMBRep.2006.39.5.530

Royer C., Winter R. Protein hydration and volumetric properties // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2011. Vol. 16, no. 6. P. 568–571. doi: 10.1016/j.cocis.2011.04.008

Rozhkov S. P. Phase transitions and precrystallization processes in a water-protein-electrolyte system // *J. Cryst. Growth.* 2004. Vol. 273, no. 1–2. P. 266–279. doi: 10.1016/j.jcrysgro.2004.08.021

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Effects of inorganic salts on the structural heterogeneity of serum albumin solutions // *Eur. Biophys. J.* 2000. Vol. 28, no. 8. P. 639–647. doi: 10.1007/s002490050004

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Thermodynamic study of protein phases formation and clustering in model water-protein-salt solutions // *Biophys. Chem.* 2010. Vol. 151, no. 1–2. P. 22–28. doi: 10.1016/j.bpc.2010.04.007

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Dynamic protein clusterization in supercritical region of the phase diagram of water-protein-salt solutions // *J. Supercrit. Fluid.* 2014. Vol. 95. P. 68–74. doi: 10.1016/j.supflu.2014.07.028

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Stable, metastable, and supercritical phases in solutions of globular proteins between upper and lower denaturation temperatures // *Biophysics.* 2017. Vol. 62, no. 4. P. 539–546. doi: 10.1134/S0006350917040182

Sanfelice D., Temussi P. A. Cold denaturation as a tool to measure protein stability // *Biophys. Chem.* 2016. Vol. 208. P. 4–8. doi: 10.1016/j.bpc.2015.05.007

Senske M., Constantinescu-Aruxandei D., Havenith M., Herrmann Ch., Weingärtner H., Ebbinghaus S. The temperature dependence of the Hofmeister series: thermodynamic fingerprints of cosolute – protein interactions // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. Vol. 18, no. 43. P. 29698–29708. doi: 10.1039/c6cp05080h

Shin Y., Brangwynne C. P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease // *Science.* 2017. Vol. 357, no. 6357. pii: eaaf4382. doi: 10.1126/science.aaf4382

Smeller L. Pressure temperature phase diagrams of biomolecules // *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1595, no. 1–2. P. 11–29. doi: 10.1016/s0167-4838(01)00332-6

Treuel L., Brandholt S., Maffre P., Wiegele S., Shang L., Nienhaus G. U. Impact of protein modification on the protein corona on nanoparticles and nanoparticle cell interactions // *ACS Nano.* 2014. Vol. 8, no. 1. P. 503–513. doi: 10.1021/nn405019v

Uversky V. N., Li J., Fink A. L. Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-Synuclein // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276, no. 47. P. 44284–44296. doi: 10.1074/jbc.M105343200

Vekilov P. G. Phase diagrams and kinetics of phase transitions in protein solutions // *J. Phys. Condens. Matter.* 2012. Vol. 24, no. 19. P. 193101. doi: 10.1088/0953-8984/24/19/193101

Wang Y., Annunziata O. Comparison between protein-polyethylene glycol (PEG) interactions and the effect of PEG on protein-protein interactions using the liquid-liquid phase transition // *J. Phys. Chem. B.* 2006. Vol. 111, no. 5. P. 1222–1230. doi: 10.1021/jp065608u

Wang Y., Latypov R. F., Lomakin A., Meyer J. A., Kerwin B. A., Vunnum S., Benedek G. B. Quantitative evaluation of colloidal stability of antibody solutions using PEG-induced liquid-liquid phase separation // *Mol. Pharmaceutics.* 2014. Vol. 11, no. 5. P. 1391–1402. doi: 10.1021/mp400521b

Wetzel R., Becker M., Behlke J., Billwitz H., Böhm S., Ebert B., Hamann H., Krumbiegel J., Lassmann G. Temperature behaviour of human serum albumin // *Eur. J. Biochem.* 1980. Vol. 104. P. 469–478. doi: 10.1111/j.1432-1033.1980.tb04449.x

Zaman M., Ahmad E., Qadeer A., Rabbani G., Khan R. Nanoparticles in relation to peptide and protein aggregation // *Int. J. Nanomedicine.* 2014. Vol. 9. P. 899–912. doi: 10.2147/IJN.S54171

Zhang F., Skoda M. W. A., Jacobs R. M. J., Martin R. A., Martin C. M., Schreiber F. Protein interactions studied by SAXS: effect of ionic strength and protein concentration for BSA in aqueous solutions // *J. Phys. Chem. B.* 2006. Vol. 111, no. 1. P. 251–259. doi: 10.1021/jp0649955

Zhang F., Weggler S., Ziller M. J., Ianeselli L., Heck B. S., Hildebrandt A., Kohlbacher O., Skoda M. W. A., Jacobs R. M. J., Schreiber F. Universality of protein reentrant condensation in solution induced by multivalent metal ions // *Proteins.* 2010. Vol. 78, no. 16. P. 3450–3457. doi: 10.1002/prot.22852

Поступила в редакцию 29.03.2020

## References

Bondarev G. N., Isaev-Ivanov V. V., Isaeva-Ivanova L. S., Kleiner A. C., Krasotskaya G. I., Fomichev V. N., Nezhlin P. C., Krymov V. N., Oranskii L. G., Bakhmatkii V. D. Raspredelenie spinovoi metki tempodikhlorotriazina po molekule immunoglobulina [Distribution of the tempodichlorotriazine spin label in the immunoglobulin molecule]. *Biofizika* [Biophysics]. 1988. Vol. 33, no. 2. P. 212–215.

Gerasimov Ya. I., Dreving V. P., Eremin E. N., Kiselev A. V., Lebedev V. P., Panchenkov G. M., Shlygin A. I. Kurs fizicheskoi khimii [A course of physical chemistry]. Vol. 2. Moscow: Khimiya, 1973. 614 p.

Kuznetsov A. N. Metod spinovogo zonda (osnovy i primeneniye) [Spin probe method (basics and application)]. Moscow: Nauka, 1976. 209 p.

Käiväräinen A. I. Razdel'noe opredelenie sobstvennykh vremen korrelyatsii spin-mechenykh belkov i svyazannykh s nimi metok [Separate determination of inherent correlation times for spin-labeled proteins and labels coupled to them]. *Molekulyar. biol.* [Molecular Biol.] 1975. Vol. 9, no. 6. P. 805–811.

Landau M. A. Molekulyarnye mekhanizmy deistviya fiziologicheskii aktivnykh soedinenii [Molecular mecha-

nisms of physiologically active compounds action]. Moscow: Nauka, 1981. 262 p.

Likhtenstein G. I. Spin-labeling methods in molecular biology. London: John Wiley and Sons Ltd., 1976. 258 p.

Poole C. P. Electron spin resonance: a comprehensive treatise on experimental techniques. N. Y. e. a.: Interscience Publ., 1967. 810 p.

Rozhkov S. P. Izuchenie gibkosti nekotorykh belkov krovi metodom spinovoi metki [The study of the flexibility of some blood proteins by the spin label method]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Kupavna, 1984. 23 p.

Rozhkov S. P. Stabilization of protein by sucrose as shown by the spin label method. *Biophysics*. 1991. Vol. 36, no. 4. P. 565–570.

Rozhkov S. P. Stabilizatsiya al'bumina CaCl<sub>2</sub> i MgCl<sub>2</sub> reguliruemym vzaimodeistviem makromolekul: issledovanie metodom spinovoi metki [Stabilization of albumin by the CaCl<sub>2</sub>- and MgCl<sub>2</sub>-regulated interaction of macromolecules: A study by the spin-label method]. *Biofizika* [Biophysics]. 1997. Vol. 42, no. 5. P. 1020–1028.

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Measurement of specific surface energy of the protein hydration shell using spin label EPR. *Biophysics*. 2006. Vol. 51, no. 2. P. 196–201. doi: 10.1134/S0006350906020060

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Stable, metastable, and supercritical phases in solutions of globular proteins between upper and lower denaturation temperatures. *Biophysics*. 2017. Vol. 62, no. 4. P. 539–546. doi: 10.1134/S0006350917040182

Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Fazovye svoystva belkovykh rastvorov i denaturatsiya belka [Phase properties of protein solutions and protein denaturation]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. No. 6. 2019. P. 5–15. doi: 10.17076/eb1031

Rozhkov S. P., Käiväräinen A. I. Study of the flexibility of serum albumin molecules by the spin label method. *Biophysics*. 1985. Vol. 30, no. 5. P. 838–844.

Wasserman A. M., Kovarskii A. L. Spinovye metki i zondy v fiziko-khimii polimerov [Spin labels and zones in the physical chemistry of polymers]. Moscow: Nauka, 1986. 246 p.

Zhdanov R. I. Paramagnitnye modeli biologicheskii aktivnykh soedinenii [Paramagnetic models of biologically active compounds]. Moscow: Nauka, 1981. 280 p.

Adachi M., So M., Sakurai K., Kardos J., Goto Y. Supersaturation-limited and unlimited phase transitions compete to produce the pathway complexity in amyloid fibrillation. *J. Biol. Chem.* 2015. Vol. 290, no. 29. P. 18134–18145. doi: 10.1074/jbc.M115.648139

Alfano C., Sanfelice D., Martin S. R., Pastore A., Temussi P. A. An optimized strategy to measure protein stability highlights differences between cold and hot unfolded states. *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. P. 15428. doi: 10.1038/ncomms15428

Arakawa T., Timasheff S. N. Stabilization of protein structure by sugars. *Biochemistry*. 1982. Vol. 21. P. 6536–6544. doi: 10.1021/bi00268a033

Auer S., Ricchiuto P., Kashchiev D. Two-step nucleation of amyloid fibrils: omnipresent or not? *J. Mol. Biol.* 2012. Vol. 422, no. 5. P. 723–730. doi: 10.1016/j.jmb.2012.06.022

Aznauryan M., Nettels D., Holla A., Hofmann H., Schuler B. Single-molecule spectroscopy of cold de-

naturation and the temperature-induced collapse of unfolded proteins. *J. Am. Chem. Soc.* 2013. Vol. 135, no. 38. P. 14040–14043. doi: 10.1021/ja407009w

Berliner L. J. (ed.) Spin labeling. Theory and applications. New York: Academic Press, 1976. 592 p.

Bian L., Wu D., Hu W. Temperature-induced conformational transition of bovine serum albumin in neutral aqueous solution by reversed-phase liquid chromatography. *Biomed. Chromatogr.* 2014. Vol. 28. P. 295–301. doi: 10.1002/bmc.3020

Borzova V. A., Markossian K. A., Chebotareva N. A., Klyemenov S. Y., Stein-Margolina V. A., Markov D. I., Kurganov B. I., Poliansky N. B., Muranov K. O., Shubin V. V. Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, no. 4: e0153495. doi: 10.1371/journal.pone.0153495

Braun M. K., Wolf M., Matsarskaia O., DaXVela S., Roosen-Runge F., Sztucki M., Roth R., Zhang F., Schreiber F. Strong isotope effects on effective interactions and phase behavior in protein solutions in the presence of multivalent ions. *J. Phys. Chem. B*. 2017. Vol. 121, no. 7. P. 1731–1739. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b12814

Buell A. K. The nucleation of protein aggregates – from crystals to amyloid fibrils. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 2017. Vol. 329. P. 187–226. doi: 10.1016/bs.ircmb.2016.08.014

Dignon G. L., Zheng W., Kim Y. C., Mittal J. Temperature-Controlled Liquid–Liquid Phase Separation of Disordered Proteins. *ACS Cent. Sci.* 2019. Vol. 5(5). P. 821–830. doi: 10.1021/acscentsci.9b00102

Dumetz A. C., Chockla A. M., Kaler E. W., Lenhoff A. M. Protein phase behavior in aqueous solutions: crystallization, liquid – liquid phase separation, gels, and aggregates. *Biophys. J.* 2008. Vol. 94, no. 2. P. 570–583. doi: 10.1529/biophysj.107.116152

Fullerton G. D., Kanal K. M., Cameron I. L. Osmotically unresponsive water fraction on proteins: Non-ideal osmotic pressure of bovine serum albumin as a function of pH and salt concentration. *Cell Biol. Int.* 2006. Vol. 30, no. 1. P. 86–92. doi: 10.1016/j.cellbi.2005.11.001

Grigsby J. J., Blanch H. W., Prausnitz J. M. Cloud-point temperatures for lysozyme in electrolyte solutions: effect of salt type, salt concentration and pH. *Biophys. Chem.* 2001. Vol. 91, no. 3. P. 231–243. doi: 10.1016/s0301-4622(01)00173-9

Iosin M., Canpean V., Astilean S. Spectroscopic studies on pH- and thermally induced conformational changes of bovine serum albumin adsorbed onto gold nanoparticles. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2011. Vol. 217, no. 2–3. P. 395–401. doi: 10.1016/j.jphotochem.2010.11.012

Juarez J., Goy-Lopez S. G., Cambón A., Taboada P., Mosquera V. Influence of electrostatic interactions on the fibrillation process of human serum albumin. *J. Phys. Chem. B*. 2009. Vol. 113, no. 30. P. 10521–10529. doi: 10.1021/jp902224d

Juarez J., Taboada P., Goy-Lopez S., Cambón A., Madec M.-B., Yeates S. G., Mosquera V. Additional supra-self assembly of human serum albumin under amyloid-like forming solution conditions. *J. Phys. Chem. B*. 2009. Vol. 113, no. 36. P. 12391–12399. doi: 10.1021/jp904167e

- Li D., Zhang W., Yu X., Wang Z., Su Z., Wei G. When biomolecules meet graphene: from molecule-level interactions to material design and applications. *Nanoscale*. 2016. Vol. 8, no. 47. P. 19491–19509. doi: 10.1039/C6NR07249F
- Ma L., Cui Q. Temperature dependence of salt-protein association is sequence specific. *Biochemistry*. 2006. Vol. 45, no. 48. P. 14466–14472. doi: 10.1021/bi0613067
- Matsarskaia O., Braun M. K., Roosen-Runge F., Wolf M., Zhang F., Roth R., Schreiber F. Cation-induced hydration effects cause lower critical solution temperature behavior in protein solutions. *J. Phys. Chem. B*. 2016. Vol. 120, no. 31. P. 7731–7736. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b04506
- Matsarskaia O., Roosen-Runge F., Lotze G., Möller J., Mariani A., Zhang F., Schreiber F. Tuning phase transitions of aqueous protein solutions by multivalent cations. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. Vol. 20, no. 42. P. 27214–27225. doi: 10.1039/c8cp05884a
- Miti T., Mulaj M., Schmit J. D., Muschol M. Stable, metastable and kinetically trapped amyloid aggregate phases. *Biomacromolecules*. 2015. Vol. 16, no. 1. P. 326–335. doi: 10.1021/bm501521r
- Pavićević A., Luo J., Popović-Bijelić A., Mojović M. Maleimido-proxyl as an EPR spin label for the evaluation of conformational changes of albumin. *Eur. Biophys. J.* 2017. Vol. 46, no. 8. P. 773–787. doi: 10.1007/s00249-017-1257-z
- Peters T. All about albumin: biochemistry, genetics and medical applications. San Diego, CA, Academic Press, Inc., 1996.
- Reslan M., Kayser V. The effect of deuterium oxide on the conformational stability and aggregation of bovine serum albumin. *Pharm. Dev. Technol.* 2016. Vol. 23, no. 10. P. 1030–1036. doi: 10.1080/10837450.2016.1268157
- Rezaei T. M., Moghaddamnia S. H., Ranjbar B., Amani M., Marashi S.-A. Conformational study of human serum albumin in pre-denaturation temperatures by differential scanning calorimetry, circular dichroism and UV spectroscopy. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2006. Vol. 39, no. 5. P. 530–536. doi: 10.5483/BMBRep.2006.39.5.530
- Royer C., Winter R. Protein hydration and volumetric properties. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2011. Vol. 16, no. 6. P. 568–571. doi: 10.1016/j.cocis.2011.04.008
- Rozhkov S. P. Phase transitions and precrystallization processes in a water-protein-electrolyte system. *J. Cryst. Growth*. 2004. Vol. 273, no. 1–2. P. 266–279. doi: 10.1016/j.jcrysgro.2004.08.021
- Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Effects of inorganic salts on the structural heterogeneity of serum albumin solutions. *Eur. Biophys. J.* 2000. Vol. 28, no. 8. P. 639–647. doi: 10.1007/s002490050004
- Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Thermodynamic study of protein phases formation and clustering in model water-protein-salt solutions. *Biophys. Chem.* 2010. Vol. 151, no. 1–2. P. 22–28. doi: 10.1016/j.bpc.2010.04.007
- Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Dynamic protein clusterization in supercritical region of the phase diagram of water-protein-salt solutions. *J. Supercrit. Fluid.* 2014. Vol. 95. P. 68–74. doi: 10.1016/j.supflu.2014.07.028
- Rozhkov S. P., Goryunov A. S. Stable, metastable, and supercritical phases in solutions of globular proteins between upper and lower denaturation temperatures. *Biophysics*. 2017. Vol. 62, no. 4. P. 539–546. doi: 10.1134/S0006350917040182
- Sanfelice D., Temussi P. A. Cold denaturation as a tool to measure protein stability. *Biophys. Chem.* 2016. Vol. 208. P. 4–8. doi: 10.1016/j.bpc.2015.05.007
- Senske M., Constantinescu-Aruxandei D., Havenith M., Herrmann Ch., Weingärtner H., Ebbinghaus S. The temperature dependence of the Hofmeister series: thermodynamic fingerprints of cosolute – protein interactions. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. Vol. 18, no. 43. P. 29698–29708. doi: 10.1039/c6cp05080h
- Shin Y., Brangwynne C. P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science*. 2017. Vol. 357, no. 6357. pii: eaaf4382. doi: 10.1126/science.aaf4382
- Smeller L. Pressure temperature phase diagrams of biomolecules. *Biochim. Biophys. Acta*. 2002. Vol. 1595, no. 1–2. P. 11–29. doi: 10.1016/s0167-4838(01)00332-6
- Treuel L., Brandholt S., Maffre P., Wiegele S., Shang L., Nienhaus G. U. Impact of protein modification on the protein corona on nanoparticles and nanoparticle cell interactions. *ACS Nano*. 2014. Vol. 8, no. 1. P. 503–513. doi: 10.1021/nn405019v
- Uversky V. N., Li J., Fink A. L. Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-Synuclein. *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276, no. 47. P. 44284–44296. doi: 10.1074/jbc.M105343200
- Vekilov P. G. Phase diagrams and kinetics of phase transitions in protein solutions. *J. Phys. Condens. Matter*. 2012. Vol. 24, no. 19. P. 193101. doi: 10.1088/0953-8984/24/19/193101
- Wang Y., Annunziata O. Comparison between protein-polyethylene glycol (PEG) interactions and the effect of PEG on protein-protein interactions using the liquid-liquid phase transition. *J. Phys. Chem. B*. 2006. Vol. 111, no. 5. P. 1222–1230. doi: 10.1021/jp065608u
- Wang Y., Latypov R. F., Lomakin A., Meyer J. A., Kerwin B. A., Vunnum S., Benedek G. B. Quantitative evaluation of colloidal stability of antibody solutions using PEG-induced liquid-liquid phase separation. *Mol. Pharmaceutics*. 2014. Vol. 11, no. 5. P. 1391–1402. doi: 10.1021/mp400521b
- Wetzel R., Becker M., Behlke J., Billwitz H., Böhm S., Ebert B., Hamann H., Krumbiegel J., Lassmann G. Temperature behaviour of human serum albumin. *Eur. J. Biochem.* 1980. Vol. 104. P. 469–478. doi: 10.1111/j.1432-1033.1980.tb04449.x
- Zaman M., Ahmad E., Qadeer A., Rabbani G., Khan R. Nanoparticles in relation to peptide and protein aggregation. *Int. J. Nanomedicine*. 2014. Vol. 9. P. 899–912. doi: 10.2147/IJN.S54171
- Zhang F., Skoda M. W. A., Jacobs R. M. J., Martin R. A., Martin C. M., Schreiber F. Protein interactions studied by SAXS: effect of ionic strength and protein concentration for BSA in aqueous solutions. *J. Phys. Chem. B*. 2006. Vol. 111, no. 1. P. 251–259. doi: 10.1021/jp0649955

Zhang F., Weggler S., Ziller M. J., Ianeselli L., Heck B. S., Hildebrandt A., Kohlbacher O., Skoda M. W. A., Jacobs R. M. J., Schreiber F. Universality of protein reentrant condensation in solution induced by

multivalent metal ions. *Proteins*. 2010. Vol. 78, no. 16. P. 3450–3457. doi: 10.1002/prot.22852

Received March 29, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### **Рожков Сергей Павлович**

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

### **Горюнов Андрей Сергеевич**

ведущий научный сотрудник, к. ф.-м. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: goryunov@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 765264

### **Крупнова Марина Юрьевна**

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: mukrupnova@rambler.ru  
тел.: (8142) 769810

## CONTRIBUTORS:

### **Rozhkov, Sergey**

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

### **Goryunov, Andrey**

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

### **Krupnova, Marina**

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

УДК 547.979.733; 544.142.3; 547.823

## **Zn-ТЕТРАФЕНИЛПОРФИН КАК МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ПРИРОДЫ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ТЕРМОДИНАМИКУ АКСИАЛЬНОЙ КООРДИНАЦИИ С МЕТАЛЛОПОРФИРИНАМИ**

**В. П. Андреев<sup>1</sup>, П. С. Соболев<sup>1</sup>, Д. О. Зайцев<sup>1</sup>, Н. Ш. Лебедева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Петрозаводский государственный университет, Россия

<sup>2</sup> Институт химии растворов им. Г. А. Крестова РАН, Иваново, Россия

Методом электронной спектроскопии изучена координация цинк(II)тетрафенилпорфина (Zn-ТФП) с N-оксидами пиридинов в хлористом метиле. Между логарифмами констант устойчивости комплексов, смещениями максимумов полос поглощения Zn-ТФП в электронных спектрах при комплексообразовании, основностью лиганда и  $\sigma$ -константами Гаммета заместителей наблюдаются линейные корреляции. В случае пиридинов в  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CCl}_4$  и 1,2-дихлорэтане комплексообразование является изоравновесным компенсационным, но с N-оксидами пиридинов замена хлороформа (изоэнтальпийный процесс) на хлористый метилен (изоравновесный антикомпенсационный процесс) приводит к кардинальным изменениям в термодинамике координации. Смена изоэнтальпийного поведения N-оксидов пиридинов в хлороформе на антикомпенсационное в хлористом метиле при координации с Zn-ТФП может указывать на изменение механизма комплексообразования. Это может быть обусловлено изменением типа гибридизации атома кислорода группы N→O лиганда в зависимости от полярности растворителя. В пользу этого предположения говорит тот факт, что координация анилинов с Zn-ТФП в хлороформе (как и в случае N-оксидов, возможна перегибридизация атома азота аминогруппы) также является изоэнтальпийным процессом, но в хлористом метиле становится изоравновесной в отличие от N-оксидов пиридинов с положительным значением  $\beta$ . Нами обнаружены линейные корреляции между константами скоростей реакций пероксидазы хрена в водных растворах с анилинами и константами устойчивости комплексов Zn-ТФП с теми же лигандами в хлороформе. Мы надеемся, что настоящая работа поможет выяснению важных закономерностей в этой области биохимии, в частности термодинамических особенностей функционирования пероксидаз.

**Ключевые слова:** комплексообразование; металлопорфины; гетероароматические N-оксиды; изоравновесный, изоэнтальпийный, компенсационный и антикомпенсационный эффекты.

**V. P. Andreev, P. S. Sobolev, D. O. Zaitsev, N. Sh. Lebedeva. Zn-TETRAPHENYLPORPHINE AS A MODEL SYSTEM FOR STUDYING THE INFLUENCE OF THE NATURE OF THE SOLVENT ON THE THERMODYNAMICS OF AXIAL COORDINATION WITH METALLOPORPHYRINS**

The coordination of zinc(II)tetraphenylporphine with pyridine N-oxides in methylene chloride was studied by electron spectroscopy. Linear correlations are observed between

the logarithms of the stability constants of complexes, shifts of the maximums of Zn-TPP absorption bands in electronic spectra during complexation, the basicity of the ligand, and the Hammett  $\sigma$  constants of the substituent. In the case of pyridines in  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CCl}_4$ , and 1,2-dichloroethane, complexation is an isoequilibrium compensation, but with N-oxides of pyridines, the replacement of chloroform (isoenthalpic process) with methylene chloride (isoequilibrium anticompensation process) leads to drastic changes in the thermodynamics of coordination. The change from isoenthalpic behavior of pyridine N-oxides in chloroform to anticompensatory behavior in methylene chloride in coordination with Zn-TPP may indicate a change in the mechanism of complexation. This may be due to a change in the type of hybridization of the oxygen atom of the N–O group of the ligand depending on the polarity of the solvent. This hypothesis is supported by the fact that the coordination of anilines with Zn-TPP in chloroform (like in the case of N-oxides, amino-group nitrogen atom rehybridization is possible) is also an isoenthalpic process, but it changes to isoequilibrium in methylene chloride, in contrast to pyridine N-oxides with a positive  $\beta$  value. We found good linear correlations between the rate constants of horseradish peroxidase reactions in aqueous solutions with anilines and the stability constants of Zn-TPP complexes with the same ligands in chloroform. We hope that this work will help clarify important patterns in this area of biochemistry, in particular the thermodynamic features of peroxidase functioning.

**Key words:** complexation; metalloporphyrins; heteroaromatic N-oxides; isoequilibrium, isoenthalpic, compensation and anticompensation effects.

## Введение

Неослабевающий интерес к координационным свойствам порфиринов и металлопорфиринов (МП) обусловлен прежде всего их биологической значимостью. К ним относятся различные гемы (железосодержащие производные протопорфирина IX), являющиеся простетическими группами таких белков и ферментов, как гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза, пероксидаза и многих других.

Функционирование всех металлопорфиринов *in vivo* связано с процессами комплексообразования с аксиальными лигандами, природа которых изучена к настоящему времени в недостаточной степени, что вызвано неустойчивостью природных МП в растворах, сложностью исследования межмолекулярных взаимодействий с их участием и ограниченной чувствительностью большинства физико-химических методов исследования [Андреев, Соболев, 2015].

Аксиальная координация – одно из характерных и важнейших свойств МП, сущность которого состоит в том, что центральный атом металла образует донорно-акцепторные связи с одним, двумя или большим количеством лигандов. Такие важнейшие биологические функции металлопорфиринов, как фотосинтез, обратимое связывание  $\text{O}_2$  и многие другие, обусловлены в первую очередь их комплексообразованием с  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , азотсодержащими гетероциклами, белками и другими молекулами [Андреева, 1988; Филиппович, 1999; Haider et al., 2002; Андреев, Соболев, 2015].

Полагают, что именно процессами аксиальной координации обусловлена биологическая активность некоторых лекарственных веществ. Например, такие антималярийные хинолиновые препараты, как хинин, хлорохин, амодиахин и мефлохин, дают аддукты с гематином (который образуется в малярийном плазмодии из гема гемоглобина хозяина), оказывающим токсическое действие на малярийный плазмодий [Egan et al., 2000; Laure et al., 2012].

Успешное же использование металлопорфиринов в лечебной практике (при создании эффективных кровезаменителей, лекарственных препаратов, транспортных агентов) требует наличия информации о зависимости влияния природы МП и лиганда на кинетические и термодинамические свойства чрезвычайно разнообразных природных и модельных порфириновых систем. Особенно это актуально в связи с обнаруженным усилением в 7–10 раз действия ряда лекарственных препаратов, вызванных добавлением цинкового комплекса протопорфирина [Лебедева и др., 2004]. Однако термодинамические закономерности комплексообразования МП, несмотря на огромный к ним интерес, до настоящего времени изучены недостаточно [Андреев, Соболев, 2015; Basak et al., 2016; Dezhampanah, Firouzi, 2016].

Гетероароматические N-оксиды, в отличие от неокисленных аналогов, обладают уникальной совокупностью высокой донорной способности группы N–O и ее пространственной доступности. Спектр их биологической активности чрезвычайно широк: от экологически безопасных стимуляторов роста сельскохо-

зайственных растений [Пономаренко, 1999] и лекарственных препаратов до чрезвычайно мощных мутагенов и канцерогенов [Liu, Guo, 2001]. Кроме того, следует подчеркнуть, что гетероциклические соединения, попадая в организм, подвергаются метаболическим превращениям, продуктами которых являются и N-окисленные производные, способные взаимодействовать с различными порфириновыми системами клеток. Например, восстановление алифатических и гетероароматических N-оксидов часто опосредуется гем-содержащими ферментами (такими, как триметиламин N-оксидредуктаза) или даже гемом без белковой части. Показано, что N-оксиды 2-н-гептил- и 2-н-нонил-4-гидроксинолина, выделяемые бактериями рода *Pseudomonas* и обладающие мощным антибактериальным эффектом, связываясь с гем-содержащими белками, ингибируют электронный транспорт в мембранах бактерий, хлоропластов и митохондрий [Андреев, Соболев, 2015].

## Материалы и методы

N-оксиды пиридинов синтезировали согласно работе [Ochiai, 1967] путем окисления соответствующих гетероциклов пергидролем в среде ледяной уксусной кислоты. N-оксид 4-нитропиридина получали нитрованием N-оксида пиридина, который также был подвергнут нуклеофильному замещению нитрогруппы под действием метилата натрия с целью синтеза N-оксида 4-метоксипиридина. N-оксид 4-стирилпиридина получали конденсацией N-оксида 4-метилпиридина с бензальдегидом. Растворители (хлороформ и хлористый метилен) очищали согласно работе Гордона и Форда [1976] и стабилизировали гексенон-1 (0,1 % по объему) [Lebedeva et al., 2001].

Константы устойчивости Zn-ТФП с N-оксидами пиридинов рассчитывали, как описано в работе Андреева с соавт. [2018]. Термодинамические константы процесса комплексообразования рассчитывали на основании зависимости значений констант устойчивости при различных температурах (эксперименты для каждого из лигандов повторяли 4 раза) графическим методом с учетом формулы (первое приближение Улиха) [Физическая..., 1987]:

$$\ln K = -\Delta H^0/RT + \Delta S^0/R,$$

предполагая, что в исследуемом узком интервале температур (283–298 К) значения  $\Delta H^0$  и  $\Delta S^0$  остаются постоянными. Значения величин  $\Delta H^0$  и  $\Delta S^0$  рассчитывали для каждой температурной зависимости K по отдельности, после

чего находили их среднее значение и стандартное отклонение.

## Результаты и обсуждение

Настоящая работа посвящена сравнению комплексообразования Zn-ТФП в хлороформе и хлористом метиле с шестью X-замещенными N-оксидами пиридинов, где X = 4-морфолино (1а), 4-МеО (1б), 4-стирил (1в), 3-СООEt (1г), 4-CN (1д), 4-NO<sub>2</sub> (1е), и предпринята попытка выяснить причины того, что термодинамика данного процесса разительно отличается от таковой для неокисленных аналогов.

Нами обнаружено, что в случае координации N-оксидов пиридинов с Zn-ТФП в хлористом метиле, как и в случае пиридинов в хлороформе, 1,2-дихлорэтаноле и четыреххлористом углероде и N-оксидов пиридинов в хлороформе, между логарифмами констант устойчивости комплексов ( $\lg K$ ), смещениями максимумов ( $\Delta\lambda$ ) полос поглощения Zn-ТФП в электронных спектрах при комплексообразовании, основностью ( $pK_a$ ) лиганда и  $\sigma$ -константами Гаммета заместителей наблюдаются линейные корреляции ( $r = 0,97-0,993$ ) (табл.).

Кроме того, для обоих классов (пиридины и их N-оксиды) лигандов при замене хлороформа на хлористый метилен  $\Delta\lambda_{||}$  уменьшается, а K возрастает. Особо следует отметить тот факт, что при построении корреляции в координатах  $\lg K - \Delta\lambda$  в хлороформе поведение 3- и 4-замещенных пиридинов и N-оксидов пиридинов может быть описано одним и тем же уравнением ( $\lg K = 0,272\Delta\lambda_{||} - 0,623$ ;  $n = 19$ ,  $r = 0,992$ ), тогда как в хлористом метиле их поведение подчиняется двум разным прямым (для пиридинов  $\lg K = 0,382\Delta\lambda_{||} - 1,58$ ,  $n = 4$ ,  $r = 0,998$ ; для N-оксидов пиридинов  $\lg K = 0,436\Delta\lambda_{||} - 1,50$ ,  $n = 6$ ,  $r = 0,993$ ). Причина этого различия неясна.

Однако наиболее сильные отличия при смене растворителя характерны для термодинамики координации: для пиридинов в хлороформе, четыреххлористом углероде и 1,2-дихлорэтаноле (изоравновесная температура T равна 194, 144 и 61 К соответственно), а также N-оксидов пиридинов в хлористом метиле ( $\Delta H^0 = -583\Delta S^0 - 16800$ ,  $n = 6$ ,  $r = 0,9813$ ) процессы являются изоравновесными, т. е. при смене заместителя в пиридиновом кольце  $\Delta H^0$  изменяется пропорционально  $\Delta S^0$ , но для N-оксидов пиридинов в хлороформе  $\Delta H^0$  является постоянным (изоэнтальпийный процесс).

При этом  $\Delta S^0$  для N-оксидов пиридинов в хлористом метиле ( $-2,7...+10,8$  Дж/моль·К)



Константы устойчивости ( $K_{298}$ ), термодинамические величины ( $\Delta H^0$ ,  $\Delta S^0$ ) образования молекулярных комплексов Zn-ТФП с гетероароматическими N-оксидами пиридинов в хлористом метиле и хлороформе при 25 °С, смещения максимумов полос поглощения I и II ( $\Delta\lambda_I$ ,  $\Delta\lambda_{II}$ ) в спектрах Zn-ТФП при комплексообразовании, константы заместителей ( $\sigma$ ) и значения основности ( $pK_a$  (25 °С)) лигандов в воде при 25 °С

Stability constants ( $K_{298}$ ), thermodynamic values ( $\Delta H^0$ ,  $\Delta S^0$ ) of the formation of Zn-TPP molecular complexes with heteroaromatic pyridine N-oxides in methylene chloride and chloroform at 25°C, shifts of the maximum absorption bands I and II ( $\Delta\lambda_I$ ,  $\Delta\lambda_{II}$ ) in the Zn-TPP spectra during complexation, constants of substituents ( $\sigma$ ) and basicity values ( $pK_a$  (25 °C)) of ligands in water at 25 °C

N	Лиганд N-оксид Ligand N-oxide	$K_{298}$	$pK_a$ (25 °C) *	$\sigma^*$	$\Delta\lambda_{II}$	$\Delta\lambda_I$	$-\Delta H^0$ , Дж/моль J/mol	$\Delta S^0$ , Дж/(моль·К) J/(mol·K)
$CH_2Cl_2$								
1	1a	32 195 ± 100	3,25	-1	13,9	16,4	22 590 ± 150	10,8 ± 0,6
2	1б	16 027 ± 610	2,05	-0,268	12,7	14,3	21 750 ± 520	7,4 ± 1,4
3	1в	8 625 ± 165	1,10	0,06	14	12,4	20 440 ± 960	6,7 ± 3,4
4	1г	3 850 ± 40	-	0,37	12,1	13,8	19 350 ± 580	3,6 ± 2,3
5	1д	366 ± 10	-1,17	0,628	9,3	11,7	15 500 ± 240	-3,2 ± 0,9
6	1е	235 ± 5	-1,7	0,778	8,9	10,7	14 280 ± 230	-2,7 ± 0,76
$CHCl_3$ **								
1	1a	12 020 ± 440	3,25	-1	15,6	18,8	13 470 ± 240	33,0 ± 1,0
2	1б	2 470 ± 63	2,05	-0,268	14,5	17,0	13 940 ± 260	19,0 ± 8
3	1в	1 142 ± 25	1,10	-0,06	13,4	15,6	13 800 ± 220	12,5 ± 4
4	1г	454 ± 9	-	0,37	12,4	15,0	13 880 ± 290	4,6 ± 4
5	1д	Не обнаружено n/d	-1,17	0,628	10,8	13,4	-	-
6	1е	134 ± 3	-1,7	0,778	10,0	12,0	13 740 ± 150	-5,7 ± 4

Примечание. \* По: Андреев, Соболев, 2015. \*\* Данные взяты из нашей работы [Andreev et al., 2014], где описана координация Zn-ТФП в хлороформе с 18 N-оксидами пиридинов и 13 N-оксидами хинолинов.

Note. \* After: Andreev, Sobolev, 2015. \*\* Data are taken from our work [Andreev et al., 2014] where the coordination of Zn-TPP in chloroform with 18 N-oxides of pyridines and 13 N-oxides of quinolines is described.

изменяется в более узком диапазоне, чем в хлороформе (-5,7...+33,0 Дж/моль·К) (табл.).

Особо отметим, что линейная корреляция между  $\Delta H^0$  и  $\Delta S^0$  для координации Zn-ТФП с N-оксидами пиридинов в хлористом метиле описывается прямой (рис. 1) с отрицательным значением  $\beta$  (-583 K), т. е. температурой, при которой варьирование заместителя не должно приводить к изменению константы равновесия, т. к. изменения энтальпии должны точно компенсироваться изменениями энтропии.

Температурная зависимость  $\Delta G$  для N-оксидов пиридинов подтверждает, что  $\Delta G$  и константы устойчивости при температуре около -600 K должны были бы перестать зависеть от структуры N-оксидов пиридинов, а при дальнейшем понижении температуры должно было бы произойти обращение их зависимости от электронных эффектов заместителей в положениях 3 и 4 пиридинового кольца, например, комплекс с N-оксидом 4-нитропиридина должен был бы стать более устойчивым, чем с N-оксидом 4-морфолинопиридина. С другой стороны, зависимость  $\Delta G$  от  $\sigma$  показывает, что для N-оксида, имеющего в пиридиновом коль-

це заместитель с  $\sigma \approx 0,5$ ,  $\Delta G$  не должно зависеть от температуры.

Еще раз отметим, что подобные рассуждения, характерные для изоравновесных (изотермодинамических) процессов, в нашем случае отличаются тем, что прямая  $\Delta H - \Delta S$  и величина  $\beta$  имеют соответственно отрицательные наклон и значение в шкале Кельвина. Согласно данным таблицы, в хлористом метиле изменения  $\Delta H$  при координации Zn-ТФП с N-оксидами пиридинов становятся более существенными, а  $\Delta S$  при вариациях структуры лиганда – менее значимыми по сравнению с хлороформом.

Линерт писал, что в химии мало тем, в которых возникло бы столько недоразумений и противоречий, как в связи с так называемым изокинетическим соотношением (ИКС) или компенсационным законом. По его мнению, правильная процедура демонстрации ИКС требует «изучить, есть ли общая точка пересечения в температурной зависимости константы равновесия» [Linert et al., 1983]. Учитывая данное пожелание, мы проверили зависимость  $R \ln K - 1/T$  и подтвердили, что пересечение прямых (рис. 2) должно происходить около -600 K.

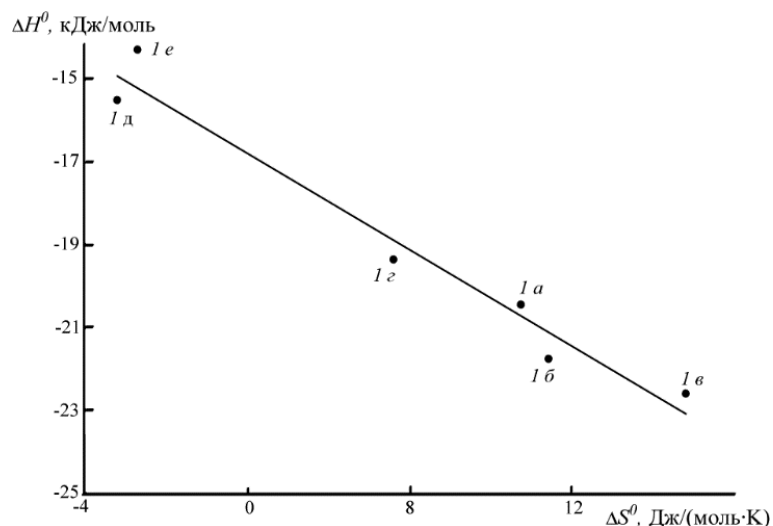


Рис. 1. Зависимость изменений энтальпий ( $\Delta H^0$ ) от изменений энтропий ( $\Delta S^0$ ) процессов комплексообразования Zn-ТФП в хлористом метиле

Fig. 1. Dependence of enthalpy changes ( $\Delta H^0$ ) on entropy changes ( $\Delta S^0$ ) of Zn-TPP complex formation processes in methylene chloride

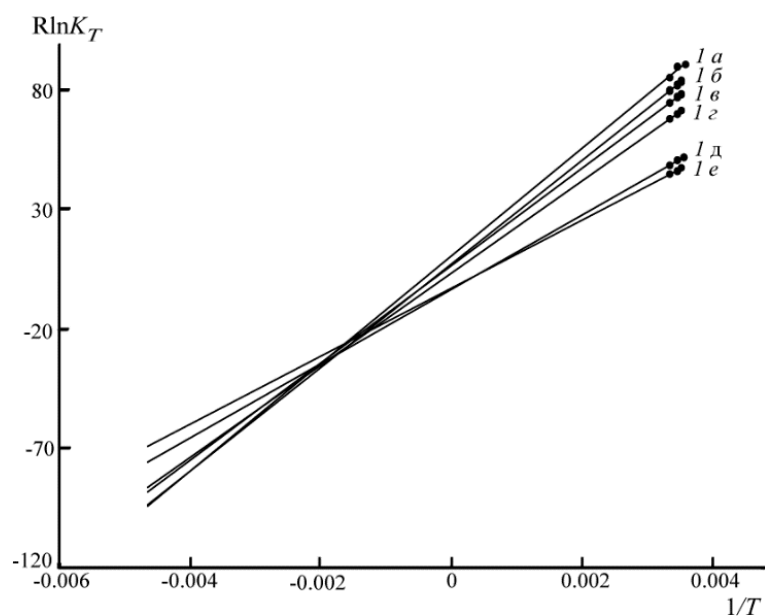


Рис. 2. Зависимость  $R\ln K$  от  $1/T$  для процесса координации Zn-ТФП с N-оксидами пиридинов в хлористом метиле

Fig. 2. Dependence of  $R\ln K$  on  $1/T$  for the coordination process of Zn-TPP with pyridine N-oxides in methylene chloride

В 2016 г. отмечалось, что за почти 90 лет было сделано много попыток объяснить эффекты «энтальпийно-энтропийной компенсации» [Pan et al., 2016], но и до сих пор ситуация остается сложной и нерешенной. Еще более необъяснимы линейные корреляции с отрицательным наклоном прямой в координатах  $\Delta H - \Delta S$  (антикомпенсационный эффект), которые указывают на то, что энтальпия и энтропия из-

меняются в противоположных направлениях [Шмид, Сапунов, 1985].

Действительно, для пиридинов в хлороформе, 1,2-дихлорэтано и  $CCl_4$  симбатное увеличение  $\Delta H$  и  $\Delta S$  (компенсация) приводит к росту значений констант устойчивости комплексов. Для N-оксидов же пиридинов в хлористом метиле к увеличению значений констант устойчивости комплексов приводит их антибатное

изменение ( $\Delta H$  падает, антикомпенсация), а в хлороформе в случае этих лигандов происходит только увеличение  $\Delta S$  ( $\Delta H$  постоянно).

По словам Лю и Гуо, «некомпенсационное поведение очень интригует, но для его объяснения не было предложено никакой теории» [Liu, Guo, 2001]. Тем не менее в мицеллообразовании гидрофобная гидратация, то есть образование «айсбергов» или «мерцающих кластеров», окружающих амфифильные гидрофобные хвосты, считается ответственной за эффект энтальпийно-энтропийной антикомпенсации [Pan et al., 2016].

Грациано поясняет ее реорганизацией водородных связей при взаимодействии растворенных веществ в воде [Graziano, 2004]. Форд из статистико-механического анализа бимолекулярной ассоциации галогеналканов, кетонов, алканолов, аминов и пр. в газовой фазе делает вывод о формировании различных режимов компенсации как положительных, так и отрицательных  $\Delta H - \Delta S$  корреляций [Ford, 2005]. Молекулярная модель гидратации предсказывает важность энергии притяжения между растворенным веществом и водой, приводящей к антикомпенсации [Gallicchio, 1998; Graziano, 2004]. Для процесса межмолекулярной ассоциации Пиге также сообщает об антикомпенсации, возникающей в результате изменения (уменьшения) контактных расстояний между связанными молекулярными парами в растворе [Piguet, 2011].

Шмид и Хан в 1983 г. на основании всех известных им работ пришли к выводу, что эффект антикомпенсации, который не был бы допущен с теоретической точки зрения [Leffler, Grunwald, 1963] для элементарной реакции, может иметь место, если рассматриваемые константы равновесия являются составными и относятся по крайней мере к двум стадиям процесса, на которые изменение параметров влияет в противоположном направлении, и если при этом одна стадия сильно воздействует на общую энергию, а другая – на общую энтропию [Schmid, Han, 1983].

В качестве примеров такого способа понимания антикомпенсации авторы приводят процесс восстановления комплексов замещенного железа (III) фенантролина железом (II) ( $\beta = -550$  K) [Шмид, Сапунов, 1985; Schmid, Han, 1983] и ионизацию мета-замещенных фенолов ( $\beta = -66$  K,  $\Delta H^0 = -66, 2\Delta S^0 + 3332$ ,  $r = 0,90$ ; тогда как  $\Delta G^0 = -365\Delta S^0 + 3328$ ,  $r = 0,996$ ) [Bolton, 1967]. Второй случай Шмид и Хан объясняют тем, что энергия реакции относится главным образом к ионизации самой молекулы, тогда как энтропия реакции контролируется сольва-

цией фенолят-аниона. Оттягивание электронов от реакционного центра должно приводить к уменьшению  $\Delta H^0$  и к менее отрицательной  $\Delta S^0$ . Именно это и обнаружено экспериментально в данной работе.

Авторы работы [Bolton, 1967] поясняют, что доминирующим фактором взаимодействия заместителей при ионизации фенолов является степень делокализации заряда в бензольном кольце аниона феноксида. Чем больше заместитель способен делокализовать заряд, тем меньше степень сольватации вокруг функциональной группы в анионе и тем менее отрицательным становится  $\Delta S^0$ .

Антикомпенсация доказана также для комплексообразования ионов металлов с аминами в водной среде [De Marco et al., 1996].

Изотермодинамическое соотношение в серии реакций обычно используют для установления общности механизма исследуемых процессов. Например, в работе [Bel'skii, 2000] показано, что для 165 реакций нуклеофильного замещения у насыщенного атома углерода с участием анионных нуклеофилов выполняется изокINETическое соотношение с  $T_{iso} = 6103$  K,  $\lg k_{iso} = 10,402$ , которое применимо к константам скорости реакций в протондонорных и полярных апротонных растворителях, а также в смесях этих растворителей.

С другой стороны, смена изоэнтальпийного поведения N-оксидов пиридинов в хлороформе на антикомпенсационное в хлористом метиле при координации с Zn-ТФП, напротив, должна указывать на изменение механизма комплексообразования. С точки зрения составных констант равновесия можно предположить, что это (в отличие от пиридинов, где меняется лишь значение  $T_{iso}$ ) связано со способностью к некоторому изменению кратности связи группы  $N \rightarrow O$  и  $sp^3 \leftrightarrow sp^2$  – перегибридизации атома кислорода [Андреев, Соболев, 2015], степень которых зависит от природы растворителя (в пиридиновом кольце неокисленных аналогов для атома азота это исключено). Возможно, именно это дополнительное преобразование молекулы лиганда ответственно за изменение термодинамики процесса в целом. Далее же следуют десольватация лиганда, образование комплекса с МП и его сольватация.

В пользу этого предположения говорит тот факт, что координация анилинов (как и в случае N-оксидов, возможна перегибридизация атома азота аминогруппы [Андреев, 2012]) с Zn-ТФП в хлороформе также является изоэнтальпийным процессом [Andreev et al., 2012]. Однако наши предварительные экспериментальные

данные показывают, что в хлористом метиле их комплексообразование становится изоравновесным ( $\Delta H^0 = 519,6 \Delta S^0 - 6893$ ;  $n = 7$ ,  $r = 0,99$ ), но в отличие от N-оксидов пиридинов – с положительным значением  $\beta$ .

Следует отметить, что ионизация мета-замещенных фенолов ( $\beta = -66$  К) также сопровождается  $sp^3 \leftrightarrow sp^2$  – перегибридизацией атома кислорода  $OH^-$  группы.

Объяснению полученных различий будет посвящена наша дальнейшая работа, причем особое внимание будет уделяться явлению антикомпенсации.

## Заключение

Исследование термодинамики комплексообразования природных систем, содержащих металлопорфирины, крайне затруднительно в связи с их неустойчивостью в растворах вне клетки и наличием нескольких конкурирующих центров координации, которые могут принимать участие в различных типах химических превращений. Поэтому очень часто для подобных исследований используют более простые и устойчивые модельные металлопорфирины (например, Zn-ТФП) в различных органических растворителях. Нами ранее показано, что между координационными процессами, химическими реакциями и биохимическими превращениями с участием Zn-ТФП, происходящими в органических растворителях, водных растворах и их смесях, существуют простые линейные корреляции [Андреев, Соболев, 2015]. Например, они обнаружены нами между константами скоростей реакций пероксидазы хрена в водных растворах с анилинами и константами устойчивости комплексов Zn-ТФП с теми же лигандами в хлороформе [Andreev, Sobolev, 2012]. К сожалению, данные относительно термодинамических закономерностей координации МП с различными классами соединений очень немногочисленны и носят систематический характер только в случае взаимодействия Zn-ТФП (определены нами методом электронной спектроскопии для более чем 200 лигандов).

В настоящей статье отмечается, что термодинамика комплексообразования Zn-ТФП с N-оксидами пиридинов (анилинов), в отличие от пиридинов, сильно зависит от природы растворителя. Удивительно, что в первом случае столь слабое изменение природы растворителя (замена хлороформа на хлористый метилен) приводит к поразительно сильным изменениям термодинамики равновесных процессов. По-видимому, это обусловлено уникальными

свойствами исследуемых лигандов (анилинов и гетероароматических N-оксидов), способных к перегибридизации донорного центра.

## Литература

- Андреева В. Л. Фермент пероксидаза. М.: Наука, 1988. 129 с.
- Андреев В. П. Перегибридизация атома азота в анилинах и их молекулярных комплексах с  $\nu$ -акцепторами // Ученые записки ПетрГУ, сер. Естеств. и технич. науки. 2012. № 6. С. 82–86.
- Андреев В. П., Соболев П. С. Молекулярные комплексы металлопорфиринов как модельная система исследования донорно-акцепторных взаимодействий  $n, \nu$ -типа. Петрозаводск: ПетрГУ, 2015. 355 с.
- Андреев В. П., Соболев П. С., Зайцев Д. О., Тимофеева С. М. Влияние природы растворителя на координацию производных пиридина с Zn-тетрафенилпорфином // Журнал общей химии. 2018. Т. 88, № 10. С. 1665–1670. doi: 10.1134/S0044460X1810013X
- Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М.: Химия, 1976. С. 440, 443.
- Лебедева Н. Ш., Павлычева Н. А., Вьюгин А. И., Давыдова О. И., Якубов С. П. Координационная способность Zn (II) порфиринов по отношению к электронодонорным лигандам. Влияние структуры и сольватационных эффектов // Изв. АН. Сер. хим. 2004. № 2. С. 317–321.
- Пономаренко С. П. Регуляторы роста растений на основе N-оксидов производных пиридина. Киев: Техника, 1999. 270 с.
- Физическая химия. Теоретическое и практическое руководство / Ред. Б. П. Никольский. Л.: Химия, 1987. С. 794.
- Филиппович Ю. Б. Основы биохимии. М.: Высшая школа, 1999. С. 512.
- Шмид Р., Сапунов В. Н. Неформальная кинетика. М.: Мир, 1985. С. 243, 244.
- Andreev V. P., Sobolev P. S., Zaitsev D. O. Quantitative relations holding in coordination of (Tetraphenylporphyrinato) zinc (II) and nucleophilic substitution with anilines // Russ. J. Org. Chem. 2012. Vol. 48, no. 6. P. 772–779.
- Andreev V. P., Sobolev P. S. Quantitative correlations relating the interaction of Zn (II) – tetraphenylporphine and horseradish peroxidase with amines // Russ. J. Bioorg. Chem. 2012. Vol. 38, no. 2. P. 211–218.
- Andreev V. P., Sobolev P. S., Zaitsev D. O., Il'yukhin A. B. Nucleophilicity of heteroaromatic N-Oxides in coordination with Zn (II) tetraphenylporphyrinate and in substitution reaction // Russ. J. Gen. Chem. 2014. Vol. 84, no. 1. P. 115–124.
- Basak P., Debnath T., Banerjee R., Bhattacharyya M. Selective binding of divalent cations toward heme proteins // Front. Biol. 2016. Vol. 11, no. 1. P. 32–42. doi: 10.1007/s11515-016-1388-0
- Bolton P. D., Hall F. M., Reece I. H. Effects of substituents on the thermodynamic functions of Ionisation of meta-Substituted phenols // J. Chem. Soc. (B). 1967. P. 709–712. doi: 10.1039/j29670000709

*Bel'skii V. E.* Isokinetic relationships for nucleophilic substitution at the saturated carbon atom. Reactions with anions in the gas phase and various solvents // *Russ. Chem. Bull.* 2000. Vol. 49, iss. 12. P. 1968–1973.

*De Marco D., Giannetto A., Linert W.* Thermodynamic relationships on complex formation. Part VII. A H-A S interplay in the equilibria for the formation of amine complexes in aqueous solution // *Thermochim. Acta.* 1996. Vol. 2. P. 387–397.

*Dezhampanah H., Firouzi R.* Spectroscopic studies on the interaction of Co (II) tetrapyrrolineporphyrin with synthetic polynucleotides and DNA // *Phys. Chem. Res.* 2016. Vol. 4, no. 2. 161–172. doi: 10.22036/pcr.2016.12985

*Egan T. J., Hunter R., Kaschula C. H., Marques H. M., Mispion A., Walden J.* Structure-function relationships in aminoquinolines: effect of amino and chloro groups on quinoline-hematin complex formation, inhibition of  $\beta$ -hematin formation, and antiplasmodial activity // *J. Med. Chem.* 2000. Vol. 43, no. 2. P. 283–291.

*Ford D. M.* Enthalpy-entropy compensation is not a general feature of weak association // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. Vol. 127, no. 12. P. 3617–3622. doi: 10.1021/ja054519c

*Galicchio E., Kubo M. M., Levy R. M.* Entropy-enthalpy compensation in solvation and ligand binding revisited // *J. Am. Chem. Soc.* 1998. Vol. 120, no. 18. P. 4526–4527.

*Graziano G. J.* Case study of enthalpy-entropy non-compensation // *Chem. Phys.* 2004. Vol. 9. P. 4467–4471.

*Haider A., Olszanecki R., Gryglewski R., Schwartzman M. L., Lianos E., Kappas A., Nasjletti A., Abraham N. G.* Regulation of cyclooxygenase by the heme-heme oxygenase system in microvessel endothelial cells. Regulation of cyclooxygenase by the heme-heme oxygenase system in microvessel endothelial cell // *Pharmacol. Exp. Ther.* 2002. Vol. 300, no. 1. P. 188–194.

## References

*Andreeva V. L.* Ferment peroksidaza [Peroxidase enzyme]. Moscow: Nauka, 1988. 129 p.

*Andreev V. P.* Peregibridizatsiya atoma azota v anilina i ikh molekulyarnykh kompleksakh s v-aktseptorami [Rehybridization of the nitrogen atom in anilines and their molecular complexes with v-acceptors]. *Uchenye zapiski PetrGU, ser. Estestv. i tekhnich. nauki* [Proceed. PetrSU, Ser. Nat. Tech. Sci.]. 2012. No. 6. P. 82–86.

*Andreev V. P., Sobolev P. S.* Molekulyarnye komplekсы metallopofirinov kak model'naya sistema issledovaniya donorno-aktseptornykh vzaimodeistvii n, v-tipa [Molecular complexes of metalloporphyrins as a model system for studying donor-acceptor interactions of n, v-type]. Petrozavodsk: PetrGU, 2015. 355 p.

*Fizicheskaya khimiya. Teoreticheskoe i prakticheskoe rukovodstvo* [Physical chemistry. A theoretical and practical guide]. Ed. B. P. Nikol'skii. Leningrad: Khimiya, 1987. P. 794.

*Filippovich Yu. B.* Osnovy biokhimii [Fundamentals of biochemistry]. Moscow: Vysshaya shkola, 1999. P. 512.

*Gordon A., Ford R.* Sputnik khimika [The chemist's companion]. Moscow: Khimiya, 1976. P. 440, 443.

*Johann L., Lanfranchi D. A., Davioud-Charvet E., Elhabiri M.* Physico-biochemical study on potential redox-cyclers as antimalarial and antischistosomal drugs // *Curr. Pharm. Design.* 2012. Vol. 18, no. 24. P. 3539–3566.

*Lebedeva N. Sh., Mikhailovskii K. V., V'ugin A. I.* Thermodynamics of formation of molecular synthetic metalloporphyrin complexes with pyridine in benzene and in chloroform at 298.15 K // *Russ. J. Coord. Chem.* 2001. Vol. 27, no. 10. P. 751–755. doi: 10.1023/A:1012370713378

*Leffler J. E., Grunwald E.* Rates and equilibria of organic reactions. New York: Wiley, 1963. 321 p.

*Linert W., Kudrjartsev A. B., Schmid R.* Concerning the problem of the isokinetic relationship. I A Statistical mechanical model // *Aust. J. Chem.* 1983. Vol. 36, no. 10. P. 1903–1912. doi: 10.1071/CH9831903

*Liu L., Guo Q-X.* Isokinetic relationship, isoequilibrium relationship, and enthalpy-entropy compensation // *Chem. Rev.* 2001. Vol. 101, no. 3. P. 673–696.

*Ochiai E.* Aromatic amine oxides. Amsterdam: Elsevier, 1967. 444 p.

*Pan A., Kar T., Rakshit A. K., Moulik S. P.* Enthalpy-Entropy Compensation (EEC) effect: Decisive role of free energy // *J. Phys. Chem. B.* 2016. Vol. 120, no. 40. P. 10531–10539. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b05890

*Piguet C.* Enthalpy-entropy correlations as chemical guides to unravel self-assembly processes // *Dalton Trans.* 2011. Vol. 40, iss. 32. P. 8059–8071. doi: 10.1039/c1dt10055f

*Schmid R., Han L.* Novel mechanistic aspects of the reduction of Iron (II) phenanthroline complexes by aquo Iron (I). Temperature dependence of the substituent effect // *Inorg. Chim. Acta.* 1983. Vol. 69. P. 127–134. doi: 10.1016/S0020-1693(00)83562-8

Поступила в редакцию 30.06.2020

*Lebedeva N. Sh., Pavlycheva N. A., V'yugin A. I., Davydova O. I., Yakubov S. P.* Koordinatsionnaya sposobnost' Zn (II) porfirinov po otnosheniyu k elektronodornym ligandam. Vliyanie struktury i sol'vatatsionnykh effektov [Coordination ability of Zn (II) porphyrins in relation to electron-donor ligands. Impact of structure and solvation effects]. *Izv. AN. Ser. khim.* [Proceed. RAS. Ser. Chem.]. 2004. No. 2. P. 317–321.

*Ponomarenko S. P.* Regulyatory rosta rastenii na osnove N-oksidov proizvodnykh piridina [Plant growth regulators based on pyridine N-oxide derivatives]. Kiev: Tekhnika, 1999. 270 p.

*Shmid R., Sapunov V. N.* Neformal'naya kinetika [Informal kinetics]. Moscow: Mir, 1985. P. 243, 244.

*Andreev V. P., Sobolev P. S.* Quantitative correlations relating the interaction of Zn (II) – tetraphenylporphine and horseradish peroxidase with amines. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2012. Vol. 38, no. 2. P. 211–218.

*Andreev V. P., Sobolev P. S., Zaitsev D. O.* Quantitative relations holding in coordination of (Tetraphenylporphyrinato) zinc (II) and nucleophilic substitution with anilines. *Russ. J. Org. Chem.* 2012. Vol. 48, no. 6. P. 772–779.

Andreev V. P., Sobolev P. S., Zaitsev D. O., Il'yukhin A. B. Nucleophilicity of heteroaromatic N-Oxides in coordination with Zn (II) tetraphenylporphyrinate and in substitution reaction. *Russ. J. Gen. Chem.* 2014. Vol. 84, no. 1. P. 115–124.

Andreev V. P., Sobolev P. S., Zaitsev D. O., Timofeeva S. M. Effect of the solvent on the coordination of pyridine derivatives with Zn tetraphenylporphyrine // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. Vol. 88, no. 10. P. 2108–2113.

Basak P., Debnath T., Banerjee R., Bhattacharyya M. Selective binding of divalent cations toward heme proteins. *Front. Biol.* 2016. Vol. 11, no. 1. P. 32–42. doi: 10.1007/s11515-016-1388-0

Bolton P. D., Hall F. M., Reece I. H. Effects of substituents on the thermodynamic functions of ionisation of meta-substituted phenols. *J. Chem. Soc. (B)*. 1967. P. 709–712. doi: 10.1039/j29670000709

Bel'skii V. E. Isokinetic relationships for nucleophilic substitution at the saturated carbon atom. Reactions with anions in the gas phase and various solvents. *Russ. Chem. Bull.* 2000. Vol. 49, iss. 12. P. 1968–1973.

De Marco D., Giannetto A., Linert W. Thermodynamic relationships on complex formation. Part VII. A H-A S interplay in the equilibria for the formation of amine complexes in aqueous solution. *Thermochim. Acta.* 1996. Vol. 2. P. 387–397.

Dezhampanah H., Firouzi R. Spectroscopic studies on the interaction of Co (II) tetrapyrrolineporphyrin with synthetic polynucleotides and DNA. *Phys. Chem. Res.* 2016. Vol. 4, no. 2. P. 161–172. doi: 10.22036/pcr.2016.12985

Egan T. J., Hunter R., Kaschula C. H., Marques H. M., Mispelon A., Walden J. Structure-function relationships in aminoquinolines: effect of amino and chloro groups on quinoline-hematin complex formation, inhibition of  $\beta$ -hematin formation, and antiplasmodial activity. *J. Med. Chem.* 2000. Vol. 43, no. 2. P. 283–291.

Ford D. M. Enthalpy-entropy compensation is not a general feature of weak association. *J. Am. Chem. Soc.* 2005. Vol. 127, no. 46. P. 16167–16170. doi: 10.1021/ja054519c

Gallicchio E., Kubo M. M., Levy R. M. Entropy-enthalpy compensation in solvation and ligand binding revisited. *J. Am. Chem. Soc.* 1998. Vol. 120, no. 18. P. 4526–4527.

Graziano G. J. Case study of enthalpy-entropy non-compensation. *Chem. Phys.* 2004. Vol. 9. P. 4467–4471.

Haider A., Olszanecki R., Gryglewski R., Schwartzman M. L., Lianos E., Kappas A., Nasjletti A., Abraham N. G. Regulation of cyclooxygenase by the heme-heme oxygenase system in microvessel endothelial cells. Regulation of cyclooxygenase by the heme-heme oxygenase system in microvessel endothelial cell. *Pharmacol. Exp. Ther.* 2002. Vol. 300, no. 1. P. 188–194.

Johann L., Lanfranchi D. A., Davioud-Charvet E., Elhabiri M. Physico-biochemical study on potential redox-cyclers as antimalarial and antischistosomal drugs. *Curr. Pharm. Design.* 2012. Vol. 18, no. 24. P. 3539–3566.

Lebedeva N. Sh., Mikhailovskii K. V., V'ugin A. I. Thermodynamics of formation of molecular synthetic metalloporphyrin complexes with pyridine in benzene and in chloroform at 298.15 K. *Russ. J. Coord. Chem.* 2001. Vol. 27, no. 10. P. 751–755. doi: 10.1023/A:1012370713378

Leffler J. E., Grunwald E. Rates and equilibria of organic reactions. New York: Wiley, 1963. 321 p.

Linert W., Kudrjartsev A. B., Schmid R. Concerning the problem of the isokinetic relationship. I A Statistical mechanical model. *Aust. J. Chem.* 1983. Vol. 36, no. 10. P. 1903–1912. doi: 10.1071/CH9831903

Liu L., Guo Q-X. Isokinetic relationship, isoequilibrium relationship, and enthalpy-entropy compensation. *Chem. Rev.* 2001. Vol. 101, no. 3. P. 673–696.

Ochiai E. Aromatic amine oxides. Amsterdam: Elsevier, 1967. 444 p.

Pan A., Kar T., Rakshit A. K., Moulik S. P. Enthalpy-Entropy Compensation (EEC) effect: Decisive role of free energy. *J. Phys. Chem. B.* 2016. Vol. 120, no. 40. P. 10531–10539. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b05890

Piguet C. Enthalpy-entropy correlations as chemical guides to unravel self-assembly processes. *Dalton Trans.* 2011. Vol. 40, iss. 32. P. 8059–8071. doi: 10.1039/c1dt10055f

Schmid R., Han L. Novel mechanistic aspects of the reduction of Iron (II) phenanthroline complexes by aquo Iron (I). Temperature dependence of the substituent effect. *Inorg. Chim. Acta.* 1983. Vol. 69. P. 127–134. doi: 10.1016/S0020-1693(00)83562-8

Received June 30, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Андреев Владимир Петрович

профессор каф. биомедицинской химии, иммунологии и лабораторной диагностики, д. х. н., доц.  
Петрозаводский государственный университет  
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: a-alex@rkmil.ru

### Соболев Павел Сергеевич

доцент каф. биомедицинской химии, иммунологии и лабораторной диагностики, к. х. н., доц.  
Петрозаводский государственный университет  
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия, Республика Карелия, 185910  
эл. почта: 16862.10.ns@gmail.com

## CONTRIBUTORS:

### Andreev, Vladimir

Petrozavodsk State University  
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: a-alex@rkmil.ru

### Sobolev, Pavel

Petrozavodsk State University  
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: 16862.10.ns@gmail.com

**Зайцев Дмитрий Олегович**

доцент каф. общей химии, к. х. н., доц.  
Петрозаводский государственный университет  
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия, Республика  
Карелия, 185910  
эл. почта: dzaicev78@mail.ru

**Лебедева Наталья Шамильевна**

ведущий научный сотрудник лаб. физической химии  
растворов макроциклических соединений, д. х. н., доц.  
Институт химии растворов им. Г. А. Крестова РАН  
ул. Академическая, 1, Иваново, Россия, 153040  
эл. почта: nat.lebede2011@yandex.ru

**Zaitsev, Dmitry**

Petrozavodsk State University  
33 Lenin Ave., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: dzaicev78@mail.ru

**Lebedeva, Natalya**

Krestov Institute of Solution Chemistry,  
Russian Academy of Sciences  
1 Akademicheskaya St., 153040 Ivanovo, Russia  
e-mail: nat.lebede2011@yandex.ru

УДК 574.24

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ НИКЕЛЯ НА СЕРДЕЧНУЮ АКТИВНОСТЬ МИДИИ *MYTILUS EDULIS* LINNAEUS, 1758

И. Н. Бахмет<sup>1</sup>, Д. А. Екимов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

<sup>2</sup> Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Разработан оригинальный программно-аппаратный комплекс «Мидия-7Т» для дистанционной непрерывной регистрации сердечной активности моллюсков. Применение комплекса позволило оценить влияние ионов никеля ( $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  в концентрации 500 мкг/л) на сердечную ритмику мидии *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758. Показано достоверное понижение частоты сердечных сокращений через 20 минут после добавления тяжелого металла. Кроме того, через тот же временной интервал резко, в 20–100 раз, возростала групповая дисперсия показателей сердечной активности. В то же время индивидуальная дисперсия частоты сердечных сокращений увеличилась в 3–10 раз уже через 1 минуту после начала воздействия никеля. Рост дисперсии показателей сердечной активности свидетельствует о стрессовом характере воздействия. Предлагается использовать в токсикологических экспериментах при оценке реакции сердечной системы моллюсков на тяжелые металлы три показателя: изменение частоты сердечных сокращений, индивидуальную и групповую дисперсии частоты сердечных сокращений. Доказана перспективность применения разработанного комплекса в экспериментах по оценке реакции сердечной системы моллюсков на воздействия.

Ключевые слова: мидии; *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758; частота сердечных сокращений; плетизмограмма; ионы никеля.

### I. N. Bakhmet, D. A. Ekimov. EFFECT OF NIKEL IONS ON CARDIAC ACTIVITY IN THE BLUE MUSSEL *MYTILUS EDULIS* LINNAEUS, 1758

The original device and firmware “Blue mussel-7T” was designed for distant continuous recording of mollusk cardiac activity. This device allows estimating the effect of nickel ions ( $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  in 500  $\mu\text{g}/\text{l}$  concentration) on the heart rate in blue mussels *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758. A significant decrease in the heart rate 20 minutes after the addition of the heavy metal was shown. Besides, the cross-group variance of the parameter increased sharply (20–100-fold) after the same time interval. At the same time, individual variance of the heart rate rose 3–10-fold as soon as 1 minute after nickel had been added. The increase in heart rate variance probably testifies to a stressful nature of the impact. It is suggested to use three indices in toxicological experiments estimating mollusk cardiac responses to heavy metals: heart rate change, individual and cross-group variances of heart rate indices. The new device and firmware proved to have potential for experimenting with the estimation of mollusk cardiac responses to impacts.

Key words: blue mussels; *Mytilus edulis* Linnaeus; 1758; heart rate; plethysmogram; nickel ions.



## Введение

Показатели изменения сердечной активности моллюсков в токсикологических экспериментах активно используются последние 20 лет [Marchan et al., 1999; Curtis et al., 2000; Bakhmet et al., 2012 и др.]. В указанных работах была установлена высокая чувствительность сердечной активности мидий к меди и кадмию. В то же время методика дискретной регистрации показателей, примененная в этих исследованиях, не позволяла установить точное время отклика организма моллюсков на начало воздействия токсиканта. В результате не было возможности оценивать состояние животных в постоянном режиме, что приводило к потере значительной части информации. Например, возникали проблемы при установлении латентного периода реакции организма животного на воздействие. Кроме того, в предыдущих работах даже на основе дискретных измерений сердечной активности был показан флуктуационный характер изменений частоты сердечных сокращений (ЧСС) мидий при любых резких варьированиях параметров окружающей среды. Очевидно, что длительность интервалов времени между дискретными измерениями оказывала влияние на возможности анализа таких изменений.

Обозначенные проблемы были решены благодаря разработанному в лаборатории экологического мониторинга и моделирования Карельского научного центра РАН программно-аппаратному комплексу (ПАК) «Мидия-7Т», позволяющему регистрировать сердечный ритм моллюсков в непрерывном режиме. Добавим, однако, что аналогичные приборы независимо от данной разработки созданы и в других лабораториях [Kholodkevich et al., 2008; Burnett et al., 2013], что свидетельствует об актуальности этого направления исследований.

Целью настоящей работы являлась апробация нового ПАК и усовершенствованной системы регистрации кардиоактивности, для чего в качестве предмета исследования и проводилась оценка влияния ионов никеля (Ni) на сердечную активность мидий *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 с применением указанного комплекса. Выбор металла объясняется, во-первых, достаточно высокой токсичностью (2 класс опасности, ПДК в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования – 0,02 мг/л [Гигиенические..., 2003]). Более того, для человека ПДК никеля составляет всего 13 мкг/г сырого веса [USFDA..., 1993] (для рыб и двустворчатых моллюсков – менее 5 мг/кг сухого веса [SFT в Molvaer et al., 1997]), а двустворчатые моллюски, как известно, могут

накапливать тяжелые металлы в своих тканях в достаточно высоких концентрациях [El-Sikaily et al., 2004; Колючкина, Исмаилов, 2011 и др.]. Во-вторых, до настоящего времени при исследованиях влияния никеля на моллюсков применяли либо гидробиологические методы (смертность, скорость роста, плотности популяций, накопление, определение скорости фильтрации) [Calabrese et al., 1977; Watling, Watling, 1982; Gissi et al., 2016 и др.], либо, гораздо реже, биохимические [Anilkumar, Meenakshi, 2012; Azizi et al., 2018]. Исследования же физиологии моллюсков при воздействии никеля отсутствуют, что подчеркивается в обзорах [Gissi et al., 2016; Aquatic..., 2002]. В нашей работе мы попытались частично восполнить этот пробел. В-третьих, концентрация никеля в Белом море находится ниже аналитического минимума [Savinova et al., 2007], что позволяет рассматривать мидий данного водоема как реперный объект.

## Материалы и методы

Работа выполнена в сентябре 2017 года на Беломорской биологической станции «Картеш» им. О. А. Скарлато Зоологического института РАН. Мидий *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 собирали с установок для культивирования моллюсков (глубина 2 м) при температуре воды 10 °С. В эксперименте использованы мидии возраста 2+. Длина раковин варьировала от 31 до 35 мм и составила в среднем 33 мм. Перед началом наблюдений животных в течение 3 суток акклимировали к лабораторным условиям. Моллюсков содержали в аквариумах из оргстекла с аэрируемой морской водой соленостью 25 ‰ при постоянном освещении и температуре 10 °С. Ежедневно проводилась частичная смена воды. За сутки до начала эксперимента к раковинам тестируемых животных приклеили оптические сенсоры CNY70 и поместили по 7 особей в два аквариума (один – с контрольными моллюсками, второй – с экспериментальными) объемом 10 литров с постоянной аэрацией.

Регистрацию ЧСС проводили непрерывно в течение 9 часов до воздействия и 5 часов после добавления хлорида никеля в аквариум с экспериментальными животными. Никель был добавлен на 541-й минуте. Использовалась концентрация в 500 мкг/л ионов никеля, что соответствует 25 ПДК. Выбор данной концентрации обусловлен использованием сходных концентраций металла (от 455 до 1126 мкг/л) в различных исследованиях [Watling, Watling, 1982; Stuijzand et al., 1995]. Добавление металла было выполнено однократно.

Запись сердечного ритма осуществлялась на два ПАК (один использовался для контрольной группы животных, второй – для экспериментальной). На графиках представлены средние значения ЧСС моллюсков в каждую минуту. Групповая дисперсия рассчитывалась для каждой минуты опыта по ЧСС используемых моллюсков. Индивидуальную дисперсию получали путем взятия 30 последовательных значений ЧСС у отдельной мидии и, соответственно, расчета дисперсии. Нормальность распределения определяли по методу Колмогорова – Смирнова. При сравнении ЧСС контрольной и экспериментальной групп применяли t-критерий Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

До воздействия поллютантом средние ЧСС в экспериментальной и контрольной группах достоверно не различались между собой (22,3 и 22,2 уд/мин соответственно). После добавления никеля средние значения ЧСС моллюсков экспериментальной группы достоверно снижались через 1 минуту с последующим резким падением через 20 минут до 15 уд/мин (рис. 1). Наблюдаемая брадикардия отражает понижение уровня метаболизма животных. В случае с мидиями это связано прежде всего с классической реакцией моллюсков на неблагоприятное воздействие, а именно – изоляцией от окружающей среды путем закрывания створок раковины. При этом сердечная активность у некоторых особей падает до нулевой отметки. Далее наблюдались выраженные флуктуации сердечного ритма животных (рис. 1), что объясняется аperiодическим приоткрыванием створок раковины мидиями для тестирования окружающей воды. В среднем ЧСС экспериментальной группы животных была достоверно ниже сердечной активности контрольных мидий ( $t = -38,78; p < 0,001$ ). Таким образом, мы наблюдали последующую реакцию моллюсков на экспериментальное загрязнение среды. Сходные результаты отмечались в работах с использованием Cu, Zn и As [Bamber, Depledge, 1997; Marchan et al., 1999; Curtis et al., 2000].

Анализ дисперсии ЧСС экспериментальных моллюсков показал, что групповая вариабельность сердечной активности резко возростала через 20 минут после воздействия, т. е. через тот же временной интервал, что и выраженная брадикардия (рис. 2). С другой стороны, индивидуальная дисперсия ЧСС повысилась у четырех моллюсков в 3–10 раз уже через одну минуту после добавления никеля (табл.). Можно предположить, что даже такого краткого временного интервала достаточно для реакции мидии на никель.

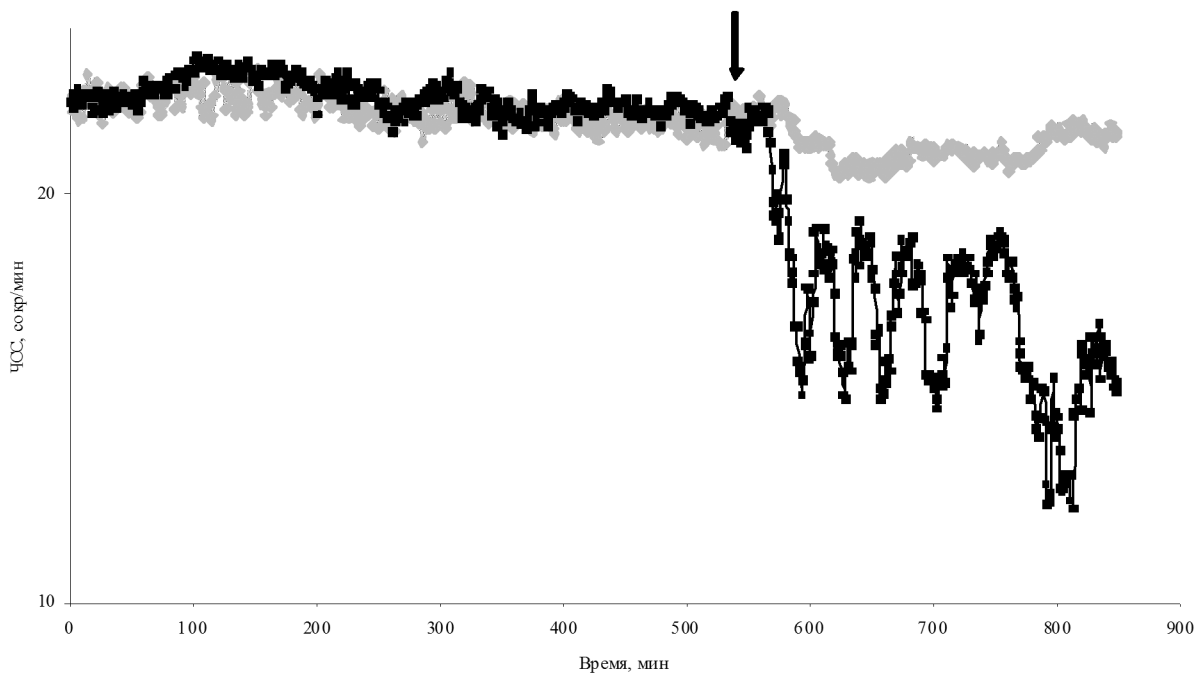


Рис. 1. ЧСС мидий контрольной и экспериментальной групп (серая и черная линии соответственно). Здесь и на рис. 2 черной стрелкой показан момент добавления никеля

Fig. 1. Heart rate of blue mussels of the control and experimental groups (grey and black lines, accordingly). Here and in Fig. 2 the black arrow shows the time of nickel addition

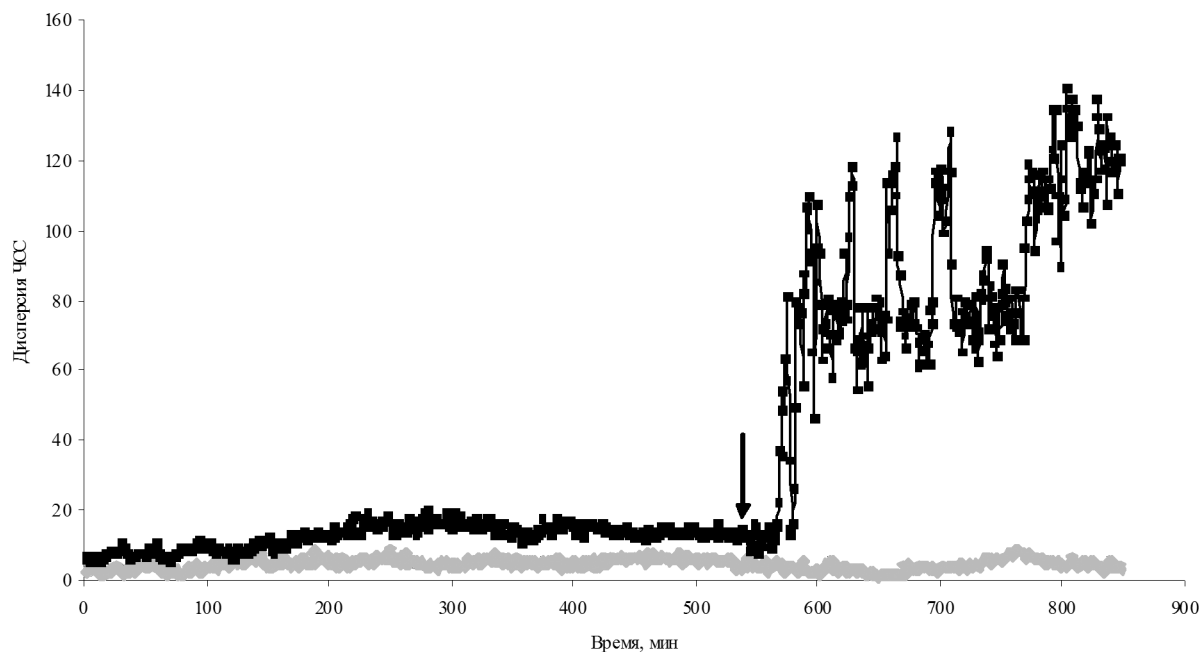


Рис. 2. Дисперсия ЧСС мидий контрольной и экспериментальной групп (серая и черная линии соответственно)

Fig. 2. Variance of the heart rate of blue mussels of the control and experimental groups (grey and black lines, accordingly)

Индивидуальные дисперсии ЧСС мидий до (0 мин) и после (1 мин) добавления никеля

Individual variance in the heart rate of blue mussels before (0 min) and after (1 min) nickel addition

Мидии экспериментальной группы Experimental group of blue mussels	0 мин 0 min	1 мин 1 min
1	0,31	0,95
2	0,55	0,55
3	1,66	1,98
4	0,15	0,17
5	0,28	2,11
6	0,15	1,58
7	0,45	1,47

Таким образом, показано, что никель в концентрации 500 мкг/л выражено воздействует на сердечную активность мидий. В работе установлено, что при исследовании реакции сердечной системы моллюсков на тяжелые металлы можно использовать три показателя: изменение ЧСС, индивидуальную и групповую дисперсию ЧСС. При этом именно индивидуальная дисперсия, по-видимому, может служить первичным ответом. Следует подчеркнуть, что именно благодаря новому прибору и оригинальному программному обеспечению, позволяющему осуществлять непрерывную регистрацию и анализ показателей сердечной активности, мы получили возможность рассчиты-

вать вышеуказанную индивидуальную дисперсию ЧСС.

Работа выполнялась с соблюдением всех международных, национальных и/или институциональных принципов гуманной этики при использовании лабораторных животных. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов.

Авторы благодарят сотрудников ББС ЗИН РАН «Картеш» за неоценимую помощь при сборе материала и постановке экспериментов.

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

## Литература

Гигиенические нормативы ГН 2.1.5.1315-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 27 апреля 2003 г.).

Колючкина Г. А., Исмаилов А. Д. Морфо-функциональные особенности двустворчатых моллюсков при экспериментальном загрязнении среды тяжелыми металлами // Океанология. 2011. Т. 51(5). С. 857–866.

Anilkumar P., Meenakshi G. Ascorbate effect on protein content during nickel intoxication in the freshwater bivalve, *Lamellidens corrianus* // Biosc. Discov. 2012. Vol. 3(2). P. 270–274.

Aquatic effect assessment for nickel. Background report on the nickel – ion. Danish Environmental Protection Agency. 2002. 79 p. <http://www.biosciencediscovery.com> (дата обращения: 01.04.2020).

Azizi G., Akodad M., Baghour M., Layachi M., Moumen A. The use of *Mytilus* spp. mussels as bioindicators of heavy metal pollution in the coastal environment. A review // J. Mater. Environ. Sci. 2018. Vol. 9(4). P. 1170–1181. doi: 10.26872/jmes.2018.9.4.129

Bakhmet I. N., Kantserova N. P., Lysenko L. A., Nemova N. N. Effect of copper and cadmium ions on heart function and calpain activity in blue mussel *Mytilus edulis* // J. Environ. Sci. Health. A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng. 2012. No. 47(12). P. 1528–1535. doi: 10.1080/10934529.2012.680393

Bamber S. D., Depledge M. H. Evaluation of changes in the adaptive physiology of shore crabs (*Carcinus maenas*) as an indicator of pollution in estuarine environments // Mar. Biol. 1997. No. 129. P. 667–672. doi: 10.1007/s002270050209

Burnett N. P., Seabra R., De Pirro M., Wethey D. S., Woodin S. A., Helmuth B., Zippay M. A., Sarà G., Monaco C., Lima F. P. An improved noninvasive method for measuring heartbeat of intertidal animals // Limnol. Oceanogr.: Meth. 2013. Vol. 11. P. 91–100. doi: 10.4319/lom.2013.11.91

Calabrese A., MacInnes J. R., Nelson D. A., Miller J. E. Survival and growth of bivalve larvae under heavy-metal stress // Mar. Biol. 1977. Vol. 41. P. 179–184. doi: 10.1007/BF00394024

Curtis T. M., Williamson R., Depledge M. H. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper // Mar. Biol. 2000. Vol. 136(5). P. 0837–0846. doi: 10.1007/s002270000297

El-Sikaily A., Khaled A., El Nemr A. Heavy metals monitoring using bivalves from Mediterranean Sea and Red Sea // Env. Monit. Assess. 2004. Vol. 98. P. 41–58. doi: 10.1023/B:EMAS.0000038178.98985.5d

Gissi F., Stauber J. L., Binet M. T., Golding L. A., Adams M. S., Schlekot C. E., Garman E. R., Jolley D. F. A review of nickel toxicity to marine and estuarine tropical biota with particular reference to the South East Asian and Melanesian region // Environ. Poll. 2016. Vol. 218. P. 1308–1323. doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.089

Kholodkevich S. V., Ivanov A. V., Kurakin A. S., Kornienko E. L., Fedotov V. P. Real time biomonitoring of surface water toxicity level at water supply stations // Environ. Bioind. 2008. Vol. 3. P. 23–34.

Marchan S., Davies M. S., Fleming S., Jones H. D. Effect of copper and zinc on the heart rate of the limpet *Patella vulgata* L. // J. Comp. Biochem. Physiol. 1999. A. Vol. 123. P. 89–93. doi: 10.1016/S1095-6433(99)00043-4

Molvær J., Knutzen J., Magnusson J., Rygg B., Skei J., Sørensen J. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. Veiledning. SFT veiledning 97: 03. 1997. 36 p. (На норвежском яз.)

Savinova T., Savinov V., Green N., Hovind H., Korneev O., Marasaev S., Kaminsky E., Alexeeva L., Konoplev A., Kochetkov A., Pasyukova E., Samsonov D., Markov V., Galaktionov K. Monitoring of hazardous substances in the coastal areas of the White Sea: harmonisation with OSPAR's Joint Monitoring and Assessment Programme (JAMP) – White Sea, 2006. Akvaplan-niva report. 2007. 70 p.

Stuijzand S. C., Kraak M. H. S., Wink Y. A., Davids C. Short-term effects of nickel on the filtration rate of the Zebra Mussel *Dreissena polymorpha* // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1995. Vol. 54(3). P. 376–381. doi: 10.1007/BF00195108

USFDA. Guidance for industry and FDA: Letter to State Agricultural Directors, State Feed Control Officials, and Food, Feed, and Grain Trade Organizations. US Food and Drug Administration, Rockville, MD. 1993. URL: [www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/NaturalToxins/ucm120184.htm](http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/NaturalToxins/ucm120184.htm) (дата обращения: 01.04.2020).

Watling H. R., Watling R. J. Comparative effects of metals on the filterig rate of the brown mussel (*Perna perna*) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1982. Vol. 29. P. 651–657. doi: 10.1007/BF01606103

Поступила в редакцию 07.04.2020

## References

Gigienicheskie normativy GN 2.1.5.1315–03 “Pre-del’no dopustimye kontsentratsii (PDK) khimicheskikh veshchestv v vode vodnykh ob’ektov khozyaistvenno-pit’evogo i kul’turno-bytovogo vodopol’zovaniya” (utv. Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF 27 aprelya 2003 g.) [Hygienic regulations GN 2.1.5.1315–03 Maximum permissible concentrations (MPC) of chemicals in water of water objects of drinking and cultural-domestic water use (approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on April 27, 2003)].

Kolyuchkina G. A., Ismailov A. D. Morfo-funktsional’nye osobennosti dvustvorchatykh mollyuskov pri eksperimental’nom zagryaznenii srede tyazhelymi metallami [Morpho-functional features of bivalve mollusks under experimental environmental pollution with heavy

metals]. *Okeanologiya* [Oceanology]. 2011. Vol. 51(5). P. 857–866.

Anilkumar P., Meenakshi G. Ascorbate effect on protein content during nickel intoxication in the freshwater bivalve, *Lamellidens corrianus*. *Biosc. Discov.* 2012. Vol. 3(2). P. 270–274.

Aquatic effect assessment for nickel. Background report on the nickel-ion. Danish Environmental Protection Agency. 2002. 79 p. URL: <http://www.biosciencediscovery.com> (accessed: 01.04.2020).

Azizi G., Akodad M., Baghour M., Layachi M., Moumen A. The use of *Mytilus* spp. mussels as bioindicators of heavy metal pollution in the coastal environment. A review. *J. Mater. Environ. Sci.* 2018. Vol. 9(4). P. 1170–1181. doi: 10.26872/jmes.2018.9.4.129

Bakhmet I. N., Kantserova N. P., Lysenko L. A., Nemova N. N. Effect of copper and cadmium ions on heart function and calpain activity in blue mussel *Mytilus edulis*. *J. Environ. Sci. Health. A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 2012. No. 47(12). P. 1528–1535. doi: 10.1080/10934529.2012.680393

Bamber S. D., Depledge M. H. Evaluation of changes in the adaptive physiology of shore crabs (*Carcinus maenas*) as an indicator of pollution in estuarine environments. *Mar. Biol.* 1997. No. 129. P. 667–672. doi: 10.1007/s002270050209

Burnett N. P., Seabra R., De Pirro M., Wetthey D. S., Woodin S. A., Helmuth B., Zippay M. A., Sarà G., Monaco C., Lima F. P. An improved noninvasive method for measuring heartbeat of intertidal animals. *Limnol. Oceanogr.: Meth.* 2013. Vol. 11. P. 91–100. doi: 10.4319/lom.2013.11.91

Calabrese A., MacInnes J. R., Nelson D. A., Miller J. E. Survival and growth of bivalve larvae under heavy-metal stress. *Mar. Biol.* 1977. Vol. 41. P. 179–184. doi: 10.1007/BF00394024

Curtis T. M., Williamson R., Depledge M. H. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper. *Mar. Biol.* 2000. Vol. 136(5). P. 0837–0846. doi: 10.1007/s002270000297

El-Sikaily A., Khaled A., El Nemr A. Heavy metals monitoring using bivalves from Mediterranean Sea and Red Sea. *Env. Monit. Assess.* 2004. Vol. 98. P. 41–58. doi: 10.1023/B:EMAS.0000038178.98985.5d

Gissi F., Stauber J. L., Binet M. T., Golding L. A., Adams M. S., Schlekat C. E., Garman E. R., Jolley D. F. A review of nickel toxicity to marine and estuarine tropical biota with particular reference to the South East Asian and Melanesian region. *Environ. Poll.* 2016. Vol. 218. P. 1308–1323. doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.089

Kholodkevich S. V., Ivanov A. V., Kurakin A. S., Kornienko E. L., Fedotov V. P. Real time biomonitoring

of surface water toxicity level at water supply stations. *Environ. Bioind.* 2008. Vol. 3. P. 23–34.

Marchan S., Davies M. S., Fleming S., Jones H. D. Effect of copper and zinc on the heart rate of the limpet *Patella vulgata* L. *J. Comp. Biochem. Physiol. A.* 1999. Vol. 123. P. 89–93. doi: 10.1016/S1095-6433(99)00043-4

Molvær J., Knutzen J., Magnusson J., Rygg B., Skei J., Sørensen J. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. Veiledning [Classification of environmental quality in fjords and coastal waters. A guide]. SFT veiledning 97: 03. 1997. 36 p. (In Norwegian).

Savinova T., Savinov V., Green N., Hovind H., Korneev O., Marasaev S., Kaminsky E., Alexeeva L., Konoplev A., Kochetkov A., Pasyukova E., Samsonov D., Markov V., Galaktionov K. Monitoring of hazardous substances in the coastal areas of the White Sea: harmonisation with OSPAR's Joint Monitoring and Assessment Programme (JAMP) – White Sea, 2006. Akvaplan-niva report. 2007. 70 p.

Stuijzand S. C., Kraak M. H. S., Wink Y. A., Davids C. Short-term effects of nickel on the filtration rate of the Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1995. Vol. 54(3). P. 376–381. doi: 10.1007/BF00195108

USFDA. Guidance for industry and FDA: Letter to State Agricultural Directors, State Feed Control Officials, and Food, Feed, and Grain Trade Organizations. US Food and Drug Administration, Rockville, MD. 1993. URL: [www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/NaturalToxins/ucm120184.htm](http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/NaturalToxins/ucm120184.htm) (accessed: 01.04.2020).

Watling H. R., Watling R. J. Comparative effects of metals on the filterig rate of the brown mussel (*Perna perna*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1982. Vol. 29. P. 651–657. doi: 10.1007/BF01606103

Received April 07, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Бахмет Игорь Николаевич

старший научный сотрудник лаб. экологии рыб и водных беспозвоночных, к. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: igor.bakhmet@gmail.com  
тел.: +79114076436

### Екимов Дмитрий Анатольевич

научный сотрудник, к. т. н.  
Отдел комплексных научных исследований,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: edmitr2007@mail.ru

## CONTRIBUTORS:

### Bakhmet, Igor

Institute of Biology, Karelian Research Centre,  
Russian Academy of Sciences  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: igor.bakhmet@gmail.com  
tel.: +79114076436

### Ekimov, Dmitry

Department for Multidisciplinary Scientific Research,  
Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: edmitr2007@mail.ru

УДК 577.151.64: 636.934:591.3

## ИЗОЭНЗИМЫ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТКАНЯХ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ПРОЦЕССЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

**А. Р. Унжаков, Е. П. Антонова, С. Н. Калинина**

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

Проведено электрофоретическое разделение изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) в тканях почек, скелетной мышцы, легких и селезенки у имматуронатных щенков норок *Neovison vison* Schreber и песцов *Alopex lagopus* L. в возрасте 15, 25, 60, 90, 120, 150, 180 и 210 суток после рождения. У молодняка норок и песцов – представителей хищных млекопитающих – наиболее значимые возрастные перестройки в изоферментных спектрах ЛДГ в исследуемых тканях наблюдались в начальный период интенсивного роста и развития животных – в возрасте 15–90 суток. В тканях скелетных мышц, легких и селезенки у щенков норок обнаружено более высокое содержание М-субъединиц ЛДГ по сравнению с песцами в течение всего постнатального онтогенеза. Изоферментный профиль ЛДГ почек у 4-месячных щенков норок и песцов соответствовал таковому 7-месячных зрелых животных. Тканевая специфичность набора изоферментов ЛДГ отражает метаболический профиль тканей и выявляется уже на ранней стадии постнатального онтогенеза.

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа; изоферменты; млекопитающие; *Carnivora*; постнатальный онтогенез.

### **A. R. Unzhakov, E. P. Antonova, S. N. Kalinina. LACTATE DEHYDROGENASE ISOENZYMES IN TISSUES OF CARNIVOROUS MAMMALS DURING POSTNATAL ONTOGENY**

The electrophoretic separation of isoenzymes of lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) was performed in the kidneys, skeletal muscle, lungs and spleen in mink *Neovison vison* Schreber and blue fox *Alopex lagopus* L. pups at 15, 25, 60, 90, 120, 150, 180, and 210 days of age. Significant changes in the isoenzyme spectra of LDH in the tissues of mink and blue fox pups were observed in the initial period of the animals' intensive growth and development – at the age of 15–90 days. In the skeletal muscles, lungs and spleen, the content of M-subunits of LDH during postnatal ontogeny was higher in mink than in foxes. The isozyme profile of renal LDH in 4-month-old pups of mink and blue foxes corresponded to that of 7-month-old animals. The tissue specificity of the LDH isoenzyme pattern reflects the metabolic profile of the tissues and is detectable already in early developmental stages.

Key words: lactate dehydrogenase; isoenzymes; mammals; *Carnivora*; postnatal ontogeny.

## Введение

Период онтогенеза у живого организма охватывает весь его жизненный цикл от оплодотворения до смерти, у млекопитающих выделяют ряд возрастных этапов, которые характеризуются своими физиологическими и биохимическими особенностями. Прежде всего в этом цикле выделяют два основных периода – пренатальный, или эмбриональный, и постнатальный, или постэмбриональный [Берестов, Кожевникова, 1981]. Постнатальный период в свою очередь подразделяется на три этапа – роста, зрелости и старости. Период роста, который у норок и песцов продолжается до 6-месячного возраста, характеризуется интенсивным увеличением массы тела, усиленным формированием морфологических, физиологических и биохимических особенностей организма, присущих соответствующему виду животных [Берестов, Кожевникова, 1981].

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) широко используется в качестве модельного фермента при изучении биохимических адаптаций [Hochachka, Somero, 2002; Rossignol et al., 2003; Тютюнник и др., 2005; Ahmad, 2009; Sergina et al., 2015; Унжаков, Тютюнник, 2016]. Молекула фермента представляет собой тетрамер, состоящий из двух типов субъединиц Н (от англ. *heart* – сердце) и М (от англ. *muscle* – мышца), комбинация которых в разных вариантах дает пять изоферментов: ЛДГ-1 (Н4), ЛДГ-2 (Н3М1), ЛДГ-3 (Н2М2), ЛДГ-4 (Н1М3) и ЛДГ-5 (М4) [Hochachka, Somero, 2002; Унжаков, Тютюнник, 2016].

В этом контексте интересны в качестве модельных животных норки (*Neovison vison*) и песцы (*Alopex lagopus*), которые являются основными объектами промышленного звероводства. В отличие от большинства домашних и сельскохозяйственных животных они находятся на сравнительно начальных стадиях доместикации и, следовательно, сохранили стереотип метаболизма своих диких предков [Берестов, Кожевникова, 1981]. В естественной среде обитания у этих незрелорождающихся млекопитающих, относящихся к отряду Хищные (Carnivora), экологические условия жизни различаются: норки – полуводные представители умеренных широт, а песцы – наземные хищники Арктики [Тютюнник и др., 2005].

Биологической основой онтогенеза является переходный процесс в функциональных системах, характеризующийся определенными закономерностями, генетической основой которого является программированная регрессия одних генов и депрессия других [Новожи-

лов, 2009]. Появление изоферментов ЛДГ генетически детерминировано, их соотношение у взрослых животных является результатом последовательной экспрессии генов, контролирующей синтез тех или иных субъединиц в развитии [Корочкин и др., 1977; Райдер, Тейлор, 1983; Dowell, Fu, 1994; Ahmad, Hasnain, 2005], а окончательное распределение их в тканях взрослого организма является основным итогом биохимической дифференцировки. Промежуточные же спектры изоферментов органов, характерные для определенных этапов и постнатального развития, отражают особенности обмена в эти периоды [Райдер, Тейлор, 1983].

Поскольку распределение изоферментов ЛДГ может сильно варьировать в зависимости не только от типа ткани и вида животных, но и от стадии онтогенеза индивида, то целью настоящей работы явилось изучение возрастных изменений изоферментных спектров ЛДГ у норок и песцов в процессе постнатального онтогенеза.

## Материалы и методы

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» с соблюдением международных принципов Директивы Евросоюза 2010/63/EU о гуманном отношении к животным и правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Объектами исследований служили щенки американских норок *Neovison vison* Schreber и голубых песцов *Alopex lagopus* L., разводимые в условиях клеточного содержания. Норки и песцы принадлежали зверохозяйству ЗАО «Пряжинское» (Республика Карелия). Все экспериментальные процедуры с животными выполнялись в соответствии с требованиями Комиссии по этике Института биологии КарНЦ РАН. Все животные содержались в стандартных условиях, кормление и обеспечение водой *ad libitum*. Выявление возрастных особенностей изоферментных спектров ЛДГ в тканях почек, скелетной мышцы, легких и селезенки проводили у 15-, 25-, 60-, 90-, 120-, 150- и 210-суточных щенков норок и песцов.

Для исследования изоферментного спектра ЛДГ готовили гомогенаты тканей на 0,05 М фосфатном буфере (рН 7,0) и оставляли для экстракции фермента на 16–18 ч в холодильнике при +4 °С, затем центрифугировали при 6000 г в течение 15 мин. Разделение изоферментов ЛДГ осуществляли методом го-

горизонтального электрофореза на пластинках агарового геля по Вайму [Wieme, 1959] с использованием отечественного прибора ПЭФ-3 при напряжении 3–4 В/см и силе тока 50 мА/см. Продолжительность электрофореза составляла 90–120 мин. Методы выделения, разделения и определения изоферментов ЛДГ описаны нами ранее [Унжаков, Тютюнник, 2016]. Учитывая, что исследуемый фермент имеет тетрамерное строение, суммарное содержание Н- и М-субъединиц рассчитывали соответственно по формулам:

$$Н (\%) = \text{ЛДГ-1} (\%) + 0,75\text{ЛДГ-2} (\%) + 0,5\text{ЛДГ-3} (\%) + 0,25\text{ЛДГ-4} (\%);$$

$$М (\%) = 0,25\text{ЛДГ-2} (\%) + 0,5\text{ЛДГ-3} (\%) + 0,75\text{ЛДГ-4} (\%) + \text{ЛДГ-5} (\%).$$

Результаты исследований обработаны с применением пакетов программ MS Excel и Statgraphics и представлены в виде  $M \pm m$ . Сравнение проводили с применением непараметрического критерия (U) Вилкоксона – Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При анализе спектров изоферментов ЛДГ почек, скелетной мышцы, легких и селезенки у норок и песцов в период роста от 15 до 150 суток и в начальный период зрелости – 210 суток (табл. 1–4) выявляются как общие закономерности распределения электрофоретических фракций в соответствии с типом метаболизма тканей, так и различия, связанные с периодами постнатального развития. В исследуемых тканях животных фермент, как правило, представлен пятью молекулярными формами – от «быстрой» фракции ЛДГ-1 до «медленного» изофермента ЛДГ-5.

Почки выполняют жизненно важные функции, влияющие на состояние метаболизма в организме животного [Мостофи, Смит, 1972]. Основная из них – выведение из организма животного нелетучих продуктов метаболизма, токсинов. Не менее важна роль почек в поддержании баланса жидкости и электролитов, регуляции артериального давления, кислотно-щелочного гомеостаза, обмена кальция, эритропоеза [Василевский, 2004]. В связи с многочисленными функциями почки потребляют большое количество кислорода, чем объясняется их интенсивное кровоснабжение.

Кровоснабжение почек у животных осуществляется правой и левой почечными артериями, отходящими от брюшной аорты, кото-

рые в воротах органа делятся дихотомически на дорсальные и вентральные ветви. Внутриорганные артерии почек делятся на междольевые и дуговые, диаметр этих сосудов больше у полуводной норки, чем у других наземных видов плотоядных – собак, песцов [Тяглова, 2008]. Возрастные перестройки изоэнзимного профиля ЛДГ тканей почек норок в основном происходили в первые два месяца их жизни (табл. 1). Содержание анодных форм фермента (ЛДГ-1 и ЛДГ-2) было наибольшим в этом органе. Их суммарная доля варьировала от 54,7 % у 25-суточных до 64,7 % у 60-суточных щенков. Статистически значимые изменения изоэнзимного спектра ЛДГ почек норок наблюдались у 90-суточных щенков. В это время по сравнению с предыдущим возрастом (2 месяца) увеличилось содержание анодного изофермента ЛДГ-1 ( $p < 0,05$ ) при одновременном снижении катодного изоэнзима ЛДГ-5. Уже к 4-месячному возрасту (120 суток) изоферментный профиль ЛДГ почек норок был близок к таковому 7-месячных (210 суток) животных с созревшим волосяным покровом.

Для тканей почек щенков песцов в отличие от норок было характерным высокое суммарное содержание как анодных, так и катодных фракций фермента (табл. 2). У 15-суточных щенков суммарное содержание ЛДГ-4 и ЛДГ-5 составляло почти 50 %, тогда как содержание анодных фракций равнялось 32,8 %. Существенным было изменение этого соотношения у 25-суточных щенков песцов, в результате чего коэффициент отношения содержания ЛДГ-5/ЛДГ-1 снизился в 2 раза по сравнению с предыдущим возрастом. Значение данного коэффициента на протяжении всего онтогенеза держалось в пределах 0,7–0,9 и лишь у пятимесячных щенков поднялось до 1,2. Изоферментный профиль ЛДГ тканей почек 4-месячных песцов был близким к таковому 7-месячных животных. В тканях почек содержание анаэробных М-субъединиц ЛДГ у щенков песцов было выше, чем у норок, на протяжении всего онтогенеза.

Скелетные мышцы составляют около 40 % массы тела животных, выполняя жизненно важные функции в локомоции. Исследованная нами двуглавая мышца бедра *m. biceps femoris* содержит мышечные волокна двух типов с преобладанием быстрых гликолитических [Harrison et al., 1997; Ishida et al., 2017]. Эти мышцы используют преимущественно анаэробную систему энергообразования, способствующую образованию лактата.

В отличие от почек в скелетной мышце преобладали М-субъединицы ЛДГ на всех изученных этапах онтогенеза норок и песцов (табл. 1, 2).



Таблица 1. Возрастные изменения изоферментных спектров ЛДГ в тканях почек норок и песцов

Table 1. Age-related changes in the isoenzyme spectra of LDH in the tissues of the kidneys of minks and Arctic foxes

Возраст, сутки Age, days	Фракции / Fractions, %					%	
	ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5	Н	М
	LDH-1	LDH-2	LDH-3	LDH-4	LDH-5		
Норки / Minks							
15 (n=5)	30,8 ± 2,0	31,1 ± 0,7	26,4 ± 1,7	7,2 ± 0,8	4,5 ± 1,3	69,1	30,9
25 (n=6)	26,8 ± 1,5	27,9 ± 1,0	25,8 ± 0,8	11,0 ± 1,3	8,5 ± 0,7	63,4	36,6
60 (n=5)	34,0 ± 1,4	32,7 ± 0,3	21,2 ± 1,1	4,1 ± 0,5	8,0 ± 1,0	70,1	29,9
90 (n=6)	42,2 ± 2,1*	33,3 ± 1,2	19,3 ± 2,4	4,0 ± 1,2	1,2 ± 0,9*	77,8	22,2
120 (n=6)	44,4 ± 2,0	33,7 ± 0,9	13,8 ± 2,3	3,5 ± 0,4	4,6 ± 1,2	77,4	22,6
150 (n=5)	41,5 ± 1,6	35,8 ± 0,9	18,7 ± 1,0	1,9 ± 0,8	2,1 ± 0,6	78,2	21,8
210 (n=35)	44,0 ± 1,4	31,4 ± 0,8	16,6 ± 1,1	4,2 ± 0,7	3,8 ± 0,5	76,9	23,1
Песцы / Arctic foxes							
15 (n=5)	19,7 ± 1,9	13,1 ± 1,7	18,0 ± 0,8	21,4 ± 2,1	27,8 ± 2,4	43,9	56,1
25 (n=5)	28,4 ± 0,9**	20,6 ± 1,0**	17,4 ± 0,8	13,0 ± 1,4*	20,6 ± 0,7	55,8	44,2
60 (n=6)	32,4 ± 1,7	16,4 ± 0,9	13,1 ± 0,9	13,2 ± 1,5	24,9 ± 1,1	54,6	45,4
90 (n=9)	26,1 ± 0,7**	14,7 ± 0,8	18,8 ± 0,7**	16,4 ± 0,6	24,0 ± 0,9	50,6	49,4
120 (n=6)	35,9 ± 3,2	15,2 ± 3,4	7,0 ± 2,2**	10,8 ± 1,6	31,1 ± 4,9	53,5	16,5
150 (n=6)	30,5 ± 1,3	13,5 ± 1,0	7,6 ± 1,1	11,5 ± 0,6	36,9 ± 2,3	47,3	52,7
210 (n=21)	36,9 ± 1,4	15,0 ± 1,0	7,3 ± 0,6	10,1 ± 0,8	30,7 ± 1,9	54,3	45,7

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 различия достоверны по отношению к предыдущему возрасту: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Note. Here and in Tab. 2–4 differences are significant in relation to the previous age: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Таблица 2. Возрастные изменения изоферментных спектров ЛДГ в тканях скелетной мышцы норок и песцов

Table 2. Age-related changes in the isoenzyme spectra of LDH in the skeletal muscle tissue of minks and Arctic foxes

Возраст, сутки Age, days	Фракции / Fractions, %					%	
	ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5	Н	М
	LDH-1	LDH-2	LDH-3	LDH-4	LDH-5		
Норки / Minks							
15 (n=5)	0,7 ± 0,7	10,5 ± 2,	28,4 ± 2,8	29,8 ± 2,2	30,6 ± 3,5	30,2	69,8
25 (n=6)	0,9 ± 0,4	7,4 ± 1,1	21,5 ± 1,5	33,5 ± 0,9	36,7 ± 2,0	25,6	74,4
60 (n=5)	0,4 ± 0,3	5,3 ± 1,2	17,7 ± 2,0	23,0 ± 2,5	53,6 ± 4,3*	19,0	81,0
90 (n=6)	0	2,1 ± 0,8	16,7 ± 1,1	22,8 ± 2,3	58,4 ± 1,8	15,6	84,4
120 (n=6)	0,8 ± 0,5	6,4 ± 2,3	17,2 ± 1,9	22,4 ± 3,5	53,2 ± 2,5	19,8	80,2
150 (n=5)	0,5 ± 0,3	10,2 ± 1,0	25,3 ± 2,7	15,6 ± 1,4	48,4 ± 3,0	24,7	75,3
210 (n=35)	2,4 ± 0,2	6,1 ± 0,7	16,6 ± 1,3	17,6 ± 0,9	57,3 ± 2,4	19,7	80,3
Песцы / Arctic foxes							
15 (n=5)	0	2,8 ± 1,2	10,3 ± 2,9	20,1 ± 2,5	66,8 ± 3,2	12,3	87,7
25 (n=5)	5,2 ± 2,3	11,0 ± 0,9**	16,1 ± 1,9	15,8 ± 3,0	51,9 ± 3,3	25,4	74,6
60 (n=6)	4,7 ± 1,0	12,6 ± 2,1	11,3 ± 1,7	13,0 ± 2,2	58,4 ± 3,5	23,0	77,0
90 (n=9)	5,2 ± 0,7	14,7 ± 1,8	8,6 ± 1,3	9,2 ± 2,2	62,3 ± 3,8	22,8	77,2
120 (n=6)	6,9 ± 1,7	9,6 ± 2,0	3,0 ± 0,9	10,8 ± 1,4	69,7 ± 4,2	18,3	81,7
150 (n=6)	10,6 ± 2,0	14,0 ± 1,6	7,4 ± 2,0	13,9 ± 1,5	54,1 ± 1,9**	28,3	71,7
210 (n=21)	3,1 ± 1,4	17,1 ± 2,5	21,1 ± 2,4	12,7 ± 1,7	46,0 ± 5,3	29,7	70,3

Изоферментный спектр ЛДГ скелетных мышц норок в ходе индивидуального развития претерпевал изменения. В возрасте 15 суток примерно равным и значительным было содержание трех фракций – ЛДГ-3, ЛДГ-4, ЛДГ-5. Каждая из них составляла около 30 %. Наиболее существенные сдвиги наблюдались у щенков

в возрасте двух месяцев. В 60-суточном возрасте достоверно увеличилось количество изофермента ЛДГ-5 ( $p < 0,05$ ). С 2-месячного возраста спектр ЛДГ скелетных мышц становится довольно стабильным. У 3-месячных щенков изоферментный профиль ЛДГ не отличался от такового у взрослых норок.

У растущих щенков песцов, как и у норок, в изоферментном спектре ЛДГ тканей скелетных мышц преобладающим являлось суммарное содержание катодных форм ЛДГ. Но если у норок с возрастом доля ЛДГ-5 постепенно нарастала, то у песцов она преобладала во все исследуемые периоды онтогенеза (табл. 2). Начиная с 25-суточного возраста содержание М-субъединиц ЛДГ в скелетных мышцах у норок сохранялось более высоким, чем у песцов. Тенденция возрастных изменений содержания М-субъединиц ЛДГ в скелетных мышцах у норок и песцов была разнонаправленной. Так, если у норок содержание М-субъединиц ЛДГ в скелетных мышцах постепенно повышалось в онтогенезе, то у песцов – снижалось. Возможно, эти видовые различия связаны с экологическими особенностями видов.

Основным органом, обеспечивающим газообмен в организме млекопитающих, являются легкие [Гирфанов, Гирфанова, 2013]. Изоферментный профиль ЛДГ тканей легких во все возрастные этапы, начиная с 25-суточного возраста, у щенков норок и песцов в основном был представлен пятью фракциями фермента с преобладанием трех фракций – ЛДГ-3, ЛДГ-4 и ЛДГ-5 (табл. 3). Ранний онтогенез (до 60 суток) норок характеризовался низкими значениями или отсутствием в изоферментном профиле ЛДГ тканей легких первой фракции фермента (табл. 3). При этом у щенков

норок наибольшим было содержание ЛДГ-5 в изоферментном спектре ЛДГ в течение всего исследованного периода постнатального онтогенеза.

В подсосный период у 15- и 25-суточных песцов содержание изоферментов ЛДГ-3 и ЛДГ-5 в легких было приблизительно равным и значительным. В период после отсадки от матерей у двухмесячных щенков песцов в изоферментном спектре ЛДГ легких произошли существенные перестройки. В три раза увеличилось содержание ЛДГ-1 ( $p < 0,001$ ) и на треть по сравнению с месячным возрастом упало процентное содержание ЛДГ-3 при стабильном фоне ЛДГ-5. В результате этих перестроек коэффициент соотношения содержания ЛДГ-5/ЛДГ-1 в легких упал в 3 раза и стал наименьшим за весь период постнатального развития. Значимые перестройки изоэнзимного спектра ЛДГ легких наблюдались и у 4-месячных песцов, когда на треть увеличилось содержание ЛДГ-5 ( $p < 0,001$ ) и упало количество фракций ЛДГ-1 ( $p < 0,05$ ) и ЛДГ-2 ( $p < 0,05$ ). Изоферментный спектр ЛДГ легких шестимесячных щенков отличался от такового семимесячных песцов более высоким содержанием ЛДГ-5 и низким ЛДГ-1. В тканях легких также обнаружено более высокое содержание М-субъединиц ЛДГ у норок, чем у песцов, в течение всего исследованного периода постнатального онтогенеза (табл. 3).

Таблица 3. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в тканях легких норок и песцов в процессе постнатального онтогенеза

Table 3. Changes in the isoenzyme spectra of LDH in the tissues of the lungs of minks and Arctic foxes during postnatal ontogenesis

Возраст, сутки Age, days	Фракции / Fractions, %					%	
	ЛДГ-1 LDH-1	ЛДГ-2 LDH-2	ЛДГ-3 LDH-3	ЛДГ-4 LDH-4	ЛДГ-5 LDH-5	Н	М
Норки / Minks							
15 (n=5)	0	12,6 ± 2,7	28,5 ± 3,7	18,8 ± 1,5	40,2 ± 5,4	28,3	71,7
25 (n=6)	1,1 ± 0,6	6,1 ± 2,1	20,4 ± 1,7	18,3 ± 2,4	54,2 ± 3,8	20,5	79,5
60 (n=5)	7,8 ± 0,6	12,1 ± 1,1	17,7 ± 1,6	9,0 ± 1,2	53,4 ± 2,3	28,0	72,0
90 (n=6)	2,1 ± 0,4	2,4 ± 1,6	19,1 ± 3,6	24,8 ± 3,0	51,7 ± 5,1	19,7	80,3
120 (n=6)	2,6 ± 1,9	4,1 ± 1,7	16,7 ± 0,8	21,1 ± 1,4	55,5 ± 3,0	19,3	80,7
150 (n=5)	1,9 ± 0,9	5,4 ± 1,2	26,3 ± 2,0	15,4 ± 2,4	50,9 ± 2,7	23,0	77,0
210 (n=35)	3,1 ± 0,5	6,8 ± 1,1	29,7 ± 2,5	33,7 ± 3,1	26,7 ± 2,2	31,5	68,5
Песцы / Arctic foxes							
15 (n=5)	7,2 ± 1,9	18,3 ± 4,1	26,1 ± 2,3	16,7 ± 3,7	31,8 ± 2,6	38,1	61,9
25 (n=5)	7,3 ± 2,0	24,8 ± 3,0	31,0 ± 1,0	11,7 ± 1,3	25,2 ± 3,4	44,3	55,7
60 (n=6)	21,1 ± 2,8***	19,8 ± 1,6	21,1 ± 1,7**	12,9 ± 0,8	25,2 ± 2,6	49,7	50,3
90 (n=9)	12,8 ± 0,8	19,2 ± 0,8	22,0 ± 0,9	17,2 ± 0,5	28,9 ± 1,3	42,5	57,5
120 (n=6)	3,6 ± 1,6*	14,1 ± 1,7*	21,6 ± 1,3	17,5 ± 2,8	43,2 ± 1,9***	29,4	70,6
150 (n=6)	6,7 ± 1,6	20,6 ± 0,4	22,9 ± 0,4	12,6 ± 1,0	37,2 ± 1,8	36,8	63,2
210 (n=21)	17,0 ± 1,9	22,5 ± 0,9	21,8 ± 1,4	14,1 ± 1,3	24,7 ± 2,3	48,3	51,7

Селезенка является крупнейшим периферическим органом иммуногенеза, который во многом определяет иммунный статус: состояние врожденного и приобретенного иммунитета, гуморального и клеточного его звена, качество и количество лимфоидных клеток в организме животных и человека [Капитонова и др., 2007]. Этот непарный паренхиматозный орган способствует физиологической адаптации системы кровообращения к различным нагрузкам [Schulte-Hostedde et al., 2012; Аксёнова и др., 2018]. Особенно важную роль в депонировании клеток и выработке иммунитета селезенка играет в постнатальном онтогенезе [Капитонова и др., 2007]. Известно, что в селезенке происходит депонирование зрелых клеток крови, фагоцитоз инородных частиц, обезвреживание токсинов, созревание лимфоцитов и перерождение моноцитов в макрофаги. Кроме того, в селезенке разрушаются старые эритроциты и тромбоциты.

В изоферментном профиле ЛДГ тканей селезенки наблюдался высокий уровень трех фракций (ЛДГ-3, ЛДГ-4, ЛДГ-5) у норок и четырех фракций (ЛДГ-2, ЛДГ-3, ЛДГ-4, ЛДГ-5) у песцов на протяжении всех изученных этапов индивидуального развития (табл. 5). Ранний онтогенез у норок характеризовался отсутствием или следами ЛДГ-1 и высоким уровнем ЛДГ-5 в селезенке, в позднем онтогенезе чет-

ко проявилась первая фракция ЛДГ, а содержание ЛДГ-5 было ниже, чем в ранний период развития. Изоферментный спектр ЛДГ тканей норок был близок к дефинитивному уже у трехмесячных животных.

В изоферментном профиле ЛДГ тканей селезенки песцов присутствовали все пять фракций фермента (табл. 3). Во все возрастные периоды онтогенеза у песцов преобладающей являлась гибридная фракция ЛДГ-3, содержание которой варьировало от  $33,7 \pm 3,8\%$  у 15-суточных до  $41,2 \pm 1,1\%$  у 210-суточных животных. Существенные перестройки в изоферментном спектре ЛДГ тканей селезенки произошли у двухмесячных щенков. В этот период у них почти на треть снизилось количество ЛДГ-5 по сравнению с месячными щенками при одновременном увеличении фракции ЛДГ-1. В результате этих изменений коэффициент соотношения содержания ЛДГ-5/ЛДГ-1 снизился до 2,0 и стал на порядок ниже, чем у 15-суточных щенков (23,1).

Так же как и в почках, на протяжении всего онтогенеза содержание М-субъединиц ЛДГ в селезенке щенков норок было выше, чем у песцов (табл. 4). В селезенке у щенков норок оно постепенно нарастало к 30-суточному возрасту до 84,6 %, а в дальнейшем уменьшалось до 68,8 %. У песцов в этом органе в раннем онтогенезе наблюдалось снижение М-субъеди-

Таблица 4. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в тканях селезенки норок и песцов в процессе постнатального онтогенеза

Table 4. Changes in the isoenzyme spectra of LDH in the tissues of the spleen of minks and Arctic foxes during postnatal ontogenesis

Возраст, сутки Age, days	Фракции / Fractions, %					%	
	ЛДГ-1 LDH-1	ЛДГ-2 LDH-2	ЛДГ-3 LDH-3	ЛДГ-4 LDH-4	ЛДГ-5 LDH-5	Н	М
Норки / Minks							
15 (n=5)	0,9 ± 0,1	7,6 ± 1,3	25,5 ± 3,2	29,4 ± 1,4	36,5 ± 5,1	26,8	73,2
25 (n=5)	0	3,6 ± 0,9	21,1 ± 3,4	26,7 ± 1,3	48,7 ± 4,0	19,9	80,1
60 (n=6)	2,8 ± 0,8	8,7 ± 1,6	23,5 ± 1,1	22,4 ± 2,4	42,5 ± 4,2	26,7	73,3
90 (n=6)	3,9 ± 1,0	9,5 ± 0,9	30,2 ± 2,0	20,2 ± 2,2	36,3 ± 2,9	31,2	68,8
120 (n=5)	3,8 ± 0,8	9,4 ± 1,3	22,9 ± 2,2	25,4 ± 2,2	38,5 ± 1,5	28,7	71,3
150 (n=5)	3,7 ± 1,1	13,2 ± 0,9	28,8 ± 1,3	23,7 ± 1,6	30,7 ± 2,8	33,9	66,1
210 (n=35)	3,2 ± 0,4	19,0 ± 1,2	38,0 ± 1,4	25,8 ± 1,5	14,0 ± 1,7	42,9	57,1
Песцы / Arctic foxes							
15 (n=5)	1,3 ± 0,9	13,7 ± 2,9	33,7 ± 3,8	20,6 ± 2,0	30,7 ± 3,1	33,6	66,4
25 (n=6)	5,7 ± 1,4	18,3 ± 2,6	35,3 ± 1,4	15,3 ± 1,3	25,3 ± 1,0	41,0	59,0
60 (n=6)	8,8 ± 2,8	21,9 ± 1,3	35,3 ± 1,4	16,5 ± 2,0	17,6 ± 1,5*	46,9	53,1
90 (n=9)	2,2 ± 0,4*	23,3 ± 0,8	35,4 ± 0,7	17,7 ± 1,0	21,4 ± 0,4	41,8	58,2
120 (n=6)	2,9 ± 1,9	24,1 ± 2,6	37,4 ± 1,1	16,4 ± 1,8	19,2 ± 1,9	43,8	56,2
150 (n=6)	3,7 ± 1,1	24,5 ± 0,9	34,9 ± 0,9	16,4 ± 0,9	20,4 ± 0,7	43,7	56,3
210 (n=21)	2,7 ± 0,7	25,2 ± 1,5	41,2 ± 1,1	18,5 ± 0,8	12,4 ± 1,8	46,8	53,2

ниц ЛДГ, а затем после небольшого повышения происходила стабилизация их уровня.

Результаты нашего исследования показывают существование некоторых видовых и возрастных различий в распределении тканевых фракций ЛДГ в процессе постнатального онтогенеза у двух видов – норки и песца (табл. 1–4). Эти хищные млекопитающие относительно небольшие по размеру: средняя масса тела половозрелого самца песца 3,5 кг, самки – 3 кг; норки мельче: самцы – до 3 кг, самки – до 1,9 кг. Как и другие представители хищных, норки и песцы относятся к незрелорождающимся животным. Масса новорожденных норчат колеблется в пределах 6–10 г, щенков песцов – 60–90 г [Терновский, Терновская, 1994; Федорова, 2007; Чашухин, 2009]. Детеныши рождаются слепыми, беззубыми, лишены выраженного волосяного покрова. Глаза у норчат открываются примерно в месячном возрасте, а у щенков песцов уже на 14–15-е сутки. Молочные зубы прорезаются в 16–20-суточном возрасте. В конце четвертой декады от рождения молодняк норки становится способным к потреблению кормов животного происхождения. Темпы роста и развития высоки. Масса щенков песца в возрасте 1 мес. составляет 580–690 г (самки) и 630–750 г (самцы), в 2 мес. – соответственно 1,6–1,7 и 1,7–2,0 кг.

Известно, что процесс доместикации основных объектов пушного звероводства, представителей отряда Хищные – норки и песцов – продолжается всего 80–100 лет, но протекает во много раз быстрее, чем это было прежде с другими сельскохозяйственными и домашними животными [Берестов, Кожевникова, 1981; Федорова, 2007]. За период разведения эти млекопитающие претерпели ряд значительных изменений, прежде всего касающихся хозяйственно полезных признаков – окраска волосяного покрова, размеры и масса тела. Однако животные в основном сохранили динамический стереотип своих диких предков – сезонность размножения, линьки волосяного покрова, динамику метаболизма и специфику питания. Строгая сезонная цикличность размножения фермерских норок и песцов является одним из консервативных признаков, сохранившихся в ходе доместикации [Берестов, Кожевникова, 1981]. Моноэстричность (способность давать потомство только раз в год) этих животных – биологическое свойство, обеспечивающее выживаемость щенков только при рождении весной, быстром и интенсивном росте и развитии в летний период и полном созревании организма осенью. Считается, что основным внешним синхронизатором этого внутреннего биоритма

является свет, поскольку действие этого ключевого сигнального фактора было наиболее стабильным в течение всего периода эволюции [Клочков и др., 2010].

Различия в экологии видов в прошлом (среда обитания, тип питания и др.) отражаются на особенностях функционирования ряда физиологических систем фермерских норок и песцов. По образу жизни в природе норку логично относить к млекопитающим, приспособившимся к околководному обитанию в прибрежной зоне континентальных водоемов [Терновский, Терновская, 1994]. Она не только быстро передвигается по суше, пробегая в сутки более 20 км, но и хорошо плавает и ныряет. Норка способна проплывать под водой до 20–25 м, погружаться на глубину 3 м и даже глубже [Чашухин, 2009]. Высокая подвижность хищника связана с тем, что пища через относительно короткий кишечник проходит быстро, норке постоянно приходится преследовать новую добычу.

Онтогенетические изменения активности ферментов связаны с особенностями метаболизма, который в процессе индивидуального развития животных претерпевает закономерные количественные и качественные изменения. Это выражается в начальном коротком подъеме, а затем медленном неравномерном снижении напряженности биоэнергетики, изменении соотношения анаболизма и катаболизма и возрастании на протяжении жизни диспропорции между интенсивностью процессов синтеза и распада [Махинько, Никитин, 1975]. На первых этапах постнатального онтогенеза основным источником энергообеспечения является гликолиз. По мере взросления организма его доля в энергопродукции падает [Корниенко, 1979]. Такая зависимость характерна для тех органов, энергетическое обеспечение и функции которых в большей мере зависят от гликолитического распада углеводов.

Отмеченные нами в процессе постнатального онтогенеза тканевые особенности распределения изоферментов ЛДГ и различаются в зависимости от видовой принадлежности. Аэробные изоферменты ЛДГ, относящихся к Н-субъединицам, доминируют исключительно в тканях почек у норки. У песцов в тканях таких органов, как почки, легкие и селезенка, в которых периодически создаются как аэробные, так и анаэробные условия, одновременное присутствие Н- и М-субъединиц является наиболее выгодным – в этом случае большая часть молекул ЛДГ будет относиться к гибриднему типу. В скелетных мышцах с преимущественно анаэробной системой энергообразования преобла-

дают «мышечные» субъединицы у обоих исследованных видов хищных млекопитающих.

Таким образом, при сравнительном анализе изоферментных профилей ЛДГ органов исследованных млекопитающих обнаружены межвидовые особенности в распределении изоферментов – в преобладании анаэробных М-субъединиц ЛДГ в тканях скелетных мышц, легких и селезенки у полуводных норок по сравнению с наземными песцами в течение всего процесса постнатального онтогенеза. Повышенная способность к анаэробному ресинтезу АТФ и восстановительных эквивалентов, как видно, сложилась у норок в ходе длительной эволюции в связи с необходимостью функционирования в условиях вынужденной гипоксии при нырянии. Тканевая специфичность изоферментных спектров ЛДГ наблюдается у норок и песцов уже в первый месяц жизни и отражает метаболический профиль тканей. В период раннего онтогенеза норок и песцов (первые три месяца жизни) в основном завершается формирование изоферментных спектров ЛДГ исследуемых органов в соответствии с типом метаболизма тканей. При этом становление органных спектров изоферментов ЛДГ идет синхронно с созреванием ряда морфофункциональных систем у этих незрелорождающихся хищников [Аксёнова и др., 2018]. У щенков норок и песцов наиболее значимые перестройки изоферментных спектров ЛДГ в исследуемых тканях наблюдались в начальный период интенсивного роста и развития животных – в возрасте 15–90 суток.

*Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0073).*

## Литература

Аксёнова Г. Е., Логвинович О. С., Игнатъев Д. А., Коломийцева И. К. Динамика адаптивных изменений в селезенке гибернарующих сусликов *Spermophilus undulatus* // Биофизика. 2018. Т. 63, № 2. С. 311–317.

Берестов В. А., Кожевникова Л. К. Ферменты крови пушных зверей. Л.: Наука, 1981. 184 с.

Василевский И. Н. Структурно-функциональная характеристика почек у норок и песцов при применении кормовых добавок природных сорбентов: Автореф. дис. ... канд. вет. наук. Казань, 2004. 19 с.

Гирфанов А. И., Гирфанова Ф. Г. Топография междолевых вырезок в легких у песца голубого // Ученые записки Казанской ГАВМ. 2013. Т. 216. С. 100–103.

Капитонова М. Ю., Краюшкин А. И., Рябикина А. И., Нестерова А. А. Развитие селезенки в раннем пост-

натальном онтогенезе // Вестник Волгоградского ГМУ. 2007. № 4. С. 56–59.

Клочков Д. В., Гулевич Р. Г., Трапезов О. В. Фотопериодический сигнал как ключевой фактор во взаимоотношениях генотип-среда // Вестник ВОГиС. 2010. Т. 14, № 4. С. 729–746.

Корниенко И. А. Возрастные изменения энергетического обмена и терморегуляции. М.: Наука, 1979. 160 с.

Корочкин Л. И., Серов О. А., Пудовкин А. И., Аронштам А. А., Боркин Л. Я., Малецкий С. И., Полякова Е. В., Манченко Г. П. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 275 с.

Махинько В. И., Никитин В. Н. Обмен веществ и энергии в онтогенезе // Возрастная физиология. Л.: Наука, 1975. С. 221–259.

Мостофи Ф. К., Смит Д. Е. Почки. М.: Медицина, 1972. 464 с.

Новожилов А. В. Динамика реологических и гематологических показателей крови у незрело- и зрелорождающихся животных в постнатальном онтогенезе: Дис. ... канд. биол. наук, СПб., 2009. 157 с.

Райдер К., Тейлор К. Изоферменты. М.: Мир, 1983. 106 с.

Терновский Д. В., Терновская Ю. Г. Экология кунцеобразных. Новосибирск: Наука, 1994. 223 с.

Тютюнник Н. Н., Кожевникова Л. К., Унжаков А. Р., Мелдо Х. И. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы органов пушных зверей различного экогенеза // Ж. эвол. биохим. и физиол. 2005. Т. 41, № 3. С. 240–246.

Тяглова И. Ю. Сравнительная макро-микроморфология нервно-сосудистого аппарата почек у плотоядных: собака, песец, норка и соболь: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2008. 17 с.

Унжаков А. Р., Тютюнник Н. Н. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы в тканях енотовидных собак *Nyctereutes procyonoides* в осенний период // Биофизика. 2016. Т. 61, № 4. С. 758–765.

Федорова О. И. Доместикационные преобразования в ходе промышленного разведения американской норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) // Вестник ВОГиС. 2007. Т. 11, № 1. С. 91–98.

Чащухин В. А. Норка американская. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2009. 102 с.

Ahmad R. Functional and adaptive significance of differentially expressed lactate dehydrogenase isoenzymes in tissues of four obligatory air-breathing *Channa* species // Biol. 2009. Vol. 64, no. 1. P. 192–199. doi: 10.2478/s11756-009-0017-7

Ahmad R., Hasnain A. Ontogenetic changes and developmental adjustments in lactate dehydrogenase isoenzymes of an obligate air-breathing fish *Channa punctatus* during deprivation of air access // Comp. Biochem. Physiol. 2005. Vol. 140B. P. 271–278.

Dowell R. T., Fu M. C. Enzymatic method for quantitative lactate dehydrogenase isoenzyme composition in cardiac tissue utilization of the method to characterize newborn and adult rat heart // Exp. Pharmacol. 1994. Vol. 16, no. 2. P. 109–117.

Harrison A. P., Latorre R., Dauncey M. J. Postnatal development and differentiation of myofibres in functio-

nally diverse porcine skeletal muscles // *Reprod. Fertil. Dev.* 1997. Vol. 9. P. 731–740. doi: 10.1071/R97026

Hochachka P., Somero G. Biochemical adaptation. New-York: Oxford Univ. Press, 2002. 466 p.

Ishida A., Ashihara A., Nakashima K., Katsumata M. Expression of cationic amino acid transporters in pig skeletal muscles during postnatal development // *Amino Acids*. 2017. Vol. 49, no. 11. P. 1805–1814. doi: 10.1007/s00726-017-2478-2

Rossignol F., Solares M., Balanza E., Coudert J., Clottes E. Expression of lactate dehydrogenase A and B genes in different tissues of rats adapted to chronic hypobaric hypoxia // *J. Cell. Biochem.* 2003. Vol. 89, no. 1. P. 67–79. doi: 10.1002/jcb.10484

Schulte-Hostedde A. I., Bowman J., Nituch L. A. Dynamic spleen mass in wild and domestic American mink // *Biol. J. Linnean Soc.* 2012. Vol. 107. P. 624–631.

Sergina S., Antonova E., Ilyukha V., Lapinski S., Lis M., Niedbala P., Unzhakov A., Belkin V. Biochemical adaptations to dive-derived hypoxia/reoxygenation in semiaquatic rodents // *Comp. Biochem. Physiol.* 2015. Vol. 190. P. 37–45. doi: 10.1016/j.cbpb.2015.08.012

Wieme R. Studies on agar-gel electrophoresis, Techniques – Affidations. Brussels: Arscia Uitgaven N. V. Publ., 1959. 531 p.

Поступила в редакцию 31.01.2020

## References

Aksenova G. E., Logvinovich O. S., Ignat'ev D. A., Komiitseva I. K. Dinamika adaptivnykh izmenenii v selezenke giberniruyushchikh suslikov *Spermophilus undulatus* [The dynamics of adaptive changes in the spleen of the hibernating ground squirrel *Spermophilus undulatus*]. *Biofizika* [Biophysics]. 2018. Vol. 63, no. 2. P. 311–317.

Berestov V. A., Kozhevnikova L. K. Fermenty krovi pushnykh zveri [Blood enzymes of fur animals]. Leningrad: Nauka, 1981. 184 p.

Chashchukhin V. A. Norka amerikanskaya [American mink]. Moscow: KMK, 2009. 102 p.

Fedorova O. I. Domestikatsionnye preobrazovaniya v khode promyshlennogo razvedeniya amerikanskoi norki (*Mustela vison* Schreber, 1777) [Domestication transformations of the American mink (*Mustela vison* Schreber, 1777)]. *Vestnik VOGiS* [Vavilov J. Genetics Breeding]. 2007. Vol. 11, no. 1. P. 91–98.

Girfanov A. I., Girfanova F. G. Topografiya mezhdolevykh vyrezok v legkikh u pestsa golubogo [Topography of interlobar clippings in the lungs of the arctic fox]. *Uchenye zapiski Kazanskoi GAVM* [Proceed. Kazan St. Acad. Vet. Medicine n. a. N. E. Bauman]. 2013. Vol. 216. P. 100–103.

Kapitonova M. Yu., Krayushkin A. I., Ryabikina A. I., Nesterova A. A. Razvitie selezenki v rannem postnatal'nom ontogeneze [Spleen development in early postnatal ontogenesis]. *Vestnik Volgogradskogo GMU* [Journal of VolgSMU]. 2007. No. 4. P. 56–59.

Klochkov D. V., Gulevich R. G., Trapezov O. V. Fotoperiodicheskii signal kak klyuchevoi faktor vo vzaimootnosheniyakh genotip-sreda [Photoperiodic signal as a key factor in the genotype-environment relationship]. *Vestnik VOGiS* [Vavilov J. Genetics Breeding]. 2010. Vol. 14, no. 4. P. 729–746.

Kornienko I. A. Vozrastnye izmeneniya energeticheskogo obmena i termoregulyatsii [Age-related changes in energy metabolism and thermoregulation]. Moscow: Nauka, 1979. 160 p.

Korochkin L. I., Serov O. A., Pudovkin A. I., Aronshtam A. A., Borkin L. Ya., Maletskii S. I., Polyakova E. V., Manchenko G. P. Genetika izofermentov [Genetics of isoenzymes]. Moscow: Nauka, 1977. 275 p.

Makhin'ko V. I., Nikitin V. N. Obmen veshchestv i energii v ontogeneze [Metabolism and energy in ontogenesis]. *Vozrastnaya fiziol.* [Developmental Physiol.]. Leningrad: Nauka, 1975. P. 221–259.

Mostofi F. K., Smith D. E. Pochki [Kidneys]. Moscow: Meditsina, 1972. 464 p.

Novozhilov A. V. Dinamika reologicheskikh i gematologicheskikh pokazatelei krovi u nezrelo- i zrelorozhdayushchikhsya zhivotnykh v postnatal'nom ontogeneze [Dynamics of rheological and hematological blood parameters in immature and mature animals in postnatal ontogenesis]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2009. 157 p.

Rayder K., Teylor K. Izofermenty [Isoenzymes]. Moscow: Mir, 1983. 106 p.

Ternovskii D. V., Ternovskaya Yu. G. Ekologiya kunitseobraznykh [Ecology of the Marteniformes]. Novosibirsk: Nauka, 1994. 223 p.

Tyutyunnik N. N., Kozhevnikova L. K., Unzhakov A. P., Meldo Kh. I. Isoenzyme spectra of lactate dehydrogenase in organs of fur-bearing animals of different ecogenesis. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2005. Vol. 41, no. 3. P. 301–309.

Tyaglova I. Yu. Sravnitel'naya makro-mikromorfologiya nervno-sosudistogo apparata pochek u plotoyadnykh: sobaka, pesets, norka i sobol' [Comparative macro-morphology of the neurovascular apparatus of the kidneys in carnivores: dog, arctic fox, mink, and sable]: Summary of PhD (Cand. of Biol.) thesis. Saransk, 2008. 17 p.

Unzhakov A. R., Tyutyunnik N. N. The isozyme spectra of lactate dehydrogenase in the tissues of the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in the autumn. *Biophysica*. 2016. Vol. 61, no. 4. P. 640–646.

Vasilevskii I. N. Strukturno-funktsional'naya kharakteristika pochek u norok i pestsov pri primenenii kormovykh dobavok prirodnykh sorbentov [Structural and functional characteristics of the kidneys in minks and Arctic foxes when using feed additives of natural sorbents]: Summary of PhD (Cand. of Vet.) thesis. Kazan', 2004. 19 p.

Ahmad R. Functional and adaptive significance of differentially expressed lactate dehydrogenase isoenzymes in tissues of four obligatory air-breathing *Channa* species. *Biol.* 2009. Vol. 64, no. 1. P. 192–199. doi: 10.2478/s11756-009-0017-7

Ahmad R., Hasnain A. Ontogenetic changes and developmental adjustments in lactate dehydrogenase isoenzymes of an obligate air-breathing fish *Channa punctatus* during deprivation of air access. *Comp. Biochem. Physiol.* 2005. Vol. 140B. P. 271–278.

Dowell R. T., Fu M. C. Enzymatic method for quantitating lactate dehydrogenase isoenzyme composition in cardiac tissue utilization of the method to characterize newborn and adult rat heart. *Exp. Pharmacol.* 1994. Vol. 16, no. 2. P. 109–117.

Harrison A. P., Latorre R., Dauncey M. J. Postnatal development and differentiation of myofibres in functionally diverse porcine skeletal muscles. *Reprod. Fertil. Dev.* 1997. Vol. 9. P. 731–740. doi: 10.1071/R97026

Hochachka P., Somero G. Biochemical adaptation. New-York: Oxford Univ. Press, 2002. 466 p.

Ishida A., Ashihara A., Nakashima K., Katsumata M. Expression of cationic amino acid transporters in pig skeletal muscles during postnatal development. *Amino Acids.* 2017. Vol. 49, no. 11. P. 1805–1814. doi: 10.1007/s00726-017-2478-2

Rossignol F., Solares M., Balanza E., Coudert J., Clottes E. Expression of lactate dehydrogenase A and B

genes in different tissues of rats adapted to chronic hypobaric hypoxia. *J. Cell. Biochem.* 2003. Vol. 89, no. 1. P. 67–79. doi: 10.1002/jcb.10484

Schulte-Hostedde A. I., Bowman J., Nituch L. A. Dynamic spleen mass in wild and domestic American mink. *Biol. J. Linnean Soc.* 2012. Vol. 107. P. 624–631.

Sergina S., Antonova E., Ilyukha V., Lapinski S., Lis M., Niedbala P., Unzhakov A., Belkin V. Biochemical adaptations to dive-derived hypoxia/reoxygenation in semiaquatic rodents. *Comp. Biochem. Physiol.* 2015. Vol. 190 P. 37–45. doi: 10.1016/j.cbpb.2015.08.012

Wieme R. Studies on agar-gel electrophoresis, Techniques – Affidications. Brussels: Arscia Uitgaven N. V. Publ., 1959. 531 p.

Received January 31, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### **Унжаков Алексей Рудольфович**

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

### **Антонова Екатерина Петровна**

и. о. старшего научного сотрудника лаб. экологической физиологии животных, к. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: antonova88ep@mail.ru

### **Калинина Светлана Николаевна**

заведующая лаб. экологической физиологии животных, к. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: cvetnick@yandex.ru

## CONTRIBUTORS:

### **Unzhakov, Aleksei**

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

### **Antonova, Ekaterina**

Institute of Biology, Karelian Research Centre,  
Russian Academy of Sciences  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: antonova88ep@mail.ru

### **Kalinina, Svetlana**

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

УДК 575.174:582.683.2

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АДАПТАЦИИ: ВРЕМЯ НАЧАЛА ЦВЕТЕНИЯ И СТЕПЕНЬ ПОКОЯ СЕМЯН У *ARABIDOPSIS THALIANA* СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

М. В. Зарецкая, О. М. Федоренко, О. Н. Лебедева

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

Работа посвящена проблеме генетических основ адаптации растений. Изучены адаптивно значимые признаки модельного вида *Arabidopsis thaliana* – потребность в яровизации, время начала цветения и сроки прорастания семян – у растений северных природных популяций (Карелия). Выявлены особенности экспрессии генов *FLC* и *VIN3*, контролирующих эти признаки. Установлен низкий уровень транскриптов мРНК *FLC* у неярвизированных растений на стадии розетки с последующим усилением экспрессии на 10–30-й день яровизации, что отличается от данных других исследователей. Первоначально низкий уровень транскриптов мРНК *VIN3* у неярвизированных растений неожиданно повышается в некоторых популяциях в процессе яровизации на 20-й день, в отличие от данных литературы. Показано, что для массового перехода к цветению растений из популяций северной периферии ареала вида в бассейне Онежского озера требуется более длительная (9-недельная) яровизация по сравнению с растениями из более мягкого климата островов Ладоги (6 недель низких температур). Изучение степени покоя семян, влияющего на сроки их прорастания, показало, что в условиях холодного климата семена *A. thaliana* имеют более сильный покой при высокой летней температуре (22 °С) по сравнению с прохладной температурой осени (10 °С). Это обеспечивает их прорастание осенью и цветение весной после окончания яровизации. Предполагается, что у *Arabidopsis thaliana* карельских популяций, расположенных на северной периферии ареала вида, одним из механизмов адаптации растений к холодному климату является адаптивная плейотропия, выражающаяся в особенностях экспрессии генов *FLC* и *VIN3*, контролирующих сроки прорастания семян осенью и цветения растений весной, после яровизации, что обеспечивает как выживание всходов, так и максимальный репродуктивный успех.

Ключевые слова: адаптация; *Arabidopsis thaliana*; северные природные популяции; время начала цветения; яровизация; покой семян; экспрессия генов *FLC* и *VIN3*.

**M. V. Zaretskaya, O. M. Fedorenko, O. N. Lebedeva. GENETIC GROUNDS FOR ADAPTATION: FLOWERING ONSET TIME AND DEGREE OF SEED DORMANCY IN NORTHERN NATURAL *ARABIDOPSIS THALIANA* POPULATIONS**

The study deals with genetic grounds for plant adaptation. Important adaptive traits of a model species, *Arabidopsis thaliana*, were studied: demand for vernalization, timing of flowering onset and of seed germination in plants in northern natural populations (Karelia). Specific expression patterns of the genes *FLC* and *VIN3*, which control these



traits, were revealed. A low transcription level of *FLC* mRNA in non-vernalized plants at the rosette stage was detected, followed by a rise in expression on the 10<sup>th</sup>–30<sup>th</sup> days of vernalization, which differs from the data reported by other researchers. The initially low level of *VIN3* mRNA transcripts in non-vernalized plants rose unexpectedly in some populations on the 20<sup>th</sup> day of the vernalization process, in contrast to data in the literature. It has been shown that a longer (9-week) vernalization is needed for a massive flowering onset in plants from populations in the northern periphery of the species range in Lake Onego catchment area as compared to 6 weeks of cold exposure for plants from the milder climate of Lake Ladoga islands. A study of the seeds' degree of dormancy, which affects the timing of germination, showed that in colder climates *A. thaliana* seeds go deeper into dormancy at a high summer temperature (22 °C) compared to a cool autumn temperature (10 °C). This ensures their germination in the autumn and flowering in the spring, after the end of vernalization. Supposedly, one of the mechanisms for plant adaptation to a cold climate in Karelian *Arabidopsis thaliana* populations, growing in the northern periphery of the species range, is adaptive pleiotropy, exhibited in the peculiar expression patterns of the *FLC* and *VIN3* genes, which control the timing of seed germination in autumn and flowering in spring, after vernalization, providing for both seedling survival and maximum reproductive success.

**Key words:** adaptation; *Arabidopsis thaliana*; northern natural populations; flowering onset time; vernalization; seed dormancy; *FLC* and *VIN3* gene expression.

## Введение

Вопросы адаптации к условиям окружающей среды имеют первостепенное значение для живых организмов. Особенно это актуально на границах ареалов видов. У однолетних растений кроме времени начала цветения адаптивно значимым является и время прорастания семян, зависящее от периода их покоя. Эти два ключевых события должны происходить строго в определенные сроки, чтобы обеспечить выживание всходов и максимальный репродуктивный успех. На *Arabidopsis thaliana*, классическом модельном объекте, показано, что ген *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*), являющийся ключевым компонентом регуляторной сети инициации цветения, регулирует также и сроки прорастания семян, контролируя их покой [Chiang et al., 2009; Chen, Penfield, 2018]. Хотя многое известно о сезонной и генетической регуляции времени цветения, гораздо меньше известно об экологической и генетической основе прорастания, более раннем переходе в развитии растения.

В последнее время получены данные, которые указывают на зависимость периода покоя семян и их способность к прорастанию от уровня экспрессии гена *FLC* в созревающих на материнском растении семенах. Предполагается, что ген *FLC* опосредованно (с участием генов *AP1*, *FT* и *SOC1*, контролирующих зацветание) влияет на синтез и катаболизм гормонов гиббереллина и абсцизовой кислоты, что определяет длительность покоя семян и их способность к прорастанию [Choi et al., 2009; Chen, Penfield,

2018]. Экспрессия *FLC* контролируется различными активаторами и репрессорами. Автономный путь регуляции времени начала цветения конститутивно контролирует подавление экспрессии *FLC* для стимуляции цветения [He et al., 2003; Ausin et al., 2004]. Ген *FRI* (*FRIGIDA*) кодирует белок FRI, являющийся основным активатором *FLC* [Johanson et al., 2000]. Эффект активации *FLC* под действием FRI доминирует над супрессирующим эффектом генов-регуляторов автономного пути, однако может быть преодолен влиянием низких температур (яровизацией) [Schmitz, Amasino, 2007]. У *A. thaliana* сезонные изменения температуры определяются с помощью эпигенетического статуса гена *FLC*. Длительный период холода способствует экспрессии антисмысловых транскриптов в *FLC*, известных как *COOLAIR*, которые обеспечивают «молчание» транскрипции mRNA *FLC* путем набора PRC2-комплексов и депонирования хроматиновых меток H3 K27me3 [Chen, Penfield, 2018].

К настоящему времени сложилось мнение, что условия окружающей среды, с которыми сталкиваются материнские растения, влияют на поведение потомства [Marshall, Uller, 2007; English et al., 2015; Auge et al., 2017]. Так, температурные условия перед цветением растений заметно влияют на состояние покоя семян и, соответственно, на сроки их прорастания. В течение репродуктивного развития *A. thaliana* материнское растение использует белок FLC для модулирования периода покоя семенного потомства в ответ на температуру и таким образом передает сезонную информацию по-

томству [Chen et al., 2014; Chen, Penfield, 2018]. Также известно, что естественная аллельная изменчивость *FLC* и уровень экспрессии этого гена связаны с естественной изменчивостью температурозависимого прорастания семян [Chiang et al., 2009] и что большинство генов яровизационного пути влияют на прорастание семян и их реакцию на материнскую яровизацию [Auge et al., 2017]. Однако остается еще много неясного в генетических механизмах регуляции покоя семян; по некоторым вопросам между исследователями нет единого мнения, а результаты противоречивы.

Многие экотипы *A. thaliana* северных широт представляют собой поздние зимние однолетние растения, у которых семена прорастают при прохладной температуре осенью и откладывают цветение до окончания яровизации [Chiang et al., 2009]. В яровизационно-опосредованном переходе к цветению озимых форм растений *A. thaliana* ведущую роль играют два гена – *FLC* и *VIN3* (*VERNALIZATION INSENSITIVE 3*) [Kim, Sung, 2013; Lee et al., 2015], при этом *VIN3* необходим для запуска молекулярного механизма модификации хроматина *FLC* [Adrian et al., 2009; Andrés, Coupland, 2012]. Таким образом, целью работы явилось изучение генетических и эпигенетических механизмов контроля адаптивно значимых признаков растений *A. thaliana* (времени начала цветения, потребности в яровизации и степени покоя семян) на северной периферии ареала вида. В задачи исследования входило: 1) изучение влияния длительности яровизации на сокращение времени до начала цветения растений северных природных популяций; 2) изучение степени покоя семян при различных температурных условиях выращивания материнских растений и проращивания семян; 3) оценка уровня транскрипционной активности генов *FLC* и *VIN3* до холодового воздействия и в процессе яровизации различной продолжительности.

## Материалы и методы

**Растительный материал.** В работе использовали растения *A. thaliana*, выращенные из собранных в природе семян северных природных популяций, находящихся в Карелии. Изучение влияния продолжительности яровизации на сокращение времени до начала цветения растений и изучение степени покоя семян проводили на популяциях бассейна Онежского озера (популяции сельских поселений Царевичи, Шуйская, Кончезеро и популяции островов Радколье, Большой Климецкий) и более южных популяциях островов Ладожского озера (Валаам, Маркатси-

мансаари, Пиени-Сартосаари). Для определения уровня экспрессии генов *FLC* и *VIN3* отобраны популяции, различающиеся по времени начала цветения отдельных растений и по реакции их на яровизацию. Проанализированы растения двух карельских популяций, представленных поздноцветущими формами (Кончезеро и Шуйская), и одной смешанной по времени цветения – ранние и поздние формы – популяции (Царевичи). В качестве контроля использована раннецветущая линия – *Ler* (*Landsberg erecta*).

**Выращивание растений в лабораторных условиях** проводили по общепринятым методикам культивирования арабидопсиса [Иванов и др., 1966]. Семена, собранные во время экспедиции 2015 г., высевали в чашки Петри и проращивали на простой среде по Гихнеру – Велеминскому, которая готовилась на основе 8% агар-агара с добавлением растворов макроэлементов:  $KNO_3$ ;  $MgSO_4 \times 7H_2O$ ;  $Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$ ;  $K_2HPO_4$ ;  $FeSO_4 \times 7H_2O$ ; ЭДТА (натриевая соль) и микроэлементов. Растения в чашках Петри выращивали под люминесцентными лампами при температуре 22–24 °С и круглосуточном освещении (10000 лк). Для моделирования природных условий в лаборатории яровизировали 14-дневные проростки (стадия розетки) в чашках Петри при 2–4 °С в течение 10, 20, 30, 40 или 63 (9 недель) дней. После яровизации по 40 растений каждой популяции пересаживали из чашек Петри в почву (смесь земли и песка 1:1) и выращивали в тех же условиях, что и до яровизации, для определения времени начала цветения.

Анализ экспрессии генов *FLC* и *VIN3* проводили на 14-дневных проростках до яровизации или после нее (14 + 10, 20 ... 63 дня). Для изучения степени покоя свежесобранных семян материнские растения выращивали в лабораторных условиях при 22 °С, как описано выше, или использовали растения, выросшие в природной среде, среднесуточная температура июня 2019 г. ~ 15 °С. Свежесобранные семена в количестве 200 шт. (50×4 повторности) для каждой популяции высевали на второй день и выращивали в чашках Петри на агаризованной питательной среде, как описано выше, в камере искусственного климата при 10 или 22 °С, 16-часовом фотопериоде и освещении 10000 лк. О степени покоя семян судили по их всхожести на 10-й день.

**Анализ уровня транскриптов генов.** Выделение суммарной РНК из листьев растений осуществлялось с использованием набора ExtractRNA («Евроген», Россия) по методике производителя. Навеску листьев 50 мг гомогенизировали в лизирующем буфере ExtractRNA. Депротеинизацию проводили с помощью хло-

роформа. Тотальную РНК осаждали в этиловом спирте. Качество и количество РНК определяли на спектрофотометре Smart Spec (Bio-Rad, США). Выделенную РНК обрабатывали ДНКазой (1 е. а.). Первую цепь кДНК синтезировали с помощью набора для обратной транскрипции MMLV RT kit («Евроген», Россия). Содержание мРНК генов *FLC* и *VIN3* оценивали методом ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем SYBR Green на приборе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США) с набором для ПЦР-РВ («Евроген», Россия). Для определения уровня экспрессии генов каждую ПЦР проводили три раза, на трех независимых образцах кДНК. Последовательности праймеров для анализа экспрессии: *FLC* f: 5'-GCCAAGAAGACC-GAACTCATGTTGA-3', r: 5'-CAACCGCCGATTTAAGGTGGCTA-3'; *VIN3* f: 5'-AGAAGCTGTGTTCTCAGGCAATGG-3', r: 5'-TCTTCGTCTTCGACTTTCGACAAA-3'. Анализ относительного содержания транскриптов проводился с помощью метода  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [Livak, Schmittgen, 2001], основанного на нормализации данных по экспрессии относительно двух референсных генов. В качестве референсных использованы гены *18sRNA* и *UBQ10*. Последовательности праймеров референсных генов: *18sRNA* f: 5'-TGCCCGTTGCTCTGA-TGA-3', r: 5'-GGATGTGGTAGCCGTTTCT-3'; *UBQ10* f: 5'-TCTTCTTTATCATCGCTTCG-3', r: 5'-GCTCAACACTTTCGCTACAT-3'. О специфичности фрагментов судили по кривым плавления.

**Статистическая обработка данных.** Экспериментальные данные обрабатывали с использованием статистических программ Microsoft Excel и Statgraphics 2.1 (ANOVA). Достоверность различий содержания мРНК генов *FLC* и *VIN3* в листьях растений разных популяций и между отдельными группами растений по длительности яровизации оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни (U-тест).

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

## Результаты и обсуждение

*Влияние длительности яровизации на сокращение времени до начала цветения растений в карельских популяциях A. thaliana*

Как показали предыдущие наши исследования, карельские популяции *A. thaliana* представлены в основном поздноцветущи-

ми формами растений, которым для цветения требуется продолжительный период низких температур. При этом увеличение длительности холодового воздействия приводит к сокращению доли поздно зацветающих растений и реакция на яровизацию различной продолжительности у растений отдельных популяций неодинакова [Федоренко и др., 2012; Курбидаева и др., 2013]. Растения *A. thaliana* популяций северных широт, как правило, требуют очень длительной яровизации [Kuittinen et al., 1997; Shindo et al., 2006]. Так, образцы, собранные в Северной Швеции (Lov-1) на северной границе ареала арабидопсиса (62,5° с. ш.), нуждаются в трех месяцах яровизации для ускорения цветения [Duncan et al., 2015]. Лocus *FRI* наиболее часто отвечает за потребность в яровизации среди поздних экотипов Центральной Европы и Скандинавии и является доминантным у них [Clarke, Dean, 1994]. Ранее было показано, что эффект позднего цветения *FRI*-локуса полностью элиминируется 40-дневной холодной обработкой [Lee, Amasino, 1995]. Однако для некоторых экотипов северных широт эпигенетическое замолкание экспрессии *FLC*, с помощью накопления триметилированных гистонов H3 K27me3 в *FLC*-хроматине, идет более медленно и 40-дневная яровизация не приводит к стабильной репрессии *FLC*. Для них требуется более длительная, до 12 недель, яровизация [Coustham et al., 2012; Duncan et al., 2015].

В связи с этим мы увеличили время яровизации растений карельских популяций *A. thaliana* до 9 недель (63 дня) и яровизировали 14-дневные проростки на стадии розетки (рис. 1, 2). Некоторое ускорение начала цветения растений в популяциях бассейна Онежского озера при 40-дневной яровизации, по сравнению с 63-дневной, по-видимому, связано с тем, что более короткая яровизация проводилась на намоченных семенах. В этом случае время роста растений 14 дней до стадии розетки отсутствует. Результаты показали, что 9-недельная яровизация растений из популяций бассейна Онежского озера привела к более синхронному зацветанию всех растений в короткие сроки – 30–45 дней по сравнению с 40-дневной яровизацией (рис. 1). В популяциях бассейна Ладожского озера более длительная яровизация не привела к подобному эффекту: время начала цветения осталось почти на прежнем уровне (рис. 2). Возможно, это связано с тем, что популяции бассейна Ладожского озера находятся примерно на 200 км южнее популяций бассейна Онежского озера, в более мягком климате, и яровизация в течение 40 дней достаточно для растений этого региона, чтобы перевести ген *FLC* в репрессивное состояние.

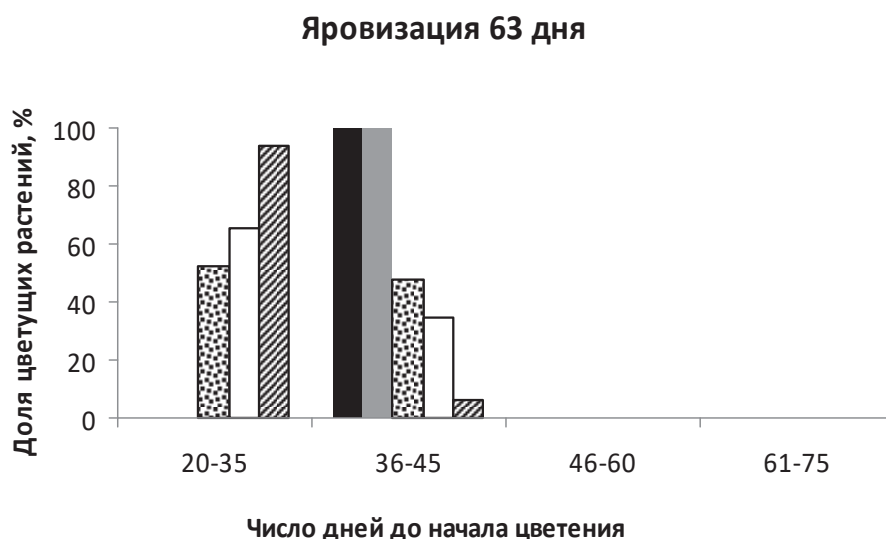
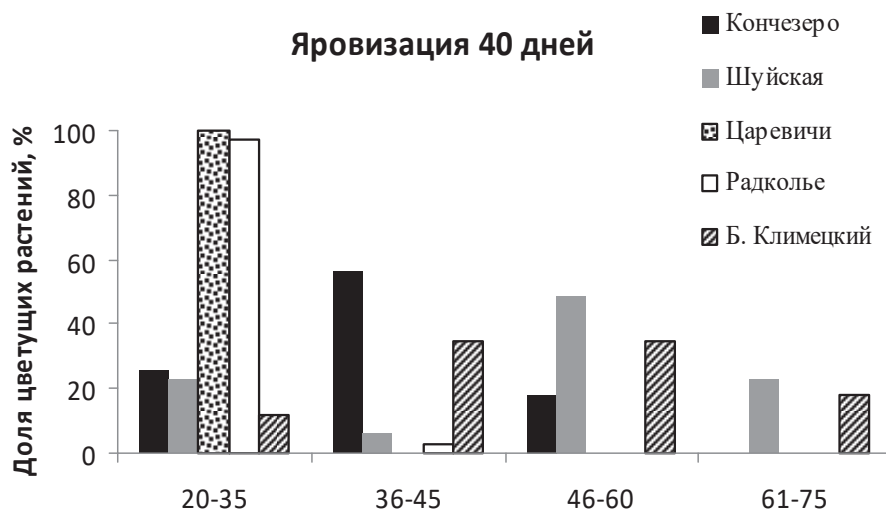


Рис. 1. Влияние длительности яровизации на время начала цветения растений *A. thaliana* карельских популяций бассейна Онежского озера.

40-дневная яровизация проводилась на намоченных семенах в чашках Петри, и начало цветения отсчитывалось с момента перемещения их в тепло.

63-дневная яровизация растений здесь и обе яровизации, представленные на рис. 2, осуществлялись на стадии розетки, поэтому число дней до начала цветения складывалось из 14 дней роста растений до яровизации и количества дней после их яровизации

Fig. 1. Impact of the vernalization duration on the timing of flowering onset of *A. thaliana* plants of the Karelian populations of the Lake Onega basin.

The 40-day vernalization was carried out on wet seeds in Petri dishes, and the timing of flowering onset was counted from the moment they were transferred to warmth.

The 63-day vernalization of plants here and both vernalization periods shown in Fig. 2, were carried out at the rosette stage, so the number of days before the flowering onset was the sum of 14 days of plant growth before vernalization and the number of days after their vernalization

#### Изучение степени покоя свежесозревших семян растений *A. thaliana* карельских популяций

В природных условиях озимые формы *A. thaliana* переживают зиму на стадии розет-

ки. В таком случае созревшие семена должны прорасти осенью, при прохладной температуре. Чтобы выявить адаптационные возможности растений, необходимо насколько возможно достоверное моделирование природных условий в лаборатории, в частности это относится

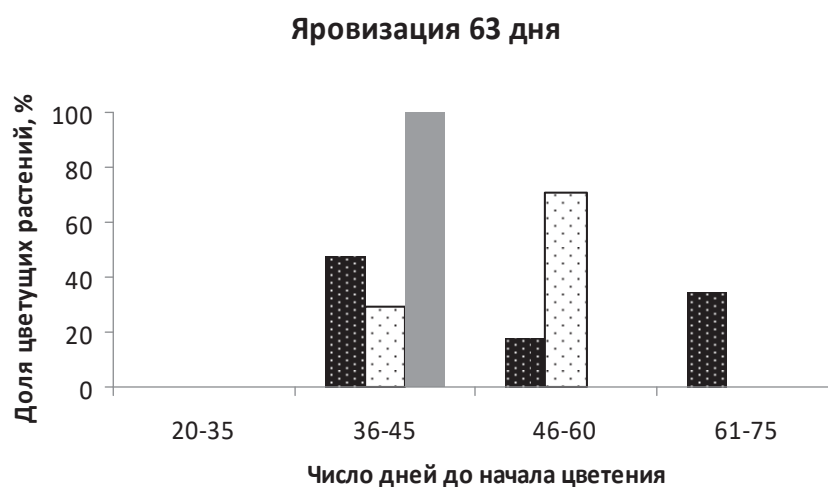
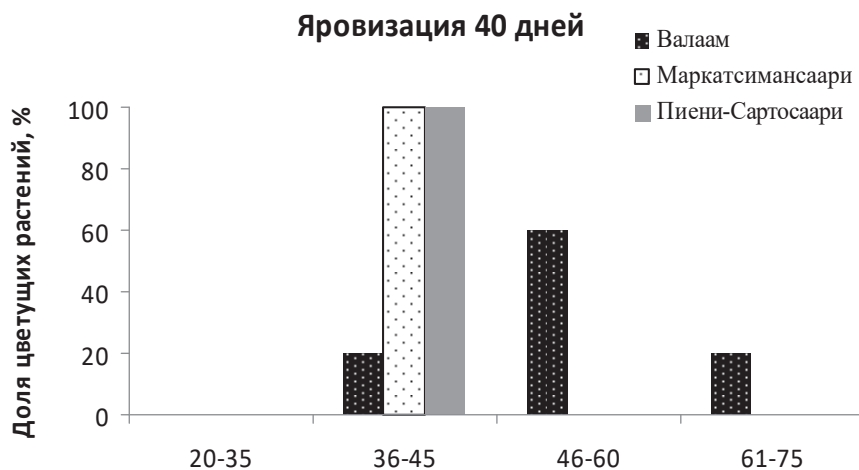


Рис. 2. Влияние длительности яровизации на время начала цветения растений *A. thaliana* карельских популяций бассейна Ладожского озера

Fig. 2. Impact of the vernalization duration on the timing of flowering onset of *A. thaliana* plants of the Karelian populations of the Lake Ladoga basin

к выбору температуры. Для получения сопоставимых результатов с данными других исследователей [Chiang et al., 2009; Chen et al., 2014; Chen, Penfield, 2018] прорастание семян оценивали при 22 °С (летняя температура) и 10 °С (среднесуточная температура осенью). Эта же температурная ситуация соответствует климатическим нормам тех районов Карелии, где находятся исследуемые популяции. Поскольку известно, что температурные условия созревания семян также влияют на их состояние покоя [Chen et al., 2014; Chen, Penfield, 2018], оценивали всхожесть семян от материнских растений, выращенных в лаборатории при 22 °С, и от растений, выросших в природной среде при среднесуточной температуре июня 2019 г. в пригороде Петрозаводска ~ 15 °С. Изучение степени покоя свежесозревших семян *A. thaliana* карельских популяций показало,

что у растений, выросших в лабораторных условиях (при 22 °С), в четырех популяциях всхожесть семян высокая как при 10, так и при 22 °С (в среднем около 78 %) (табл. 1), а в трех популяциях покой семян значительно выше при 22 °С (всхожесть от 0 до 9,5 %) по сравнению с 10 °С (всхожесть в среднем 82,8 %). Также ведет себя и ранозцветающая линия *Ler*, имеющая слабый аллель *flc* (всхожесть семян при 10 °С – 56 %, при 22 °С – 7 %). При этом как в первую, так и во вторую группу попали растения независимо от принадлежности их популяций к бассейну Онежского озера или более южного Ладожского. В популяции Кончезеро всхожесть семян оказалась низкой при обоих условиях проращивания, но немного выше при 10 °С. У растений, выросших в природной среде, покой семян выше при 22 °С (всхожесть от 1,5 до 10,5 %) по сравнению с 10 °С (всхо-

Таблица 1. Прорастание свежесозревших семян *A. thaliana* из карельских популяций (в %) при различных условиях выращивания

Table 1. Germination of freshly ripe seeds of *A. thaliana* from Karelian populations (in %) under different growing conditions

Популяция Population	10 °C	22 °C
Материнские растения выращены в лаборатории / Maternal plants grown in the laboratory (22 °C)		
Шуйская / Shuiskaya	84,5	70,0
Маркатсимансаари / Markatsimansaari	97,5	67,5
Радколье / Radcolier	72,5 } Ср.= 78,3	91,5 } Ср.= 77,5
Б. Климецкий / B. Klimetsky	58,5	81,0
Царевичи / Tsarevichi	76,5	1,5
Валаам / Valaam	95,0 } Ср.= 82,8	0 } Ср.= 3,7
Пиени-Сартосаари / Pieni-Sartosaari	77,0	9,5
Кончезеро / Konchezero	10,0	0,5
<i>Ler</i>	56,0	7,0
Материнские растения росли в природной среде / Maternal plants grew in natural environment (~ 15 °C)		
Шуйская / Shuiskaya	54,5	1,5
Косалма / Kosalma	37,5	10,5
Среднее / Srednee	46,0	6,0

Примечание. В полевых условиях в 2019 г. удалось собрать семена растений только из двух популяций.

Note. In 2019, it was possible to collect plant seeds only from two populations in the field conditions.

жесть в среднем 46,0 %) (табл. 1). Интересно, что по данным Chiang с соавт. [2009], когда растения линии *Ler* росли при 15 °C, соответствующих реальным климатическим условиям весны или осени, их свежесозревшие семена демонстрировали высокую степень покоя как при 22, так и при 10 °C. Результаты исследования позволяют предположить, что, по-видимому, растения, выросшие в прохладных условиях северного лета, формируют более сильный покой семян при 22 °C по сравнению с 10 °C, и это способствует их прорастанию осенью, а не летом, и цветению после окончания яровизации.

#### Анализ транскрипционной активности генов *FLC* и *VIN3*

Анализ экспрессии генов *FLC* и *VIN3*, контролирующих генетический механизм перехода к цветению и формирования периода покоя семян в карельских популяциях *A. thaliana*, показал, что результаты, полученные в настоящем исследовании на яровизированных розетках растений, оказались согласующимися с данными, полученными нами ранее, при яровизации намоченных семян [Федоренко и др., 2019]. То есть в обоих случаях карельские популяции проявили своеобразие (рис. 3). В частности, показан низкий уровень экспрессии *FLC* у неяровизированных растений, что отличается от данных других исследователей [Saleh et al.,

2008; Sheldon et al., 2008; Chiang et al., 2009; Neo, Sung, 2011]. Предполагается, что это может быть связано с чрезмерной активностью генов-регуляторов автономного пути, оказывающих супрессирующий эффект на экспрессию *FLC* – *FCA*, *FY*, *PCFS4*; *REF6*; *FLD*, *FVE* [Austin et al., 2004]. Далее, как видно на диаграмме (рис. 3), идет усиление транскрипционной активности гена на 10-й день яровизации в популяции Кончезеро, на 20-й день в популяции Царевичи и на 30-й день в популяции Шуйская, с последующим снижением ее к 40-му дню яровизации. Такой неожиданный подъем может объясняться генетическими особенностями поздноцветущих растений *A. thaliana* карельских популяций, а снижение экспрессии *FLC* к 40-му дню яровизации согласуется с результатами других исследователей [Saleh et al., 2008; Sheldon et al., 2008; Neo, Sung, 2011].

Транскрипционный уровень *VIN3*, низкий у неяровизированных растений, показал пик экспрессии на 10-й и 20-й день яровизации в популяциях Царевичи и Шуйская соответственно, что отличается от результатов других исследователей [Sung, Amasino, 2004; Jiang et al., 2008; Neo, Sung, 2011], и на 40-й день в популяции Кончезеро, согласно данным литературы. Следует отметить, однако, что хотя уровень экспрессии *FLC* и *VIN3* у неяровизированных растений карельских популяций низкий, тем не менее показаны различия по транскрипционной активности этих локусов

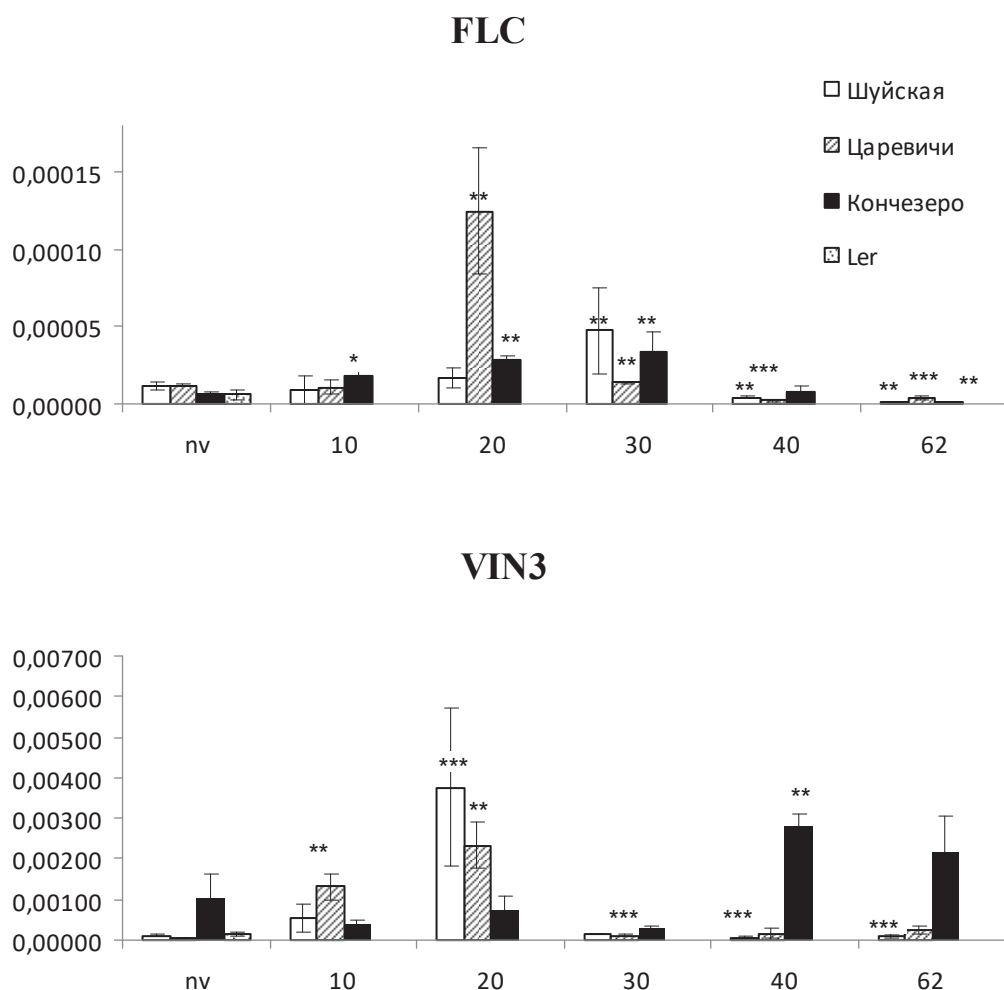


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии генов *FLC* и *VIN3* у растений *A. thaliana* карельских популяций на разных стадиях яровизации.

По оси X – продолжительность яровизации: nv – без яровизации; 10, 20 ... 62 – длительность яровизации в сутках. По оси Y – уровень транскриптов генов в относительных единицах. Значимость различий неярвизированных растений (nv) с ярвизированными: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$

Fig. 3. Relative level of expression of genes *FLC* and *VIN3* in *A. thaliana* plants of Karelian populations at different stages of vernalization.

X-axis – duration of vernalization: nv – without vernalization; 10, 20... 62 – duration of vernalization, days. Y-axis – level of gene transcripts, relative units. Significance of differences between non-vernalized plants (nv) and vernalized plants: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$

между растениями популяции Царевичи и растениями других популяций (Кончезеро, Шуйская) и *Ler* (табл. 2). Возможно, это связано с тем, что популяция Царевичи представлена как позднецветущими растениями, так и раннецветущими, а популяции Кончезеро и Шуйская – только позднецветущими растениями. Таким образом, особенности экспрессии генов *FLC* и *VIN3* в северных природных популяциях, выявленные нами ранее при яровизации намоченных семян, сохраняются при моделировании условий эксперимента, близких к природным, при яровизации растений *A. thaliana* на стадии розетки.

### Заключение

В результате проведенного исследования показано, что у *A. thaliana* карельских популяций, расположенных на северной периферии ареала вида, одним из механизмов адаптации растений к холодному климату является адаптивная плейотропия, выражающаяся в особенностях экспрессии генов *FLC* и *VIN3*, контролирующей потребность в яровизации различной продолжительности, сроки прорастания семян и время цветения растений. В частности, установлен низкий уровень транскриптов мРНК *FLC* у неярвизированных растений на стадии

Таблица 2. Достоверность различий уровня экспрессии *FLC* и *VIN3* у неярвизированных растений карельских популяций *A. thaliana*

Table 2. Significance of differences in the expression level of *FLC* and *VIN3* in non-vernalized plants among the populations of *A. thaliana* in Karelia

<i>VIN3</i> \ <i>FLC</i>	<i>Ler</i>	Кончезеро Konchezzero	Царевичи Tsarevichi	Шуйская Shuiskaya
<i>Ler</i>	–	нд	**	нд
Кончезеро Konchezzero	нд	–	**	*
Царевичи Tsarevichi	**	**	–	нд
Шуйская Shuiskaya	нд	нд	***	–

Примечание. Значимость различий: нд – недостоверно; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Note. Significance of differences: нд – unreliable; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

розетки с последующим усилением экспрессии на 10–30-й день ярвизации, что отличается от данных других исследователей [Saleh et al., 2008; Sheldon et al., 2008; Chiang et al., 2009; Neo, Sung, 2011]. Первоначально низкий уровень транскриптов мРНК *VIN3* у растений неожиданно повышается в процессе ярвизации на 20-й день в двух популяциях (Царевичи и Шуйская) в отличие от данных литературы [Sung, Amasino, 2004; Jiang et al., 2008; Neo, Sung, 2011]. Северные природные популяции *A. thaliana* представлены в основном позднецветущими формами растений. Однако, как показали исследования, для массового перехода к цветению растений из популяций северной периферии ареала вида в бассейне Онежского озера требуется более длительная (9-недельная) ярвизация по сравнению с растениями из более мягкого климата островов Ладожского озера (6 недель низких температур). Изучение степени покоя семян, влияющего на сроки их прорастания, показало, что в условиях холодного климата семена *A. thaliana* имеют более сильный покой при высокой летней температуре (22 °C) по сравнению с прохладной температурой осени (10 °C). Это обеспечивает их прорастание осенью и цветение весной, после окончания ярвизации.

Таким образом, выявленные особенности экспрессии генов *FLC* и *VIN3* *A. thaliana* карельских популяций, по-видимому, обеспечивают такие фенологические характеристики растений, которые делают возможным выживание всходов и максимальный репродуктивный успех, что фактически является примером адаптивной плейотропии, способствующей местной адаптации в условиях холодного климата. Полученные результаты частично отличаются от данных других исследователей [Sheldon et al., 2008; Chiang et al., 2009; Neo, Sung, 2011] и могут быть связаны с генетическими

особенностями поздноцветущих растений *A. thaliana* карельских популяций.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0077).

## Литература

- Иванов В. И., Касьяненко А. Г., Санина А. В., Тимофеева-Ресовская Е. А. Краткая характеристика *A. thaliana* и некоторые сведения о его культивировании, технике скрещиваний и учете изменчивости // Генетика. 1966. № 8. С. 115–120.
- Курбидаева А. С., Зарецкая М. В., Солтабаева А. Д., Новокрещенова М. Г., Куприянова Е. В., Федоренко О. М., Ежова Т. А. Генетические механизмы адаптации растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. к экстремальным условиям северной границы ареала // Генетика. 2013. Т. 49, № 8. С. 943–953. doi: 10.7868/S0016675813080092
- Федоренко О. М., Грицких М. В., Николаевская Т. С. Полиморфизм по времени начала цветения у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. на северной границе его ареала // Труды КарНЦ РАН. 2012. № 2. С. 139–146.
- Федоренко О. М., Топчиева Л. В., Зарецкая М. В., Лебедева О. Н. Динамика экспрессии *FLC* и *VIN3* в процессе ярвизации растений *Arabidopsis thaliana* северных природных популяций // Генетика. 2019. Т. 55, № 7. С. 811–818. doi: 10.1134/S0016675819060031
- Adrian J., Torti S., Turck F. From decision to commitment: the molecular memory of flowering // Mol. Plant. 2009. Vol. 2. P. 628–642.
- Andrés F., Coupland G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues // Nature Rev. Genet. 2012. Vol. 13. P. 627–639. doi: 10.1038/nrg3291
- Auge G. A., Blair L. K., Neville H., Donohue K. Maternal vernalization and vernalization-pathway genes influence progeny seed germination // New Phytologist. 2017. Vol. 216(2). P. 388–400. doi: 10.1111/nph.14520
- Ausin L., Alonso-Blanco C., Martinez-Zapater J. M. Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma-associated protein // Nat. Genet. 2004. Vol. 36. P. 162–166.



Chen M., MacGregor D. R., Dave A., Florance H., Moore K., Paszkiewicz K., Smirnov N., Graham I. A., Penfield S. Maternal temperature history activates *Flowering Locus T* in fruits to control progeny dormancy according to time of year // PNAS. 2014. Vol. 111, no. 52. P. 18787–18792. doi: 10.1073/pnas.1412274111

Chen M., Penfield S. Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time // Science. 2018. Vol. 360. P. 1014–1017. doi: 10.1126/science.aar7361

Chiang G. C. K., Barua D., Kramer E. M., Amasino R. M., Donohue K. Major flowering time gene, *Flowering Locus C*, regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana* // PNAS. 2009. Vol. 106, no. 28. P. 11661–1666. doi: 10.1073/pnas.090367106

Choi J., Hyun Y., Kang M. J., Yun H. I., Yun J.-Y., Lister C., Dean C., Amasino R. M., Noh B., Noh Y.-S., Choi Y. Resetting and regulation of Flowering Locus C expression during *Arabidopsis* reproductive development // Plant J. 2009. Vol. 57. P. 918–931. doi: 10.1111/j.1365-3113.2008.03776.x

Coustan V., Li P., Strange A., Lister C., Song J., Dean C. Quantitative modulation of polycomb silencing underlines natural variation in vernalization // Science. 2012. Vol. 337. P. 584–587. doi: 10.1126/science.1221881

Clarke J. H., Dean C. Mapping *FRI*, a locus controlling flowering time and vernalization response in *Arabidopsis thaliana* // Mol. Gen. Genet. 1994. Vol. 242. P. 81–89.

Duncan S., Holm S., Questa J., Irwin J., Grant A., Dean C. Seasonal shift in timing of vernalization as an adaptation to extreme winter // ELIFE. 2015. Vol. 23(4): e06620. doi: 10.7554/eLife.06620

English R., Pen I., Shea N., Uller T. The information value of non-genetic inheritance in plants and animals // PLoS ONE. 2015. Vol. 10(1): e0116996. doi: 10.1371/journal.pone.0116996

He Y., Michaels S. D., Amasino R. M. Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabidopsis* // Science. 2003. Vol. 302. P. 1751–1754. doi: 10.1126/science.1091109

Heo J. B., Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA // Science. 2011. Vol. 331. P. 76–79. doi: 10.1126/science.1197349

Jiang D., Wang Y., Wang Y., He Y. Repression of *FLOWERING LOCUS C* and *FLOWERING LOCUS T* by the *Arabidopsis* Polycomb Repressive Complex 2 components // PLoS ONE. 2008. Vol. 3(10): e3404. doi: 10.1371/journal.pone.0003404

Johanson U., West J., Lister C., Michaels S., Amasino R., Dean C. Molecular analysis of *FRIGIDA*, major

determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time // Science. 2000. Vol. 290. P. 344–347. doi: 10.1126/science.290.5490.344

Kim D. H., Sung S. Coordination of the vernalization response through a *VIN3* and *FLC* gene family regulatory network in *Arabidopsis* // Plant Cell. 2013. Vol. 25. P. 454–469. doi: 10.1105/tpc.112.104760

Lee I., Amasino R. M. Effect of vernalization, photoperiod and light quality on the flowering phenotype of *Arabidopsis* plants containing the *FRIGIDA* gene // Plant Physiol. 1995. Vol. 108. P. 157–162.

Lee J., Yun J. Y., Zhao W., Shen W.-H., Amasino R. M. A methyltransferase required for proper timing of the vernalization response in *Arabidopsis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2015. Vol. 112. P. 2269–2274. doi: 10.1073/pnas.1423585112

Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method // Methods. 2001. Vol. 25. P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262

Kuittinen H., Sillanpää M. J., Savolainen O. Genetic basis of adaptation: flowering time in *Arabidopsis thaliana* // Theor. Appl. Genet. 1997. Vol. 95. P. 573–583.

Marshall D. J., Uller T. When is a maternal effect adaptive? // Oikos. 2007. Vol. 116. P. 1957–1963. doi: 10.1111/j.2007.0030-1299.16203.x

Saleh A., Alvarez-Venegas R., Avramova Z. Dynamic and stable histone H3 methylation patterns at the *Arabidopsis FLC* and *AP1* loci // Gene. 2008. Vol. 423. P. 43–47. doi: 10.1016/j.gene.2008.06.022

Schmitz R. J., Amasino R. M. Vernalization: a model for investigating epigenetics and eukaryotic gene regulation in plants // Biochim. Biophys. Acta. 2007. No. 1769. P. 269–275. doi: 10.1016/j.bbaexp.2007.02.003

Sheldon C. C., Hills M. J., Lister C., Dean C., Dennis E. S., Peacock W. J. Resetting of *FLOWERING LOCUS C* expression after epigenetic repression by vernalization // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105. P. 2214–2219. doi: 10.1073/pnas.0711453105

Shindo C., Lister C., Crevillen P., Nordborg M., Dean C. Variation in the epigenetic silencing of *FLC* contributes to natural variation in *Arabidopsis* vernalization response // Genes & Development. 2006. Vol. 20. P. 3079–3083. doi: 10.1101/gad.405306

Sung S., Amasino R. M. Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD finger protein *VIN3* // Nature. 2004. Vol. 427. P. 159–164. doi: 10.1038/nature02195

Поступила в редакцию 24.03.2020

## References

Fedorenko O. M., Gritskikh M. V., Nikolaevskaya T. S. Polimorfizm po vremeni nachala tsveteniya u *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. na severnoi granitse ego areala [Polymorphism based on the onset of flowering in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. at the northern limit of the distribution range]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2012. No. 2. P. 139–146.

Fedorenko O. M., Topchieva L. V., Zaretskaya M. V., Lebedeva O. N. Changes in *FLC* and *VIN3* expres-

sion during vernalization of *Arabidopsis thaliana* plants from northern natural populations. *Russ. J. Genetics*. 2019. Vol. 55, no. 7. P. 865–818. doi: 10.1134/S1022795419060036

Ivanov V. I., Kas'yanenko A. G., Sanina A. V., Timofeeff-Ressovskaya E. A. Kratkaya kharakteristika *A. thaliana* i nekotorye svedeniya o ego kul'tivirovanii, tekhnike skreshchivanii i uchete izmenchivosti [A brief description of *A. thaliana* and some information about its cultivation,

crossbreeding technique, and accounting for variability]. *Genetika* [Genetics]. 1966. No. 8. P. 115–120.

Kurbidaeva A. S., Zaretskaya M. V., Soltabaeva A. D., Novokreshchenova M. G., Kupriyanova E. V., Fedorenko O. M., Ezhova T. A. Genetic base of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.: fitness of plants for extreme conditions in northern margins of species range. *Rus. J. Genetics*. 2013. No. 8. P. 819–826. doi: 10.1134/S1022795413080097

Adrian J., Torti S., Turck F. From decision to commitment: the molecular memory of flowering. *Mol. Plant*. 2009. Vol. 2. P. 628–642.

Andrés F., Coupland G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nature Rev. Genet*. 2012. Vol. 13. P. 627–639. doi: 10.1038/nrg3291

Auge G. A., Blair L. K., Neville H., Donohue K. Maternal vernalization and vernalization-pathway genes influence progeny seed germination. *New Phytologist*. 2017. Vol. 216(2). P. 388–400. doi: 10.1111/nph.14520

Ausin L., Alonso-Blanco C., Martínez-Zapater J. M. Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma-associated protein. *Nat. Genet*. 2004. Vol. 36. P. 162–166.

Chen M., MacGregor D. R., Dave A., Florance H., Moore K., Paszkiewicz K., Smirnov N., Graham I. A., Penfield S. Maternal temperature history activates *Flowering Locus T* in fruits to control progeny dormancy according to time of year. *PNAS*. 2014. Vol. 111, no. 52. P. 18787–18792. doi: 10.1073/pnas.1412274111

Chen M., Penfield S. Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time. *Science*. 2018. Vol. 360. P. 1014–1017. doi: 10.1126/science.aar7361

Chiang G. C. K., Barua D., Kramer E. M., Amasino R. M., Donohue K. Major flowering time gene, *Flowering Locus C*, regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS*. 2009. Vol. 106, no. 28. P. 11661–11666. doi: 10.1073/pnas.090367106

Choi J., Hyun Y., Kang M. J., Yun H. I., Yun J.-Y., Lister C., Dean C., Amasino R. M., Noh B., Noh Y.-S., Choi Y. Resetting and regulation of Flowering Locus C expression during *Arabidopsis* reproductive development. *Plant J*. 2009. Vol. 57. P. 918–931. doi: 10.1111/j.1365-3113.2008.03776.x

Coustham V., Li P., Strange A., Lister C., Song J., Dean C. Quantitative modulation of polycomb silencing underlines natural variation in vernalization. *Science*. 2012. Vol. 337. P. 584–587. doi: 10.1126/science.1221881

Clarke J. H., Dean C. Mapping *FRI*, a locus controlling flowering time and vernalization response in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet*. 1994. Vol. 242. P. 81–89.

Duncan S., Holm S., Questa J., Irwin J., Grant A., Dean C. Seasonal shift in timing of vernalization as an adaptation to extreme winter. *ELIFE*. 2015. Vol. 23(4): e06620. doi: 10.7554/eLife.06620

English R., Pen I., Shea N., Uller T. The information value of non-genetic inheritance in plants and animals. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10(1): e0116996. doi: 10.1371/journal.pone.0116996

He Y., Michaels S. D., Amasino R. M. Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabi-*

*dopsis*. *Science*. 2003. Vol. 302. P. 1751–1754. doi: 10.1126/science.1091109

Heo J. B., Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science*. 2011. Vol. 331. P. 76–79. doi: 10.1126/science.1197349

Jiang D., Wang Y., Wang Y., He Y. Repression of *FLOWERING LOCUS C* and *FLOWERING LOCUS T* by the *Arabidopsis* Polycomb Repressive Complex 2 components. *PLoS ONE*. 2008. Vol. 3(10): e3404. doi: 10.1371/journal.pone.0003404

Johanson U., West J., Lister C., Michaels S., Amasino R., Dean C. Molecular analysis of *FRIGIDA*, major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science*. 2000. Vol. 290. P. 344–347. doi: 10.1126/science.290.5490.344

Kim D. H., Sung S. Coordination of the vernalization response through a *VIN3* and *FLC* gene family regulatory network in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2013. Vol. 25. P. 454–469. doi: 10.1105/tpc.112.104760

Lee I., Amasino R. M. Effect of vernalization, photoperiod and light quality on the flowering phenotype of *Arabidopsis* plants containing the *FRIGIDA* gene. *Plant Physiol*. 1995. Vol. 108. P. 157–162.

Lee J., Yun J. Y., Zhao W., Shen W.-H., Amasino R. M. A methyltransferase required for proper timing of the vernalization response in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. Vol. 112. P. 2269–2274. doi: 10.1073/pnas.1423585112

Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. *Methods*. 2001. Vol. 25. P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262

Kuittinen H., Sillanpää M. J., Savolainen O. Genetic basis of adaptation: flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genet*. 1997. Vol. 95. P. 573–583.

Marshall D. J., Uller T. When is a maternal effect adaptive? *Oikos*. 2007. Vol. 116. P. 1957–1963. doi: 10.1111/j.2007.0030-1299.16203.x

Saleh A., Alvarez-Venegas R., Avramova Z. Dynamic and stable histone H3 methylation patterns at the *Arabidopsis FLC* and *AP1* loci. *Gene*. 2008. Vol. 423. P. 43–47. doi: 10.1016/j.gene.2008.06.022

Schmitz R. J., Amasino R. M. Vernalization: a model for investigating epigenetics and eukaryotic gene regulation in plants. *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. No. 1769. P. 269–275. doi: 10.1016/j.bbaexp.2007.02.003

Sheldon C. C., Hills M. J., Lister C., Dean C., Dennis E. S., Peacock W. J. Resetting of *FLOWERING LOCUS C* expression after epigenetic repression by vernalization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. Vol. 105. P. 2214–2219. doi: 10.1073/pnas.0711453105

Shindo C., Lister C., Crevillen P., Nordborg M., Dean C. Variation in the epigenetic silencing of *FLC* contributes to natural variation in *Arabidopsis* vernalization response. *Genes & Development*. 2006. Vol. 20. P. 3079–3083. doi: 10.1101/gad.405306

Sung S., Amasino R. M. Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD finger protein *VIN3*. *Nature*. 2004. Vol. 427. P. 159–164. doi: 10.1038/nature02195

Received March 24, 2020

## **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**

### **Зарецкая Марина 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: genmg@mail.ru  
тел.: (8142) 573107

### **Федоренко Ольга Михайловна**

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: fedorenko\_om@mail.ru  
тел.: (8142) 573107

### **Лебедева Ольга Николаевна**

заместитель директора по научной работе, руководитель  
лаб. генетики, к. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: lebedeva@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 573107

## **CONTRIBUTORS:**

### **Zaretskaya, Marina**

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

### **Fedorenko, Olga**

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

### **Lebedeva, Olga**

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

УДК 581.1

## ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА ПРОЦЕСС ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ ПШЕНИЦЫ

Е. С. Холопцева, А. А. Игнатенко, **В. В. Таланова**, А. Ф. Титов

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

Исследовали влияние метилжасмоната (МЖ) на морозоустойчивость, фотосинтетическую и дыхательную активность, водный обмен растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) подвергнутых действию низкой закаливающей температуры (4 °С). Установлено, что в условиях закаливания под влиянием МЖ наблюдается больший прирост морозоустойчивости растений, чем без него, усиливается накопление сухой биомассы побегов и корней. Кроме того, предобработка проростков МЖ способствовала поддержанию более высокой интенсивности нетто-фотосинтеза и транспирации, а также увеличивала устьичную проводимость в период закаливания. В присутствии МЖ отмечено повышение интенсивности темнового дыхания, что приводило к росту величины соотношения дыхания и истинного фотосинтеза (Rd/Pg). На основании полученных результатов сделан вывод о положительном влиянии МЖ на процесс холодной адаптации растений пшеницы, которое обусловлено его регулирующим воздействием на основные физиологические процессы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; метилжасмонат; морозоустойчивость; фотосинтез; устьичная проводимость; транспирация; рост.

**E. S. Kholoptseva, A. A. Ignatenko, **V. V. Talanova**, A. F. Titov. METHYL JASMONATE EFFECT ON THE PROCESS OF COLD ADAPTATION IN WHEAT**

The effect of methyl jasmonate (MeJA) on frost resistance, photosynthetic and respiratory activity, and water metabolism in wheat plants (*Triticum aestivum* L.) exposed to a low hardening temperature (4 °C) was studied. It was found that under hardening conditions, treatment with MeJA led to a greater increase in the plants' frost resistance than without it, and also augmented dry shoot and root biomass gain. In addition, pretreatment with MeJA helped the seedlings maintain a higher rate of net photosynthesis and transpiration, and increased stomatal conductance during the hardening period. Also, the rate of dark respiration was observed to rise in the presence of MeJA, leading an increase in the ratio of respiration to gross photosynthesis (Rd/Pg). Based on the obtained results, it was concluded that MeJA had a positive effect on the cold adaptation of wheat plants, which is due to its regulatory effect on the main physiological processes.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; methyl jasmonate; frost resistance; photosynthesis; stomatal conductance; transpiration; growth.

## Введение

Жасмоновую кислоту (ЖАК) и ее производные, в том числе метиловый эфир ЖАК (МЖ), относят к физиологически активным соединениям, которые обнаружены практически во всех органах растений и участвуют в процессах их роста и развития [Kazan, 2015; Ahmad et al., 2016; Huang et al., 2017]. Наряду с этим жасмонаты являются одним из звеньев защитной системы растений, обеспечивающей поддержание их жизнедеятельности в неблагоприятных условиях. Например, хорошо известно, что они играют ключевую роль в повышении устойчивости растений к патогенам и вредителям, вызывающим механические повреждения их тканей [Васюкова и др., 2009; Ahmad et al., 2016]. Показано также, что экзогенная ЖАК или ее производные способны повышать устойчивость растений не только к биотическим, но и к абиотическим стресс-факторам [Kazan, 2015; Shahzad et al., 2015; Huang et al., 2017]. В частности, имеются данные о позитивном влиянии экзогенных жасмонатов на устойчивость растений к патогену *Phytophthora infestans* [Максимов и др., 2011], солевому стрессу [Ефимова и др., 2019], засухе [Ma et al., 2014], UV-B облучению [Quan et al., 2018] и тяжелым металлам [Sharma et al., 2013]. При этом установлено, что защитное действие этих веществ связано со стабилизацией основных физиологических процессов, включая рост, фотосинтез, дыхание, водный обмен и др.

Что касается участия жасмонатов в реакции растений на действие низких температур, то таких данных в литературе относительно немного. Показано, в частности, что под влиянием ЖАК и ее производных снижается негативный эффект холодового стресса на растения арабидопсиса [Hu et al., 2013], гороха [Shahzad et al., 2015], кукурузы [Battal et al., 2008], огурца [Li et al., 2012] и перца [Moradmand et al., 2015], благодаря их участию в поддержании основных физиологических процессов, гормонального баланса, сохранении нативной ультраструктуры клеток, активизации работы антиоксидантной системы и др. При этом стоит подчеркнуть, что положительная роль жасмонатов в холодоустойчивости растений продемонстрирована главным образом на плодах [Aghdam, Vodbodak, 2013]. Тогда как их участие в процессе низкотемпературной адаптации интактных растений практически не изучено. Более того, единичны сведения о регуляции ЖАК и ее производными важнейших физиологических процессов – фотосинтеза, дыхания и роста, играющих ключевую роль в приспособлении

растений к неблагоприятным температурным условиям [Moradmand et al., 2015; Shahzad et al., 2015].

Учитывая вышесказанное, целью данного исследования явилось изучение способности экзогенного МЖ создавать через регуляцию основных физиологических процессов более благоприятные условия для холодовой адаптации растений пшеницы.

## Материалы и методы

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на модифицированном питательном растворе Кнопа с добавлением микроэлементов при факторостатных условиях: температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности ФАР 180 мкмоль/(м<sup>2</sup> с) и фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста проростки опытного варианта помещали на раствор МЖ (1 мкМ) и выдерживали на нем в течение 1 сут при 22 °С. Затем растения помещали на 7 сут в холодную камеру (4 °С) на питательный раствор с МЖ или без него. Контрольными считали растения недельного возраста, которые не подвергались обработке МЖ и находились в течение всего эксперимента при 22 °С. Выбор концентрации МЖ (1 мкМ) основан на результатах предварительных экспериментов [Игнатенко, 2019].

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

Накопление сырой и сухой биомассы проростков анализировали в соответствии с общепринятой методикой [Рогожин, Рогожина, 2013].

Показатели CO<sub>2</sub>- и водного обмена анализировали с помощью портативной системы для исследования CO<sub>2</sub>-газообмена и водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия), соединенной с листовой камерой при контролируемых условиях освещенности, температуры и влажности воздуха. Измерения интенсивности нетто-фотосинтеза, устьичной проводимости и транспи-

рации проводили на свету. Темновое дыхание листьев определяли по скорости  $\text{CO}_2$ -газообмена после 30-минутного выдерживания растений в темноте. Рассчитывали отношение темнового дыхания к истинному фотосинтезу ( $R_d/P_g$ ). Величина истинного фотосинтеза определялась как сумма интенсивности видимого фотосинтеза ( $P_n$ ) и темнового дыхания ( $R_d$ ) [Рахманкулова, 2002].

Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных показателей от 5 до 10 растений. Весь опыт повторяли трижды. Статистическую значимость различий между средними оценивали на основании  $t$ -критерия Стьюдента. В статье обсуждаются величины, статистически различающиеся при  $p < 0,05$ .

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

## Результаты

Анализ морозоустойчивости растений пшеницы показал, что под влиянием температуры  $4^\circ\text{C}$  она постепенно увеличивалась и к концу опыта (7 сут) превышала исходный уровень примерно в 1,5 раза (рис. 1). Что касается проростков, обработанных МЖ, их морозоустойчивость повышалась еще до начала низкотемпературного воздействия (при  $22^\circ\text{C}$ ), а в услови-

ях действия температуры  $4^\circ\text{C}$  она была выше, чем в варианте закаливания без МЖ (рис. 1).

Накопление сырой (табл. 1) и сухой (табл. 2) биомассы побегов и корней растений пшеницы при действии температуры  $4^\circ\text{C}$  первоначально тормозилось, но в дальнейшем (3–7 сут) возобновлялось. Под влиянием МЖ накопление сырой биомассы побегов и корней пшеницы в условиях холодного закаливания усиливалось (табл. 1). В частности, на 7-е сутки опыта сырая биомасса корней у необработанных проростков относительно исходного уровня повышалась на 15 %, тогда как в варианте с МЖ – на 24 % (табл. 1).

Вместе с тем у проростков, обработанных МЖ, в условиях действия температуры  $4^\circ\text{C}$  несколько увеличивалось накопление сухой биомассы побегов и корней (табл. 2). Так, например, на 7-е сутки опыта сухая биомасса побегов и корней у необработанных растений относительно исходного уровня увеличилась на 42 и 29 % соответственно, а в присутствии МЖ – на 47 % и у побегов, и у корней пшеницы (табл. 2).

Оценка интенсивности фотосинтеза показала, что уже через 1 сутки от начала действия температуры  $4^\circ\text{C}$  происходит ее значительное (примерно в 2 раза относительно контроля) снижение (рис. 2). Причем уменьшение данного показателя отмечено в обоих вариантах (с МЖ и без МЖ). С увеличением продолжительности низкотемпературного воздействия интенсивность нетто-фотосинтеза у необрабо-

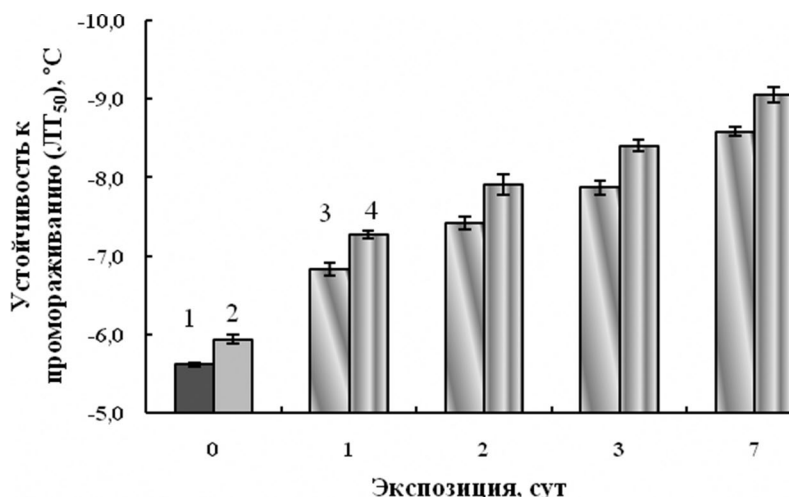


Рис. 1. Устойчивость клеток листа пшеницы к промораживанию при действии МЖ (1 мкМ) и температуры  $4^\circ\text{C}$ .

Здесь и на рис. 2–4: 1 –  $22^\circ\text{C}$ , 2 –  $22^\circ\text{C} + \text{МЖ}$ , 3 –  $4^\circ\text{C}$ , 4 –  $4^\circ\text{C} + \text{МЖ}$

Fig. 1. Tolerance of wheat leaf cells to freezing under the action of MeJA (1  $\mu\text{M}$ ) and a temperature of  $4^\circ\text{C}$ .

Here and in Fig. 2–4: 1 –  $22^\circ\text{C}$ , 2 –  $22^\circ\text{C} + \text{MeJA}$ , 3 –  $4^\circ\text{C}$ , 4 –  $4^\circ\text{C} + \text{MeJA}$

Таблица 1. Сырая биомасса побегов и корней пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Table 1. The fresh biomass of wheat shoots and roots under the action of MeJA (1 μM) and a temperature of 4 °C

Экспозиция, сут Exposition, days	Сырая биомасса побегов, мг Fresh biomass of shoots, mg		Сырая биомасса корней, мг Fresh biomass of roots, mg	
	4 °C	4 °C+МЖ 4 °C+MeJA	4 °C	4 °C+МЖ 4 °C+MeJA
0	140,6 ± 3,3	149,6 ± 2,5*	51,7 ± 2,0	52,7 ± 1,5
1	144,9 ± 3,2	152,9 ± 4,4	53,8 ± 2,0	55,7 ± 2,7
2	145,9 ± 3,0	161,9 ± 4,8*	55,3 ± 2,0	58,1 ± 4,4
3	152,0 ± 3,0	164,3 ± 4,9*	57,9 ± 2,0	60,2 ± 2,5
7	164,4 ± 3,6	176,9 ± 5,3	59,5 ± 1,9	65,5 ± 1,8*

Примечание. Здесь и в табл. 2: \* – отличия между вариантами 4 °С и 4 °С+МЖ статистически значимы при p < 0,05.

Note. Here and in Tab. 2: \* – differences between options 4 °C and 4 °C+MJ are statistically significant at p < 0,05.

Таблица 2. Сухая биомасса побегов и корней пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Table 2. The dry biomass of wheat shoots and roots under the action of MeJA (1 μM) and a temperature of 4 °C

Экспозиция, сут Exposition, days	Сухая биомасса побегов, мг Dry biomass of shoots, mg		Сухая биомасса корня, мг Dry biomass of roots, mg	
	4 °C	4 °C+МЖ 4 °C+MeJA	4 °C	4 °C+МЖ 4 °C+MeJA
0	14,0 ± 0,4	14,7 ± 0,3	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,2
1	15,0 ± 0,4	15,9 ± 0,5	5,0 ± 0,3	5,3 ± 0,3
2	15,6 ± 0,4	16,5 ± 0,1	5,2 ± 0,2	5,8 ± 0,4
3	16,3 ± 0,6	17,9 ± 0,5*	5,8 ± 0,4	6,7 ± 0,4*
7	19,9 ± 0,5	21,6 ± 0,5*	6,3 ± 0,1	7,2 ± 0,4*

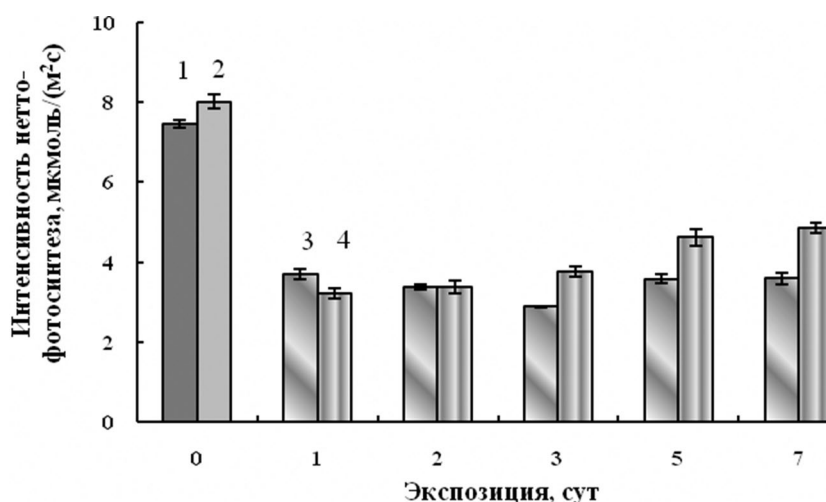


Рис. 2. Интенсивность нетто-фотосинтеза листьев пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Fig. 2. The visible photosynthesis intensity of wheat leaves under the action of MeJA (1 μM) and a temperature of 4 °C

танных проростков практически не изменялась, тогда как под влиянием МЖ начиная с 3-х суток от начала охлаждения наблюдалось ее некоторое повышение (рис. 2).

Исследование интенсивности темнового дыхания показало, что оно резко (более чем в 2 раза относительно контроля) снижается уже через 1 сутки действия температуры 4 °С (рис. 3). С увеличением продолжительности низкотем-

пературного воздействия темновое дыхание постепенно увеличивалось, однако на 7-е сутки опыта так и не достигало контрольных значений. Под влиянием МЖ его интенсивность поддерживалась на более высоком уровне, чем у необработанных проростков, в течение всего периода действия температуры 4 °С (рис. 3).

Анализ изменения соотношения темнового дыхания листьев (Rd) к истинному фотосин-

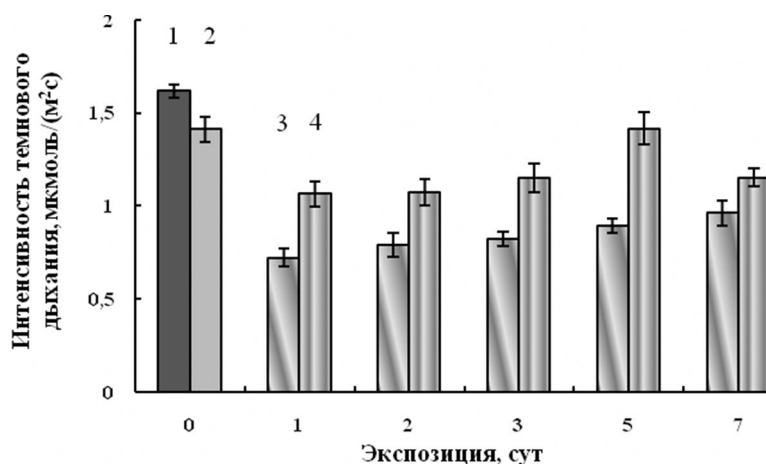


Рис. 3. Интенсивность темнового дыхания листьев пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Fig. 3. The dark respiration intensity in the wheat leaves under the action of MeJA (1  $\mu$ M) and a temperature of 4 °C

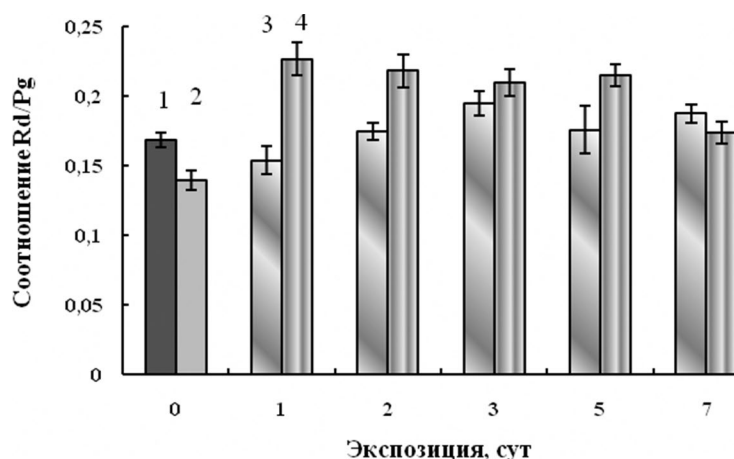


Рис. 4. Соотношение темнового дыхания и истинного фотосинтеза (Rd/Pg) у растений пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Fig. 4. The ratio of dark respiration and gross photosynthesis (Rd/Pg) in wheat plants under the action of MeJA (1  $\mu$ M) and a temperature of 4 °C

тезу (Pg) показал, что в условиях холодого закаливания величина Rd/Pg несколько увеличивалась на 3-и сутки опыта, а затем (5–7 сут) оставалась на достигнутом уровне (рис. 4). Под влиянием МЖ величина Rd/Pg значительно повышалась (примерно на 30 % по отношению к контролю) в первые сутки действия температуры 4 °С, существенно превышая при этом таковую у необработанных растений (рис. 4). В дальнейшем этот показатель поддерживался на достигнутом уровне, снижаясь к концу опыта (7 сут) до контрольных значений.

Исследования показали, что устьичная проводимость (рис. 5) и интенсивность транспирации (рис. 6) резко снижались уже через сутки от начала действия на проростки пшеницы тем-

пературы 4 °С. С увеличением продолжительности закаливания эти показатели практически не изменялись и на 7-е сутки опыта были ниже исходного уровня на 45 % (устьичная проводимость) и 75 % (интенсивность транспирации).

У растений, обработанных МЖ, проводимость устьиц в течение всего эксперимента была выше (в среднем более чем на 30 %) по сравнению с вариантом, в котором растения не подвергались подобной обработке (рис. 5). Интенсивность транспирации в присутствии МЖ с увеличением продолжительности действия температуры 4 °С постепенно снижалась, но, так же как и в случае с устьичной проводимостью, на протяжении всего опыта превышала таковую у необработанных растений (рис. 6).



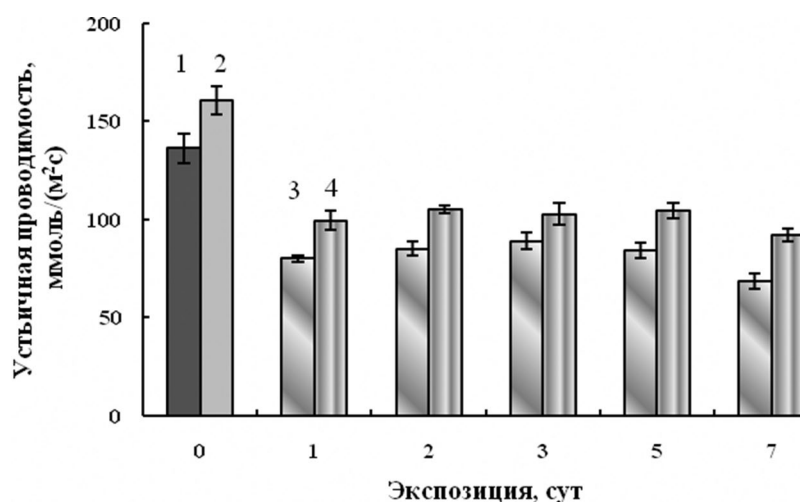


Рис. 5. Устьичная проводимость листьев пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Fig. 5. The stomatal conductance of wheat leaves under the action of MeJA (1  $\mu$ M) and a temperature of 4 °C

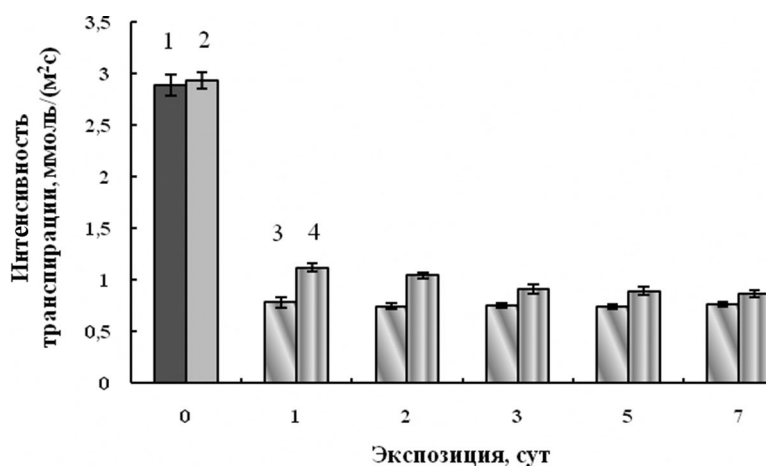


Рис. 6. Интенсивность транспирации листьев пшеницы при действии МЖ (1 мкМ) и температуры 4 °С

Fig. 6. The transpiration intensity of wheat leaves under the action of MeJA (1  $\mu$ M) and a temperature of 4 °C

## Обсуждение

К настоящему времени появилось достаточно много данных, свидетельствующих о снижении под влиянием жасмонатов негативного действия низких температур на теплолюбивые растения [Battal et al., 2008; Sayyari et al., 2011; Li et al., 2012]. В отличие от этого сведения о роли ЖАК и ее производных в механизмах низкотемпературной адаптации холодостойких растений единичны [Hu et al., 2013; Shahzad et al., 2015]. Результаты нашего исследования указывают на то, что МЖ влияет на морозоустойчивость растений озимой пшеницы. У проростков, обработанных МЖ, в течение всего периода закаливания зафиксирована бо-

лее высокая морозоустойчивость по сравнению с растениями, которые не подвергались подобной обработке.

Как известно, интегральной характеристикой физиологического состояния растений и тех условий, в которых они находятся, является их рост. В ответ на действие низких температур ростовые процессы, как правило, тормозятся [Чиркова, 2002]. Более того, в случае холодостойких растений замедление роста является необходимым условием для их успешной адаптации к низким температурам, поскольку позволяет накапливать резервные соединения, выполняющие различные функции, в том числе криопротекторную [Трунова, 2007; Theocharis et al., 2012]. В нашем исследовании

действие низкой температуры 4 °C первоначально вызывало торможение ростовых процессов у проростков озимой пшеницы. Однако к концу опыта их рост возобновлялся, а МЖ в условиях закаливания оказывал ростстимулирующий эффект: под его влиянием обнаружено усиление накопления сухой биомассы. Отметим, что положительное влияние жасмонатов на ростовые процессы растений ранее отмечали и другие исследователи [Li et al., 2012].

Указанная стимуляция ростовых процессов, по всей видимости, была обусловлена изменением под влиянием МЖ интенсивности нетто-фотосинтеза. Так, у проростков, которые предварительно не были обработаны МЖ, при действии низкой температуры наблюдалось значительное снижение фотосинтетической активности, которая оставалась ниже контрольных значений в течение всего опыта. Резкое уменьшение интенсивности фотосинтеза у растений в низкотемпературных условиях могло быть связано со снижением активности ферментов цикла Кальвина и/или ингибированием флоэмного транспорта [Попов и др., 2019]. У проростков, обработанных МЖ, при температуре 4 °C также зафиксировано снижение интенсивности нетто-фотосинтеза, однако необходимо подчеркнуть, что в течение всего периода закаливания этот показатель поддерживался на более высоком уровне, чем в варианте закаливания без МЖ. Более того, в отличие от варианта, где растения не подвергались обработке МЖ, в варианте с МЖ к концу опыта фотосинтетическая активность даже несколько возросла.

Повышение интенсивности фотосинтеза в условиях действия низкой температуры, по-видимому, было связано с участием МЖ в регуляции устьичной проводимости и интенсивности транспирации листьев пшеницы. Так, под влиянием температуры 4 °C эти показатели у контрольных (без МЖ) и у опытных (с МЖ) растений значительно снижались, что, вероятно, было обусловлено быстрым закрытием устьиц. При этом, как показывают исследования, холодостойкие растения могут поддерживать градиент водного потенциала и при закрытых устьицах, а уменьшение устьичной проводимости и транспирации направлено на то, чтобы избежать обезвоживания клеток и тканей в условиях гипотермии [Reynolds et al., 2005]. Причиной снижения этих показателей могло стать усиленное накопление под влиянием холода АБК, которое отмечено в целом ряде работ [Smoleńska-Sym et al., 1995; Шакирова и др., 2005; Gusta et al., 2005; Титов, Таланова, 2009]. В этом случае, выступая в качестве анти-

транспиранта, АБК вызывает закрытие устьиц, защищая тем самым растения от потери воды. Что касается варианта, в котором растения пшеницы находились на растворе с добавлением МЖ, устьичная проводимость и интенсивность транспирации при действии низкой температуры также снижались, но при этом на протяжении всего опыта превышали аналогичные показатели в контроле (закаливание без МЖ). Полученные данные коррелируют с результатами других авторов, которые показали, что жасмонаты влияют на работу устьичного аппарата посредством регуляции содержания активных форм кислорода (АФК), ионов кальция и оксида азота [Munemasa et al., 2007, 2011; Ma et al., 2014; Ollas, Dodd, 2016; Quan et al., 2018; Yastreb et al., 2018]. При этом действие ЖАК и ее производных на устьица может быть сходным с АБК и приводить к их закрытию [Munemasa et al., 2007, 2011] или, напротив, вызывать повышение устьичной проводимости [Quan et al., 2018]. Это, в свою очередь, может зависеть от вида и состояния растения, способа и длительности обработки жасмонатами, их концентрации, а также от типа воздействующего стресс-фактора.

Обнаруженное в ходе наших исследований повышение устьичной проводимости и интенсивности транспирации у растений пшеницы под влиянием МЖ при действии низкой температуры также, возможно, было связано с увеличением содержания осморегулирующих веществ, в частности, свободного пролина. Так, нами ранее показано, что обработка озимой пшеницы МЖ в условиях низкотемпературного закаливания вызывала повышение уровня пролина и экспрессии генов *P5CS* и *P5CR*, кодирующих ферменты его синтеза [Игнатенко, 2019]. Накопление пролина в клетках растений приводило к восстановлению осмотического потенциала и в конечном итоге способствовало увеличению оводненности клеток, в том числе замыкающих клеток устьиц.

Отметим также, что повышение фотосинтетической активности в присутствии МЖ в условиях действия холода, помимо его участия в регуляции водного обмена пшеницы, могло быть обусловлено влиянием МЖ на фотосинтетический аппарат растений. Об этом, в частности, свидетельствуют результаты исследований, в которых показано, что жасмонаты способствуют поддержанию более высокого уровня фотосинтетических пигментов у растений, испытывающих действие низкой температуры [Moradmand et al., 2015], засоления [Ефимова и др., 2019] или ионов меди [Roopam et al., 2013]. Исходя из этого можно предполо-

жить, что в наших опытах МЖ наряду с повышением устьичной проводимости оказывал также положительное влияние на фотосинтетический аппарат пшеницы, способствуя тем самым усилению накопления сухой биомассы.

Ростстимулирующий эффект МЖ на проростки пшеницы при действии низкой температуры мог быть также связан с его участием в регуляции дыхания. Так, в частности, у растений пшеницы, не подвергавшихся обработке МЖ, в ответ на холодовое воздействие отмечено значительное снижение интенсивности темного дыхания, которое с увеличением продолжительности закаливания несколько повышалось. Последнее, в свою очередь, очевидно, послужило причиной роста соотношения  $Rd/Pg$ , являющегося показателем сбалансированности основных физиологических процессов в растениях [Рахманкулова, 2002]. Как показывают исследования, в оптимальных условиях величина  $Rd/Pg$  довольно постоянная [Головки, 1999]. Но при изменении внешних условий наблюдается изменение  $Rd/Pg$ , как правило, в сторону его увеличения в результате повышения доли дыхательных затрат на процесс адаптации и/или снижения интенсивности фотосинтеза [Рахманкулова, 2002; Икконен и др., 2018]. При этом растения с высоким адаптивным потенциалом, к которым относится озимая пшеница, способны поддерживать относительное постоянство величины  $Rd/Pg$  [Головки, 1999; Икконен и др., 2018]. В нашем эксперименте стабилизация данного показателя у растений пшеницы отмечена в конце опыта (5–7 сут).

Что касается растений, обработанных МЖ, то в их листьях обнаружен более высокий уровень темного дыхания, интенсивность которого с увеличением продолжительности низкотемпературного закаливания возрастала. Усиление дыхания под влиянием МЖ, по всей видимости, было направлено на увеличение количества интермедиатов и энергии, необходимых для более успешной адаптации растений в условиях действия холода. Одновременно с повышением интенсивности темного дыхания значительно (особенно в первые сутки действия холода) увеличивалось соотношение  $Rd/Pg$ . Последнее, очевидно, было обусловлено прежде всего снижением интенсивности фотосинтеза в ответ на действие низкой температуры. Кроме того, увеличение интенсивности темного дыхания под влиянием МЖ могло быть следствием активизации альтернативной оксидазы (АО), осуществляющей в том числе и антиоксидантную функцию. Так, например, ранее было показано, что обработка МЖ плодов перца [Fung et al., 2004] и томата [Fung

et al., 2006] увеличивает содержание мРНК гена АОХ, кодирующего АО, и это способствует снижению низкотемпературных повреждений. Как известно, действие низких температур на растения вызывает усиление генерации в их клетках АФК [Колупаев и др., 2018]. Активизация альтернативной оксидазы, в свою очередь, способствует рассеиванию неиспользуемой в обмене веществ энергии и ведет к уменьшению уровня АФК в клетках растений. Не исключено, что в нашем случае обработка растений пшеницы МЖ содействовала усилению активности альтернативной оксидазы, что выразилось в повышении интенсивности темного дыхания и, соответственно, величины  $Rd/Pg$ . К концу опыта (7 сут) интенсивность темного дыхания в листьях растений пшеницы, обработанных МЖ, снижалась, а интенсивность фотосинтеза, напротив, увеличивалась. Преобладание ассимиляции  $CO_2$  над процессами дыхания и расходования энергетически емких соединений привело к уменьшению дыхательной составляющей в процессе газообмена и снижению величины  $Rd/Pg$  до контрольных значений. В конечном итоге это способствовало не только накоплению сухой биомассы побегов и корней проростков пшеницы, но и благоприятствовало дополнительному приросту их холодоустойчивости.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что МЖ положительно влияет на процесс холодовой адаптации растений пшеницы. Очевидно, его защитная роль при действии низкой положительной температуры на проростки обусловлена, наряду с другими возможными механизмами, регуляцией основных физиологических процессов, а именно поддержанием более высокой интенсивности транспирации, фотосинтеза и дыхания. Это, в свою очередь, не только обеспечивает возобновление ростовых процессов, но и способствует повышению морозоустойчивости растений пшеницы.

*Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0074).*

## Литература

- Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1982. 6 с.
- Васюкова Н. И., Зиновьева С. В., Удалова Ж. В., Герасимова Н. Г., Озерецковская О. Л., Сонин М. Д.

Жасмоновая кислота и устойчивость томатов к галловой нематоде // ДАН. 2009. Т. 428, № 3. С. 420–422.

Головко Т. Г. Дыхание растений. Физиологические аспекты. СПб.: Наука, 1999. 204 с.

Ефимова М. В., Мухаматдинова Е. А., Ковтун И. С., Кабил Ф., Медведева Ю. В., Кузнецов В. В. Жасмоновая кислота повышает устойчивость растений картофеля в культуре *in vitro* к хлоридному засолению // ДАН. 2019. Т. 488, № 6. С. 685–689. doi: 10.31857/S0869-56524886685-689

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.

Икконен Е. Н., Шибаева Т. Г., Титов А. Ф. Влияние кратковременных ежесуточных понижений температуры на соотношение дыхания и фотосинтеза у теплолюбивых растений // Физиология растений. 2018. Т. 65(1). С. 63–69. doi: 10.7868/S0015330318010050

Колупаев Ю. Е., Горелова Е. И., Ястреб Т. О. Механизмы адаптации растений к гипотермии: роль антиоксидантной системы // Вісник Харківського Національного Аграрного Університету. Сер. Біологія. 2018. Вип. 1(43). С. 6–33.

Максимов И. В., Сорокань А. В., Черепанова Е. А., Сурина О. Б., Трошина Н. Б., Яруллина Л. Г. Влияние салициловой и жасмоновой кислот на компоненты про-антиоксидантной системы в растениях картофеля при фитофторозе // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 2. С. 243–251.

Попов В. Н., Антипина О. В., Селиванов А. А., Рахманкулова З. Ф., Дерябин А. Н. Функциональная активность фотосинтетического аппарата табака и арабидопсиса при воздействии на растения низкой положительной температуры // Физиология растений. 2019. Т. 66(1). С. 73–80.

Рахманкулова З. Ф. Энергетический баланс целого растения в норме и при неблагоприятных внешних условиях // Журнал общей биологии. 2002. Т. 63, № 3. С. 239–248.

Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Практикум по физиологии и биохимии растений. СПб.: ГИОРД, 2013. 352 с.

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

Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс / Отв. ред. Вл. В. Кузнецов. М.: Наука, 2007. 54 с.

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

Шакирова Ф. М., Аллагурова Ч. Р., Безрукова М. В., Гималов Ф. Р. Индукция экспрессии гена дегидрина TADHN и накопление абсцизовой кислоты в растениях пшеницы при гипотермии // Доклады РАН. 2005. Т. 400. С. 550–552.

Aghdam M. S., Vodobodak S. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments // Sci. Hortic. 2013. Vol. 156. P. 73–85. doi: 10.1016/J.SCIENTA.2013.03.028

Ahmad P., Rasool S., Gul A., Sheikh S. A., Akram Parvaiz N. A., Ashraf M., Kazi A. M., Gucel S. Jasmonates: multifunctional roles in stress toleran-

ce // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 7. Article 813. doi: 10.3389/fpls.2016.00813

Battal P., Erez M. E., Turker M., Berber I. Molecular and physiological changes in maize (*Zea mays*) induced by exogenous NAA, ABA and MeJa during cold stress // Ann. Bot. Fennici. 2008. Vol. 45. P. 173–185. doi: 10.5735/085.045.0302

Fung R. W. M., Wang C. Y., Smith D. L., Gross K. C., Tao Y., Tian M. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes // J. Plant Physiol. 2006. Vol. 163. P. 1049–1060. doi: 10.1016/j.jplph.2005.11.003

Fung R. W. M., Wang C. Y., Smith D. L., Gross K. C., Tian M. MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.) // Plant Sci. 2004. Vol. 166. P. 711–719. doi: 10.1016/j.plantsci.2003.11.009

Gusta L. V., Trischuk R., Weiser C. Plant cold acclimation: the role of abscisic acid // J. Plant Growth Regul. 2005. Vol. 24. P. 308–318. doi: 10.1007/s00344-005-0079-x

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

Huang H., Liu B., Liu L., Song S. Jasmonate action in plant growth and development // J. Exp. Bot. 2017. Vol. 68(6). P. 1349–1359. doi: 10.1093/jxb/erw495

Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance // Trends Plant Sci. 2015. Vol. 20(4). P. 219–229. doi: 10.1016/j.tplants.2015.02.001

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. doi: 10.1016/j.scienta.2012.06.020

Ma C., Wang Z. Q., Zhang L. T., Sun M. M., Lin T. B. Photosynthetic responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to combined effects of drought and exogenous methyl jasmonate // Photosynthetica. 2014. Vol. 52. P. 377–385. doi: 10.1007/s11099-014-0041-x

Moradmand Y., Mobli M., Ramin A. A. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on increasing cold tolerance of bell pepper (cv. Emily) seedlings // J. Crop Production and Processing. 2015. Vol. 5(16). P. 123–133. doi: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.123

Munemasa S., Mori I. C., Murata Y. Methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid in guard cells // Plant Signaling & Behavior. 2011. Vol. 6(7). P. 939–941. doi: 10.4161/psb.6.7.15439

Munemasa S., Oda K., Watanabe-Sugimoto M., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata Y. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in Arabidopsis guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production<sup>1</sup> [OA] // Plant Physiol. 2007. Vol. 143. P. 1398–1407. doi: 10.1104/pp.106.091298

Ollas C., Dodd I. C. Physiological impacts of ABA – JA interactions under water-limitation // *Plant Mol. Biol.* 2016. Vol. 91. P. 641–650. doi: 10.1007/s11103-016-0503-6

Poonam S., Kaur H., Geetika S. Effect of Jasmonic acid on photosynthetic pigments and stress markers in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. seedlings under copper stress // *A. J. Plant Sci.* 2013. Vol. 4(4). P. 817–823. doi: 10.4236/ajps.2013.44100

Quan J., Song S., Abdulrashid K., Chai Y., Yue M., Liu X. Separate and combined response to UV-B radiation and jasmonic acid on photosynthesis and growth characteristics of *Scutellaria baicalensis* // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19(4), 1194. doi: 10.3390/ijms19041194

Reynolds M. P., Mujeeb-Kasi A., Sawkins M. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environment // *Ann. Appl. Biol.* 2005. Vol. 146(2). P. 239–259.

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.

## References

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

Chirkova T. F. Fiziologicheskie osnovy ustoichivosti rastenii [Physiological basis of plant tolerance]. St. Petersburg: SPb. Univ., 2002. 244 p.

Efimova M. V., Mukhamatdinova E. A., Kovtun I. S., Kabil F., Medvedeva Yu. V., Kuznetsov V. V. Zhasmonovaya kislota povyshayet ustoichivost' rastenii kartofelya v kul'ture *in vitro* k khloridnomu zasoleniyu [Jasmonic acid increases the tolerance of potato plants in *in vitro* culture to chloride salinity]. *DAN [Dokl. RAS]*. 2019. Vol. 488, no. 6. P. 685–689. doi: 10.31857/S0869-56524886685-689

Golovko T. G. Dykhanie rastenii. Fiziologicheskie aspekty [Breathing of plants. Physiological aspects]. St. Petersburg: Nauka, 1999. 204 p.

Ignatenko A. A. Uchastie antioksidantnoi sistemy v regulyatsii kholodoustoichivosti rastenii pshenitsy i ogurtsa salitsilovoi kislotoi i metilzhasmonatom [Participation of the antioxidant system in the regulation of cold tolerance of wheat and cucumber plants with salicylic acid and methyl jasmonate]: PhD (Cand. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2019. 191 p.

Ikkonen E. N., Shibaeva T. G., Titov A. F. Vliyanie kratkovremennykh ezhesutochnykh ponizhenii temperatury na sootnoshenie dykhaniya i fotosinteza u teplolyubivyykh rastenii [The effect of short-term daily temperature drops on the ratio of respiration and photosynthesis in thermophilic plants]. *Fiz. rast. [Rus. J. Plant Physiol.]*. 2018. Vol. 65(1). P. 63–69. doi: 10.7868/S0015330318010050

Shahzad R., Wagas 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 Physiol. Biochem.* 2015. Vol. 96. P. 406–416. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.08.020

Sharma P., Kaur H., Sirhindi G. Effect of jasmonic acid on photosynthetic pigments and stress markers in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. seedlings under copper stress // *Am. J. Plant Sci.* 2013. Vol. 4. P. 817–823. doi: 10.4236/ajps.2013.44100

Smoleńska-Sym G., Gawrońska H., Kacperska A. Modifications of abscisic acid level in winter oilseed rape leaves during acclimation of plants to freezing temperatures // *Plant Growth Regul.* 1995. Vol. 17. P. 61–65.

Theocharis A., Clement Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta.* 2012. Vol. 235. P. 1091–1105.

Yastreb T. O., Kolupaev Yu. E., Kokoreva A. I., Horie-lova E. I., Dmitriev A. P. Methyl jasmonate and nitric oxide in regulation of the stomatal apparatus of *Arabidopsis thaliana* // *Cytology and Genetics.* 2018. Vol. 52(6). P. 400–405. doi: 10.3103/S0095452718060129

Поступила в редакцию 09.07.2020

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 nats. agr. univ. Ser. Biol.* [Bull. Dokuchaev Kharkiv national agr. univ. Ser. Biol.]. 2018. Iss. 1(43). P. 6–33.

Maksimov I. V., Sorokan' A. V., Cherepanova E. A., Surina O. B., Troshina N. B., Yarullina L. G. Vliyanie salitsilovoi i zhasmonovoi kislot na komponenty pro-antioksidantnoi sistemy v rasteniyakh kartofelya pri fitoforoze [The effect of salicylic and jasmonic acids on the components of the pro/antioxidant system in potato plants infected late blight]. *Fiz. rast. [Rus. J. Plant Physiol.]*. 2011. Vol. 58, no. 2. P. 243–251.

Popov V. N., Antipina O. V., Selivanov A. A., Rakhmankulova Z. F., Deryabin A. N. Funktsional'naya aktivnost' fotosinteticheskogo apparata tabaka i arabisopsisa pri vozdeistvii na rasteniya nizkoi polozhitel'noi temperatury [Functional activity of the photosynthetic apparatus in tobacco and arabidopsis plants exposed to chilling temperatures]. *Fiz. rast. [Rus. J. Plant Physiol.]*. 2019. Vol. 66, no. 1. P. 73–80.

Rakhmankulova Z. F. Energeticheskii balans tselogo rasteniya v norme i pri neblagopriyatnykh vneshnikh usloviyakh [The energy balance of the whole plant under normal and adverse external conditions]. *Zhurn. obshchei biol.* [J. General Biol.]. 2002. Vol. 63, no. 3. P. 239–248.

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

Shakirova F. M., Allagurova Ch. R., Bezrukova M. V., Gimalov F. R. Induktsiya ekspressii gena degidrina

TADHN i nakoplenie abstsizovoi kisloty v rasteniyakh pshenitsy pri gipotermii [Induction of TADHN dehydrin gene expression and accumulation of abscisic acid in wheat plants at hypothermia]. *Dokl. RAN* [Dokl. RAS]. 2005. Vol. 400, no. 4. P. 550–552.

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

Trunova T. I. Rastenie i nizkotemperaturnyi stress [Plant and low temperature stress]. Ed. VI. V. Kuznetsov. Moscow: Nauka, 2007. 54 p.

Vasyukova N. I., Zinov'eva S. V., Udalova Zh. V., Gerasimova N. G., Ozeretskoykaya O. L., Sonin M. D. Zhasmonovaya kislota i ustoichivost' tomatov k gallovoi nematode [Jasmonic acid and tomato resistance to gall nematode]. *DAN* [Dokl. RAS]. 2009. Vol. 428, no. 3. P. 420–422.

Aghdam M. S., Bodbodak S. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. *Sci. Hortic.* 2013. Vol. 156. P. 73–85. doi: 10.1016/J.SCIENTA.2013.03.028

Ahmad P., Rasool S., Gul A., Sheikh S. A., Akram Parvaiz N. A., Ashraf M., Kazi A. M., Gucel S. Jasmonates: multifunctional roles in stress tolerance. *J. Frontiers in plant science*. 2016. Vol. 7. Article 813. doi: 10.3389/fpls.2016.00813

Battal P., Erez M. E., Turker M., Berber I. Molecular and physiological changes in maize (*Zea mays*) induced by exogenous NAA, ABA and MeJa during cold stress. *Ann. Bot. Fennici*. 2008. Vol. 45. P. 173–185. doi: 10.5735/085.045.0302

Fung R. W. M., Wang C. Y., Smith D. L., Gross K. C., Tao Y., Tian M. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes. *J. Plant Physiol.* 2006. Vol. 163. P. 1049–1060. doi: 10.1016/j.jplph.2005.11.003

Fung R. W. M., Wang C. Y., Smith D. L., Gross K. C., Tian M. MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Plant Sci.* 2004. Vol. 166. P. 711–719. doi: 10.1016/j.plantsci.2003.11.009

Gusta L. V., Trischuk R., Weiser C. Plant cold acclimation: the role of abscisic acid. *J. Plant Growth Regul.* 2005. Vol. 24. P. 308–318. doi: 10.1007/s00344-005-0079-x

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

Huang H., Liu B., Liu L., Song S. Jasmonate action in plant growth and development. *J. Exp. Bot.* 2017. Vol. 68(6). P. 1349–1359. doi: 10.1093/jxb/erw495

Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 2015. Vol. 20(4). P. 219–229. doi: 10.1016/j.tplants.2015.02.001

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 pro-

ducts chloroplast and mitochondrial ultrastructure in chilling-stressed leaves. *Sci. Hortic.* 2012. Vol. 143. P. 135–143. doi: 10.1016/j.scienta.2012.06.020

Ma C., Wang Z. Q., Zhang L. T., Sun M. M., Lin T. B. Photosynthetic responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to combined effects of drought and exogenous methyl jasmonate. *Photosynthetica*. 2014. Vol. 52. P. 377–385. doi: 10.1007/s11099-014-0041-x

Moradmand Y., Mobli M., Ramin A. A. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on increasing cold tolerance of bell pepper (cv. Emily) seedlings. *J. Crop Production and Processing*. 2015. Vol. 5(16). P. 123–133. doi: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.123

Munemasa S., Mori I. C., Murata Y. Methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid in guard cells. *Plant Signaling & Behavior*. 2011. Vol. 6(7). P. 939–941. doi: 10.4161/psb.6.7.15439

Munemasa S., Oda K., Watanabe-Sugimoto M., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata Y. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in Arabidopsis guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production<sup>1</sup> [OA]. *Plant Physiol.* 2007. Vol. 143. P. 1398–1407. doi: 10.1104/pp.106.091298

Ollas C., Dodd I. C. Physiological impacts of ABA – JA interactions under water-limitation. *Plant Mol. Biol.* 2016. Vol. 91. P. 641–650. doi: 10.1007/s11103-016-0503-6

Poonam S., Kaur H., Geetika S. Effect of Jasmonic acid on photosynthetic pigments and stress markers in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. seedlings under copper stress. *A. J. Plant Sci.* 2013. Vol. 4(4). P. 817–823. doi: 10.4236/ajps.2013.44100

Quan J., Song S., Abdurashid K., Chai Y., Yue M., Liu X. Separate and combined response to UV-B radiation and jasmonic acid on photosynthesis and growth characteristics of *Scutellaria baicalensis*. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19(4), 1194. doi: 10.3390/ijms19041194

Reynolds M. P., Mujeeb-Kasi A., Sawkins M. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environment. *Ann. Appl. Biol.* 2005. Vol. 146(2). P. 239–259.

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.

Shahzad R., Wagas 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 Physiol. Biochem.* 2015. Vol. 96. P. 406–416. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.08.020

Sharma P., Kaur H., Sirhindi G. Effect of jasmonic acid on photosynthetic pigments and stress markers in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. seedlings under copper stress. *Am. J. Plant Sci.* 2013. Vol. 4. P. 817–823. doi: 10.4236/ajps.2013.44100

Smoleńska-Sym G., Gawrońska H., Kacperska A. Modifications of abscisic acid level in winter oilseed rape

leaves during acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant Growth Regul.* 1995. Vol. 17. P. 61–65.

Theocharis A., Clement Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature. *Planta.* 2012. Vol. 235. P. 1091–1105.

Yastreb T. O., Kolupaev Yu. E., Kokoreva A. I., Horie-lova E. I., Dmitriev A. P. Methyl jasmonate and nitric oxide

in regulation of the stomatal apparatus of *Arabidopsis thaliana*. *Cytology and Genetics.* 2018. Vol. 52(6). P. 400–405. doi: 10.3103/S0095452718060129

Received July 09, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### **Холоптцева Екатерина Станиславовна**

старший научный сотрудник лаб. экологической физиологии растений, к. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: holoptseva@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 762712

### **Игнатенко Анна Анатольевна**

научный сотрудник лаб. экологической физиологии растений, 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**

д. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910

### **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:

### **Kholoptseva, Ekaterina**

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

### **Ignatenko, Anna**

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

### **Talanova, Vera**

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

### **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 581.036.5

## АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ *TRITICUM AESTIVUM* L. (*POACEAE*) ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Ю. В. Венжик<sup>1</sup>, Е. С. Холопцева<sup>2</sup>, А. А. Игнатенко<sup>2</sup>, **В. В. Таланова**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Проведен сравнительный анализ изменения ряда показателей роста, водного обмена и устойчивости недельных проростков озимой пшеницы с. Московская 39 в процессе их адаптации к закалывающим низкотемпературным воздействиям разной интенсивности (12, 8 и 4 °С). Изучены сырая и сухая биомасса корней и побегов, оводненность тканей, устьичная проводимость и транспирация, устойчивость клеток листьев к промораживанию. Наибольшие изменения отмечены под влиянием температуры 4 °С, вызывающей максимальный прирост устойчивости. Выявлено, что при этой температуре почти полностью тормозилось накопление сырой биомассы, но продолжалось накопление сухой биомассы побегов, снижались оводненность, интенсивность транспирации и устьичной проводимости листьев. Температура 12 °С, вызывающая минимальный прирост устойчивости, приводила к наименьшим изменениям изученных показателей, а вариант с температурой 8 °С занимал промежуточное положение. Сделан вывод о том, что между интенсивностью низкотемпературного воздействия, уровнем устойчивости, достигаемым при закаливании растений пшеницы низкими положительными температурами, и степенью проявления адаптивных изменений существует очевидная зависимость: чем более значимые и глубокие адаптивные изменения происходят в растительном организме под влиянием низкотемпературного воздействия, тем большую устойчивость к холоду способны развивать растения в этих условиях. Следовательно, программа адаптации озимых злаков к холоду будет реализовываться наиболее полно именно при той температуре, которая способствует формированию максимального уровня устойчивости.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; холодоустойчивость; низкие температуры; рост; водный обмен.

**Yu. V. Venzhik, E. S. Kholoptseva, A. A. Ignatenko, **V. V. Talanova**.**  
**ADAPTIVE CAPACITIES OF *TRITICUM AESTIVUM* L. (*POACEAE*) UNDER  
LOW TEMPERATURE IMPACTS OF VARYING INTENSITY**

A comparative analysis of changes in a number of indicators of growth, water exchange and cold tolerance in week-old seedlings of winter wheat cv. Moskovskaya 39 in the process of their adaptation to low-temperature hardening of different intensities (12, 8, and 4 °C) was carried out. The fresh and dry biomass of roots and shoots, the water content of tissues, the rate of stomatal conductance and transpiration, and the tolerance of leaf cells to freezing were studied. The greatest changes were noted under exposure to 4 °C temperature, which caused the maximum increase in cold tolerance. It



was found that the accumulation of fresh biomass was almost completely inhibited at this temperature, but the accumulation of dry biomass of shoots continued, the water content, the rate of transpiration and stomatal conductance of leaves decreased. The temperature of 12 °C, causing a minimum increase in tolerance, led to the smallest changes in the studied parameters, and the treatment with 8 °C occupied an intermediate position. It is concluded that there is an obvious relationship between the level of tolerance achieved by hardening at low positive temperatures and the degree of manifestation of adaptive changes: the more significant and profound are the adaptive changes that occur in a plant organism under the influence of low-temperature exposure, the greater cold tolerance the plants are able to acquire under these conditions. Consequently, the program of adaptation of winter cereals to the cold will be realized the most fully precisely at the temperature that fosters the formation of a maximum level of tolerance.

**Key words:** *Triticum aestivum* L.; cold tolerance; low temperatures; growth; water exchange.

## Введение

Адаптация озимых злаков к низким температурам, как известно, затрагивает метаболические, биохимические, структурные процессы в растительном организме [Huner et al., 1998; Kratsh, Wise, 2000; Ensminger et al., 2006; Трунова, 2007]. Под влиянием холода у озимых злаков снижаются интенсивность фотосинтеза, водного обмена, тормозятся ростовые процессы [Климов и др., 1997; Трунова, 2007; Венжик и др., 2011; Crosatti et al., 2013; Rihan et al., 2017]. При этом в растительном организме устанавливается баланс между ростом, фотосинтезом и дыханием, позволяющий накапливать в клетках энергоемкие вещества – липиды и углеводы, способствующие адаптации [Климов, 1987, 2008; Трунова, 2007; Crosatti et al., 2013; John et al., 2016; Rihan et al., 2017]. Практически одновременно у озимых злаков, как и у большинства холодостойких растений, происходит структурная реорганизация клеток: их размеры увеличиваются, так же как и размеры и количество хлоропластов и митохондрий в них, уменьшается объем вакуоли, формируются хлоропласты так называемого светового типа, приспособленные к функционированию в условиях холода [Климов и др., 1992, 1997; Трунова, Астахова, 1998; Трунова, 2007; Yu et al., 2011; Венжик и др., 2012; Venzhik et al., 2019]. Эти и другие адаптивные изменения, происходящие в клетках и тканях холодостойких растений под влиянием низких положительных температур [Rihan et al., 2017; Ding et al., 2019; Ritonga, Chen, 2020], как правило, сопровождаются формированием повышенной устойчивости к холоду, для индукции которой в условиях контролируемой среды обычно используют температуры, оптимальные с точки зрения закаливающего эффекта [Титов и др., 2006]. Однако динамика устойчивости и степень реали-

зации сопутствующих адаптивных изменений, происходящих в растительном организме при температурах, оказывающих на растения меньший закаливающий эффект, исследованы гораздо хуже, хотя такого рода данные представляют самостоятельный интерес. Таким образом, можно предположить, что существует взаимосвязь (и/или зависимость) между уровнем холодостойкости, который развивают растения под влиянием закаливающих воздействий разной интенсивности, и степенью проявления тех или иных адаптивных изменений. В связи с этим цель данного исследования – сравнительный анализ изменения некоторых показателей роста, водного обмена, а также холодостойкости растений пшеницы, подвергнутых закаливающим низкотемпературным воздействиям разной интенсивности.

## Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L., *Poaceae*) морозостойкого сорта Московская 39, выращенные в рулонах фильтровальной бумаги на модифицированном питательном растворе Кнопа в камере искусственного климата при температуре воздуха 22 °C, его относительной влажности 60–70 %, освещенности ФАР 180 мкмоль/м<sup>2</sup> с и фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста растения пшеницы разделяли на четыре группы и в течение 7 сут подвергали действию низких закаливающих температур 4, 8 и 12 °C, сохраняя прочие условия неизменными. В качестве контрольного варианта использовали растения, которые в течение всего опыта оставались при температуре 22 °C. Выбор интенсивности и продолжительности низкотемпературных воздействий основан на результатах предыдущих исследований [Титов и др., 2006].

Об устойчивости проростков судили по температуре ( $LT_{50}$ ), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток паренхимы листовых высевок после их 5-минутного промораживания в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/-20 («Интерм», Россия) при последовательном снижении температуры промораживания с интервалом 0,4 °С [Балагурова и др., 1982]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) с объективом  $\times 40$  по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Рост растений оценивали по накоплению сырой и сухой биомассы корней и побегов в соответствии со стандартной методикой, оводненность тканей рассчитывали по общепринятой формуле [Рогожин, Рогожина, 2013]. Интенсивность транспирации и устьичную проводимость листьев изучали с помощью портативной фотосинтетической системы НСМ-1000 (Walz, Германия).

Повторность при оценке устойчивости и упомянутых выше физиологических показателей в пределах одного варианта 3–6-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. В таблицах и на графиках приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Статистическую значимость различий между средними оценивали на основании *t*-критерия

Стьюдента. В статье обсуждаются величины, статистически значимые при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Проведенное исследование показало, что устойчивость клеток листьев пшеницы к промораживанию при всех изученных температурах (12, 8 и 4 °С) существенно возрастает, но величина прироста зависит от интенсивности закаливающего воздействия. Так, наибольший приrost холодоустойчивости был зафиксирован при температуре 4 °С, наименьший – при 12 °С, а температура 8 °С оказывала средний закаливающий эффект на проростки пшеницы (рис. 1).

Отметим, что согласно представлениям о делении температур на зоны (Фоновая, закаливающая и повреждающая) все три изученные нами температуры относятся к зоне закаливания [Дроздов, Курец, 2003; Титов и др., 2006]. Однако температура 12 °С наиболее близка к фоновой зоне, которая у озимой пшеницы, как правило, начинается с 15–16 °С. В то же время температура 4 °С располагается на границе с зоной повреждения, у озимых злаков близкой к 0 °С [Дроздов, Курец, 2003; Титов и др., 2006]. Именно этим обстоятельством объясняется разный приrost устойчивости под

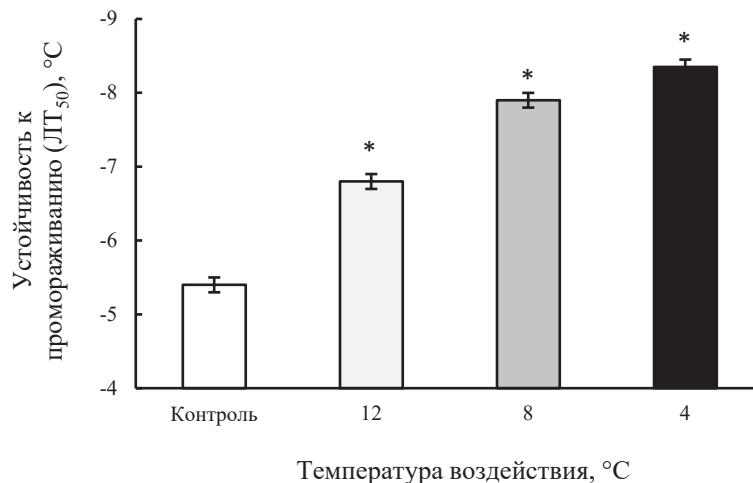


Рис. 1. Устойчивость клеток листьев пшеницы к промораживанию при низкотемпературных воздействиях разной интенсивности (12, 8 и 4 °С).

Здесь и далее на рисунках и в таблицах в качестве контрольного варианта представлены данные о проростках того же возраста, выращенных при 22 °С; \* – отличия от контрольного уровня статистически значимы при  $p < 0,05$

Fig. 1. Tolerance of wheat leaf cells to freezing under low temperature influences of different intensity (12, 8 and 4 °С).

Here and further in the figures and tables the data on seedlings of the same age grown at 22 °С are presented as the control level; \* – differences from the control level are statistically significant at  $p < 0.05$

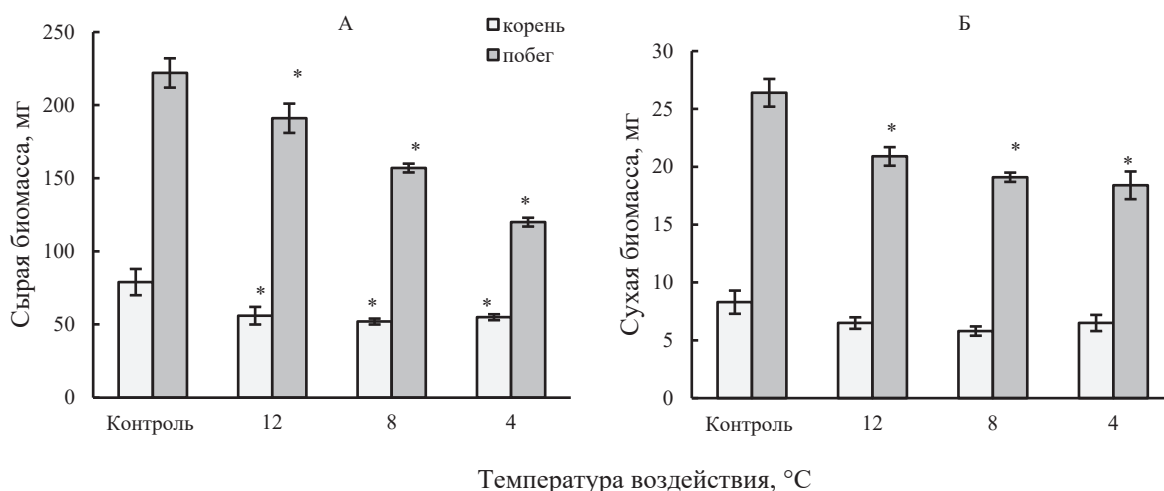


Рис. 2. Сырая (А) и сухая (Б) биомасса корней и побегов пшеницы при низкотемпературных воздействиях разной интенсивности (12, 8 и 4 °C)

Fig. 2. Fresh (A) and dry (B) biomass of wheat roots and shoots under low temperature influences of different intensity (12, 8 and 4 °C)

влиянием изученных воздействий. Очевидно, что величина прироста устойчивости возрастает с понижением температуры в пределах зоны холодового закаливания от 12 до 4 °C, то есть с продвижением от температур, близких к фоновым, до температур, расположенных на границе с повреждающими.

Кроме того, выбранные температурные режимы заметно тормозили накопление биомассы растений. При этом корни и побеги пшеницы по-разному реагировали на холодовые воздействия. Так, накопление сырой биомассы корней пшеницы снижалось (по сравнению с контрольными проростками) при всех вариантах низкотемпературного воздействия независимо от его интенсивности, в то время как снижение сырой биомассы побегов было тем больше, чем ниже была температура закаливания (рис. 2, А). Сходным образом изменялось и накопление сухой биомассы корней и побе-

гов растений пшеницы (рис. 2, Б). Отношение сухой биомассы корней к сырой существенно не изменялось под влиянием холода, но некоторое увеличение этого же показателя для побегов наблюдалось при действии температуры 4 °C (табл. 1).

Похожая тенденция отмечена для изменения оводненности тканей пшеницы: если оводненность корней практически не зависела от температуры закаливания, то оводненность побегов снижалась только под влиянием температуры 4 °C (табл. 1). Отметим также, что все низкотемпературные воздействия приводили к снижению интенсивности устьичной проводимости и транспирации листьев пшеницы (рис. 3; табл. 2).

Важно подчеркнуть адаптивный характер выявленных изменений, происходящих у пшеницы под влиянием температурных воздействий разной интенсивности. Так, торможение накопле-

Таблица 1. Показатели роста и водного обмена растений пшеницы при низкотемпературных воздействиях разной интенсивности (12, 8 и 4 °C)

Table 1. Indicators of growth and water exchange of wheat under low temperature influences of different intensity (12, 8 and 4 °C)

Показатели Indicators	Контроль Control	Температура воздействия Exposure temperature, °C		
		12	8	4
Сухая / сырая масса корней Dry / fresh weight of roots	0,11 ± 0,1	0,11 ± 0,1	0,10 ± 0,1	0,12 ± 0,1
Сухая / сырая масса побегов Dry / fresh weight of shoots	0,12 ± 0,1	0,11 ± 0,1	0,13 ± 0,1	0,15 ± 0,1
Оводненность тканей корней, % Water content of root tissues, %	89,4 ± 0,3	88,3 ± 0,4	87,0 ± 0,5	88,0 ± 0,6
Оводненность тканей побегов, % Water content of shoot tissues, %	88,1 ± 0,3	89,1 ± 0,2	87,5 ± 0,1	85,1 ± 0,5*

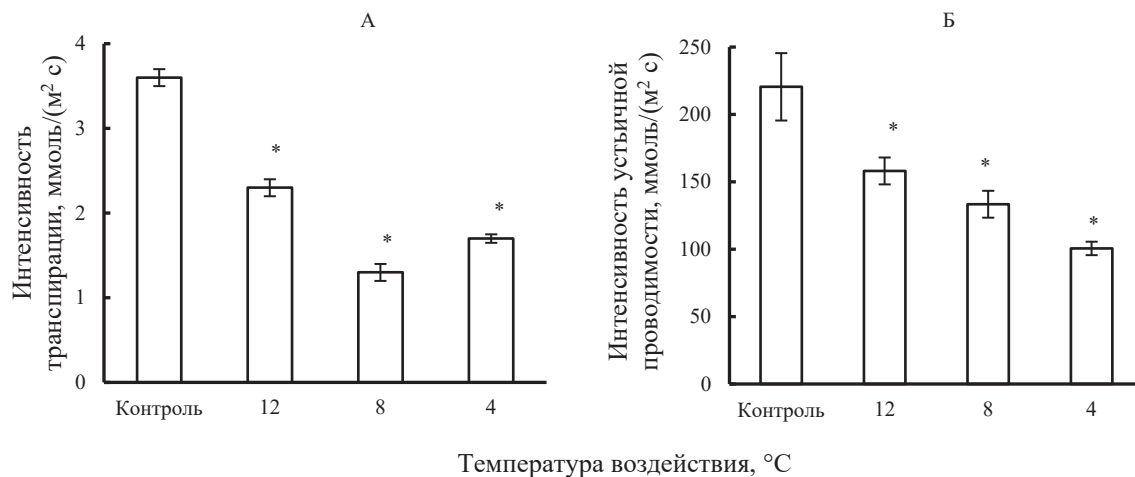


Рис. 3. Интенсивность транспирации (А) и устьичной проводимости (Б) листьев пшеницы при низкотемпературных воздействиях разной интенсивности (12, 8 и 4 °C)

Fig. 3. Intensity of transpiration (A) and stomatal conductance (B) of wheat leaves under low temperature influences of different intensity (12, 8 and 4 °C)

Таблица 2. Количественная оценка изменения показателей устойчивости, роста и водного обмена растений пшеницы в процессе адаптации к низкотемпературным воздействиям разной интенсивности

Table 2. Quantification of changes in the tolerance, growth and water exchange indicators of wheat in the process of adaptation to low temperature influences of different intensity

Показатель, % Indicator, %	Контроль Control	Температура воздействия / Exposure temperature, °C		
		12	8	4
Устойчивость Tolerance	100	123	146	154
Сырая биомасса корня Fresh weight of roots	171	113	113	113
Сырая биомасса побега Fresh weight of shoots	197	169	139	106
Сухая биомасса корня Dry weight of roots	173	135	125	135
Сухая биомасса побега Dry weight of shoots	218	175	158	152
Транспирация Transpiration	100	60	39	41
Устьичная проводимость Stomatal conductance	100	72	61	46

Примечание. Значения показателей приведены в % от значений исходного уровня, измеренных на недельных проростках до начала температурного воздействия.

Note. \*The values of the indicators are given in percents of the initial level, taken as 100 %. The values of the initial level were measured on week-old seedlings before the start of temperature exposure.

ния биомассы растений свидетельствует об ингибировании ростовых процессов, которое необходимо для поддержания работы фотосинтетического аппарата у озимых злаков при адаптации к холоду [Hurry et al., 1995; Климов и др., 1997; Ensminger et al., 2006; Rihan et al., 2017]. Накопление сухой биомассы побегов под влиянием холода связано, скорее всего, со снижением оводненности тканей, которое, в свою очередь, может свидетельствовать о перераспределении воды в клетках, а именно об уменьшении объема вакуоли и «разрастании» цито-

плазмы, в которой накапливаются осмолитики (углеводы, липиды и др.), выполняющие кроме прочих криопротекторную функцию [Трунова, 2007; Yu et al., 2011; Janmohammadi et al., 2012; Theocharis et al., 2012; Ritonga, Chen, 2020]. Снижение транспирации и устьичной проводимости листьев пшеницы под влиянием низкой температуры, вероятно, связано с быстрым закрытием устьиц, позволяющим избежать обезвоживания тканей [Mahadjan, Tuteja, 2005; Reynolds et al., 2005], а также со снижением массы корневой системы и способности поглощать

воду и питательные вещества. Полученные данные хорошо соотносятся с представлениями о том, что выживание холодостойких растений в условиях действия низких температур в первую очередь определяется их способностью «перепрограммировать» направленность основных метаболических процессов в организме [Ensminger et al., 2006; Theocharis et al., 2012; Gusta, Wisniewski, 2013].

Важно, что практически для всех изученных показателей максимальная степень их изменения отмечена при температуре 4 °С (табл. 2). По крайней мере это касается изменений, происходящих в побегах пшеницы, в то время как реакция корней в меньшей степени зависела от интенсивности температурного воздействия. Причиной этого может быть разная приспособленность корней и побегов к температурному фактору. Как правило, корневая система растений, в отличие от надземных органов, не испытывает в процессе активной вегетации резких и значительных по амплитуде колебаний температуры среды, поэтому считается, что приспособительные возможности корней по сравнению с надземными органами ограничены [Родченко и др., 1988]. Кроме того, как показывают исследования, устойчивость клеток корня пшеницы под влиянием закалывающей температуры непосредственно на корневую систему не только не увеличивается, но в ряде случаев даже снижается [Титов, Таланова, 2011], и это подтверждает ограниченность адаптационных возможностей корневой системы.

Таким образом, установлено, что реакция растений пшеницы на температурные воздействия 4, 8 и 12 °С сопровождается рядом адаптивных изменений, степень проявления которых во многом зависит от интенсивности закалывания. Наибольшие изменения отмечены при температуре 4 °С, вызывающей максимальный прирост устойчивости. При этой температуре почти полностью тормозилось накопление сырой биомассы растений, хотя накопление сухой биомассы продолжалось, увеличивалось соотношение сухой биомассы побегов к сырой, снижались оводненность, интенсивность транспирации и устьичной проводимости листьев. Температура 12 °С вызывала минимальный прирост устойчивости и приводила к наименьшим изменениям изученных показателей, а вариант с температурой 8 °С занимал промежуточное положение.

## Заключение

В целом полученные данные позволяют сделать вывод, что существует зависимость между

интенсивностью низкотемпературного воздействия и степенью реализации адаптивных возможностей озимых злаков, а следовательно, и уровнем холодоустойчивости, достигаемым при их закаливании. Чем ниже температура в зоне закалывания, тем более значительные адаптивные изменения происходят в растительном организме и тем большую устойчивость к действию низких температур способны развивать растения. Наиболее полно программа адаптации озимых злаков к холоду реализуется под влиянием температуры, вызывающей максимальный прирост устойчивости.

*Исследования выполнены на научном оборудовании 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

- Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1982. 6 с.
- Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В., Фролова С. А., Таланов А. В., Назаркина Е. А. Влияние пониженной температуры на устойчивость и функциональную активность фотосинтетического аппарата пшеницы // Изв. РАН. Сер. биол. 2011. № 2. С. 171–177.
- Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В., Мирославов Е. А., Котеева Н. К. Структурно-функциональная реорганизация фотосинтетического аппарата растений пшеницы при холодовой адаптации // Цитология. 2012. Т. 54, № 12. С. 916–924.
- Дроздов С. Н., Курец В. К. Некоторые аспекты экологической физиологии растений. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 172 с.
- Климов С. В. Биоэнергетические аспекты адаптации и устойчивости зимующих злаков к морозу // Успехи совр. биологии. 1987. Т. 104, № 2. С. 251–264.
- Климов С. В. Адаптация растений к стрессам через изменение донорно-акцепторных отношений на разных уровнях структурной организации // Успехи совр. биологии. 2008. Т. 128, № 3. С. 281–299.
- Климов С. В., Астахова Н. В., Давыденко С. В., Трунова Т. И. Влияние холода на функцию и структуру фотосинтетического аппарата озимой пшеницы и ржи // Физиол. раст. 1992. Т. 324, № 6. С. 1339–1344.
- Климов С. В., Астахова Н. В., Трунова Т. И. Связь холодоустойчивости растений с фотосинтезом и ультраструктурой хлоропластов и клеток // Физиол. раст. 1997. Т. 44, № 6. С. 879–886.

Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Практикум по физиологии и биохимии растений. СПб.: ГИОРД, 2013. 352 с.

Родченко О. П., Маричева Э. А., Акимова Г. П. Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. Новосибирск: Наука, 1988. 147 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.

Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс // Тимирязевские чтения. Т. 64. М.: Наука, 2007. 54 с.

Трунова Т. И., Астахова Н. В. Роль ультраструктуры клеток в формировании морозостойкости озимой пшеницы // Докл. РАН. 1998. Т. 359, № 1. С. 120–122.

Crosatti C., Rizza F., Badeck F. W., Mazzucotelli E., Cattivelli L. Harden the chloroplast to protect the plant // *Physiol. Plant.* 2013. Vol. 147, no. 1. P. 55–63. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x

Ding Ya., Shi Yi., Yang Sh. Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants // *New Phytologist.* 2019. Vol. 222. P. 1690–1704. doi: 10.1111/nph.15696

Ensminger I., Busch F., Huner N. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis // *Physiol. Plant.* 2006. Vol. 126, no. 1. P. 28–44. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00627.x

Gusta L. W., Wisniewski M. Understanding plant cold hardiness: an opinion // *Physiol. Plant.* 2013. Vol. 147, no. 1. P. 4–14. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01611.x

Huner N. P. A., Oquist G., Sarhan F. Energy balance and acclimation to light and cold // *Trends Plant Sci.* 1998. Vol. 3, no. 6. P. 224–230.

Hurry V. M., Strand A., Toboieson M., Gardestöm P., Öquist G. Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content // *Plant Physiol.* 1995. Vol. 109, no. 2. P. 697–706. doi: 10.1104/pp.109.2.697

Janmohammadi M., Enayati V., Sabaghnia N. Impact of cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation on carbohydrate content and antioxidant enzyme activities in spring and winter wheat // *Icel. Agric. Sci.* 2012. Vol. 25, no. 1. P. 3–11.

John R., Anjum N. A., Sopory S. K., Akram N. A., Ashraf M. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation // *Biol. Plant.* 2016. Vol. 60, no. 4. P. 603–618. doi: 10.1007/s10535-016-0648-9

Kratsch H. A., Wise R. R. The ultrastructure of chilling stress // *Plant Cell Environ.* 2000. Vol. 23, no. 4. P. 337–350. doi: 10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x

Mahadjan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses // *Arch. Biochem. Biophys.* 2005. Vol. 444, no. 2. P. 139–158.

Reynolds M. P., Mujeeb-Kasi A., Sawkins M. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environment // *Ann. Appl. Biol.* 2005. Vol. 146, no. 2. P. 239–259.

Rihan H. Z., Al-Issawi M., Fuller M. P. Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance // *J. Plant Interact.* 2017. Vol. 12, no. 1. P. 143–157. doi: 10.1080/17429145.2017.1308568

Ritonga F. N., Chen S. Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants // *Plants.* 2020. Vol. 9, no. 5: 560. doi: 10.3390/plants9050560

Theocharis A., Clement Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta.* 2012. Vol. 235, no. 6. P. 1091–1105. doi: 10.1007/s00425-012-164/-y

Venzhik Yu. V., Shchyogolev S. Yu., Dykman L. A. Ultrastructural reorganization of chloroplasts during plant adaptation to abiotic stress factors // *Russ. J. Plant Physiol.* 2019. Vol. 66, no. 6. P. 850–863. doi: 10.1134/S102144371906013X

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

Поступила в редакцию 14.08.2020

## References

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

Drozdov C. N., Kurets V. K. Nekotorye aspekty ekologicheskoi fiziologii rastenii [Some aspects of ecological plant physiology]. Petrozavodsk: PetrSU, 2003. 172 p.

Klimov S. V. Adaptatsiya rastenii k stressam cherez izmenenie donorno-aktseptornykh otnoshenii na raznykh urovnyakh strukturnoi organizatsii [Plants adaptation to stresses through donor-acceptor relations on different levels of structural organization]. *Uspekhi sovr. biol.* [Biol. Bull. Reviews]. 2008. Vol. 128, no. 3. P. 281–299.

Klimov S. V. Bioenergeticheskie aspekty adaptatsii i ustoichivosti zimuyushchikh zlakov k morozu [Bioenergetic aspects of adaptation and tolerance of wintering

cereals to frost]. *Uspekhi sovr. biol.* [Biol. Bull. Reviews]. 1987. Vol. 104, no. 2. P. 251–264.

Klimov S. V., Astakhova N. V., Davydenko S. V., Trunova T. I. Vliyanie kholoda na funktsiyu i strukturu fotosinteticheskogo apparata ozimoi pshenitsy i rzhi [Effect of cold on the function and structure of the photosynthetic apparatus of winter wheat and rye]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 1992. Vol. 324, no. 6. P. 1339–1344.

Klimov S. V., Astakhova N. V., Trunova T. I. Svyaz' kholodoustoichivosti rastenii s fotosintezom i ul'trastrukturou khloroplastov i kletok [Relation of cold tolerance of plants with photosynthesis and ultrastructure of chloroplasts and cells]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 1997. Vol. 44, no. 6. P. 879–886.

Rodchenko O. P., Maricheva E. A., Akimova G. P. Adaptatsiya rastushchikh kletok kornya k ponizhennym

temperaturam [Adaptation of growing root cells to low temperatures]. Novosibirsk: Nauka, 1988. 147 p.

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

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

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

Trunova T. I., Astakhova N. V. Rol' ul'trastruktury kletok v formirovanii morozostoikosti ozimoi pshenitsy [The role of cell ultrastructure in the formation of frost tolerance of winter wheat]. Dokl. RAN [Dokl. RAS]. 1998. Vol. 359, no. 1. P. 120–122.

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

Crosatti C., Rizza F., Badeck F. W., Mazzucotelli E., Cattivelli L. Harden the chloroplast to protect the plant. *Physiol. Plant.* 2013. Vol. 147, no. 1. P. 55–63. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x

Ding Ya., Shi Yi., Yang Sh. Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants. *New Phytologist.* 2019. Vol. 222. P. 1690–1704. doi: 10.1111/nph.15696

Ensminger I., Busch F., Huner N. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis. *Physiol. Plant.* 2006. Vol. 126, no. 1. P. 28–44. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00627.x

Gusta L. W., Wisniewski M. Understanding plant cold hardiness: an opinion. *Physiol. Plant.* 2013. Vol. 147, no. 1. P. 4–14. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01611.x

Huner N. P. A., Oquist G., Sarhan F. Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends Plant Sci.* 1998. Vol. 3, no. 6. P. 224–230.

Hurry V. M., Strand A., Tobioeson M., Gardestöm P., Öquist G. Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content. *Plant Physiol.* 1995. Vol. 109, no. 2. P. 697–706. doi: 10.1104/pp.109.2.697

Janmohammadi M., Enayati V., Sabaghnia N. Impact of cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation on carbohydrate content and antioxidant enzyme acti-

vities in spring and winter wheat. *Icel. Agric. Sci.* 2012. Vol. 25, no. 1. P. 3–11.

John R., Anjum N. A., Sopory S. K., Akram N. A., Ashraf M. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation. *Biol. Plant.* 2016. Vol. 60, no. 4. P. 603–618. doi: 10.1007/s10535-016-0648-9

Kratsch H. A., Wise R. R. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environ.* 2000. Vol. 23, no. 4. P. 337–350. doi: 10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x

Mahadjan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses. *Arch. Biochem. Biophys.* 2005. Vol. 444, no. 2. P. 139–158.

Reynolds M. P., Mujeeb-Kasi A., Sawkins M. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environment. *Ann. Appl. Biol.* 2005. Vol. 146, no. 2. P. 239–259.

Rihan H. Z., Al-Issawi M., Fuller M. P. Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance. *J. Plant Interact.* 2017. Vol. 12, no. 1. P. 143–157. doi: 10.1080/17429145.2017.1308568

Ritonga F. N., Chen S. Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants. *Plants.* 2020. Vol. 9, no. 5: 560. doi: 10.3390/plants9050560

Theocharis A., Clement Ch., Barka E. A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature. *Planta.* 2012. Vol. 235, no. 6. P. 1091–1105. doi: 10.1007/s00425-012-164/-y

Venzhik Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V., Frolova S. A., Talanov A. V., Nazarkina E. A. Influence of lowered temperature on the resistance and functional activity of the photosynthetic apparatus of wheat plants. *Biol. Bull.* 2011. Vol. 38, no. 2. P. 132–137.

Venzhik Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V., Miroslavov E. A., Koteeva N. K. Structural and functional reorganization of the photosynthetic apparatus in adaptation to cold of wheat plants. *Cell Tissue Biol.* 2013. Vol. 7, no. 1. P. 168–176.

Venzhik Yu. V., Shchyogolev S. Yu., Dykman L. A. Ultrastructural reorganization of chloroplasts during plant adaptation to abiotic stress factors. *Russ. J. Plant Physiol.* 2019. Vol. 66, no. 6. P. 850–863. doi: 10.1134/S102144371906013X

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

Received August 14, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Венжик Юлия Валерьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.  
Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН  
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, 127276  
эл. почта: jul.venzhik@gmail.com  
тел.: +79170268420

## CONTRIBUTORS:

### Venzhik, Yulia

Timiryazev Institute of Plant Physiology,  
Russian Academy of Sciences,  
35 Botanicheskaya St., 127276 Moscow, Russia  
e-mail: Jul.Venzhik@gmail.com  
tel.: +79170268420

**Холопцева Екатерина Станиславовна**

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

**Игнатенко Анна Анатольевна**

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

**Таланова Вера Викторовна**

д. б. н.  
Институт биологии КарНЦ РАН,  
Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр РАН»  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910

**Kholoptseva, Ekaterina**

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

**Ignatenko, Anna**

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

**Talanova, Vera**

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



УДК 582.475:630\*181.3:581.1

## ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННЫХ УСЛОВИЙ СРЕДНЕТАЕЖНОГО СОСНЯКА ЛИШАЙНИКОВОГО НА РОСТ И ПОКАЗАТЕЛИ МИНЕРАЛЬНОГО И ВОДНОГО РЕЖИМА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Т. А. Сазонова, В. Б. Придача

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

Основными лимитирующими рост растений абиотическими факторами в условиях сосняков лишайниковых таежной зоны европейской территории России являются недостаток воды и элементов минерального питания в почве. Целью работы была оценка влияния условий внешней среды на функциональные показатели деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) разной интенсивности роста в условиях среднетаежного сосняка лишайникового. Для решения поставленной задачи проведены многолетние исследования параметров водного (предрасветный и дневной водный потенциал охвоенного побега) и минерального (содержание азота, фосфора, калия и их соотношение в ксилемном соке и хвое) обмена одновозрастных деревьев сосны обыкновенной разной жизненности в условиях сосняка лишайникового (Южная Карелия). Полученные данные использовали для сравнительной характеристики функционального состояния господствующих и угнетенных деревьев в разных условиях внешней среды. В условиях умеренного увлажнения почвы отмечена стабилизация характеристик минерального и водного обмена деревьев обеих групп. Снижение запасов влаги в корнеобитаемых горизонтах почвы при длительной засухе усиливает физиологическую гетерогенность деревьев сосны обыкновенной разного жизненного состояния в пределах одного фитоценоза. Результаты исследования позволяют предположить, что в сосняке лишайниковом комплекс фитоценологических факторов в большей степени влияет на интенсивность ростовых процессов и их продолжительность и в меньшей степени – на показатели минерального и водного обмена деревьев сосны обыкновенной. Обсуждаются механизмы адаптации деревьев сосны обыкновенной к разным условиям почвенного увлажнения.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*; дифференциация деревьев; водный потенциал; биогенные макроэлементы, песчаные олиготрофные почвы; засуха.

### T. A. Sazonova, V. B. Pridacha. THE EFFECT OF SOIL CONDITIONS ON GROWTH AND PARAMETERS OF THE MINERAL AND WATER METABOLISM IN SCOTS PINE IN A MIDDLE-TAIGA LICHEN-TYPE PINE FOREST

The main abiotic factors limiting plant growth in lichen-type pine forests in the taiga zone of European Russia are the lack of water and mineral nutrients in the soil. The aim of this work was to assess the effect of environmental conditions on the functional indicators in Scots pine trees (*Pinus sylvestris* L.) of varying growth rates in a middle-taiga lichen-type pine forest. To this end, long-term studies of water (pre-dawn and daytime water potential of foliated shoot) and mineral (the content of nitrogen, phosphorus, potassium and their ratio in xylem sap and needles) exchange parameters in Scots pine

trees of the same age but different vitality were carried out in a lichen-type pine forest (Southern Karelia). The data obtained were used to compare the functional state of dominant and suppressed trees in different environmental conditions. Where soil moisture content was moderate, mineral and water exchange characteristics in trees of both groups steadied out. A decrease in soil moisture reserves during prolonged drought heightened the vitality-specific physiological heterogeneity in Scots pine trees within the same plant community. The results of the study suggest that the complex of phytocoenotic factors in a lichen-type pine forest has more effect on the growth rate and duration than on the mineral and water metabolism parameters of Scots pine trees. Mechanisms for the adaptation of Scots pine trees to different soil moisture conditions are discussed.

**Key words:** *Pinus sylvestris* L.; tree differentiation; water potential; macronutrients; sandy oligotrophic soils; drought.

## Введение

В настоящее время вопрос об ответных реакциях различных видов древесных растений на изменения условий природной среды является актуальным в свете прогнозируемых изменений климата [IPCC..., 2013; FAO..., 2020]. Одним из ведущих природных факторов, оказывающих существенное влияние на рост и развитие растений, является почвенное питание [Lambers, Oliveira, 2019]. В последние десятилетия в условиях таежной зоны отмечают наиболее выраженный рост температуры приземного слоя воздуха, изменение режима осадков, а также увеличение повторяемости аномальных погодных явлений [Allen et al., 2010; Ольчев и др., 2017]. Повышение температуры воздуха в сочетании с атмосферной засухой оказывает существенное влияние на гидрологический режим почв лесных биогеоценозов [Fatichi et al., 2016; Kučera et al., 2020], особенно песчаных автоморфных почв с уровнем залегания грунтовых вод более 1,5–2,0 м [Гаель, Смирнова, 1999]. В условиях почвенной засухи происходит существенное снижение доступности питательных веществ для древесных растений [Kreuzwieser, Gessler, 2010] вследствие уменьшения минерализации органического вещества почв и подвижности ионов, изменения поглощающей способности корней. Длительный дефицит питательных элементов на фоне засухи разной интенсивности и продолжительности может привести к гибели дерева вследствие нарушения согласованности его углеродного и водного баланса [McDowell et al., 2008]. В контексте изложенной проблемы представляется особенно важным проведение полевых исследований для выявления диапазона экологических факторов и характера его влияния на функциональное состояние древесных растений бореальных лесов.

Одной из основных лесообразующих пород Европейского Севера является сосна обыкновенная

(*Pinus sylvestris* L.). В частности, на территории Республики Карелия сосновые леса занимают 64 % лесопокрытой площади [Разнообразие..., 2003]. Широкое распространение сосны на территории Евразии в областях, контрастных по климатическим и лесорастительным условиям, свидетельствует о невысокой требовательности ее к почвенному плодородию, теплу и низкой чувствительности к засухам [Орлов, Кошельков, 1971; Рысин, 2015]. Обладая такой широкой географической амплитудой, сосна является полиморфным видом, образующим множество форм и разновидностей как в пределах одной популяции, так и в пределах географических зон и ареала [Козубов, Муратова, 1986; Ильинов, Раевский, 2016].

Условия произрастания в лесных биогеоценозах таежной зоны существенно различаются. Так, например, в экологических рядах сосновых лесов на автоморфных и гидроморфных почвах Карелии [Казимиров, 1995] в сосняках черничных с хорошей влагообеспеченностью почв [Сазонова и др., 2017], в которых содержится наибольшее количество элементов минерального питания в доступных растениям формах [Морозова, Федорец, 1992], основным лимитирующим рост растений абиотическим фактором является свет [Цельникер и др., 1993], в сосняках лишайниковых – прежде всего недостаток воды и элементов минерального питания в почве, тогда как в сосняках сфагновых – напротив, избыточное увлажнение и недостаточная аэрация почв при дефиците подвижных форм минеральных элементов [Саковец и др., 2000; Придача, Сазонова, 2010]. Контрастные условия обитания обуславливают различия биологической продуктивности фитоценозов [Усольцев, 2007], что проявляется в структуре и распределении подземной и надземной фитомассы древесных растений.

Вместе с тем дифференциация разновозрастных деревьев по габитуально-морфологическим характеристикам может происходить

и в пределах одного фитоценоза [Габукова и др., 1991; Dobbertin, 2005] вследствие пространственной неоднородности светового режима и пестроты почвенного покрова, в частности неравномерной увлажненности, плотности и трофности почвы, что, в свою очередь, приводит к лидирующему положению одних деревьев и, напротив, угнетенному состоянию других. Эти факты позволяют нам предположить физиологическую гетерогенность одновозрастных деревьев разной интенсивности роста в пределах одного фитоценоза. В этой связи целью работы была оценка влияния эдафических условий на функциональные показатели одновозрастных деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) разной интенсивности роста в условиях среднетаежного сосняка лишайникового в Южной Карелии.

### Материалы и методы

Исследования проводили в сосновом древостое европейской части средней тайги в Южной Карелии (62°13' с. ш. 34°10' в. д.) в течение ряда вегетационных периодов (май–сентябрь) 1981–1984, 1988–1989, 1997 и 2010 гг. Пробная площадь размером 20×20 м была заложена в сосняке лишайниковом естественного происхождения, относящемся к V классу бонитета,

с сомкнутостью древостоя 0,57. Средний возраст деревьев составил 30 лет, высота – 5 м, диаметр – 7,3 см, запас древесины 22,8 м³ га⁻¹, текущий прирост древесины – 2,2 м³. Подлесок отсутствует, доминантами напочвенного покрова являются *Cladonia rangiferina* (L.) и *Caluna vulgaris* (L.). Почва песчаная поверхностно-подзолистая, сформировавшаяся на флювиогляциальных песках. Рельеф равнинный, микрорельеф не выражен. Основная масса корней сосредоточена на глубине 0–20 см. Уровень залегания грунтовых вод ниже 5 м [Сазонова и др., 2011].

Объектами исследования послужили деревья сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) одной возрастной группы (25–35 лет), но разной интенсивности роста: быстрорастущие деревья верхнего полога (господствующие) и медленнорастущие деревья нижнего полога (угнетенные), различающиеся по величине годовых приростов и относящиеся соответственно к II и IV классам роста и развития. Для исследования горизонтальной структуры фитоценоза при закладке пробной площади было выполнено картирование древостоя (рис. 1). В период окончания интенсивного роста (июль) проведен сплошной пересчет деревьев с измерением их высоты, диаметров кроны и ствола на высоте 0,1 и 1,3 м.

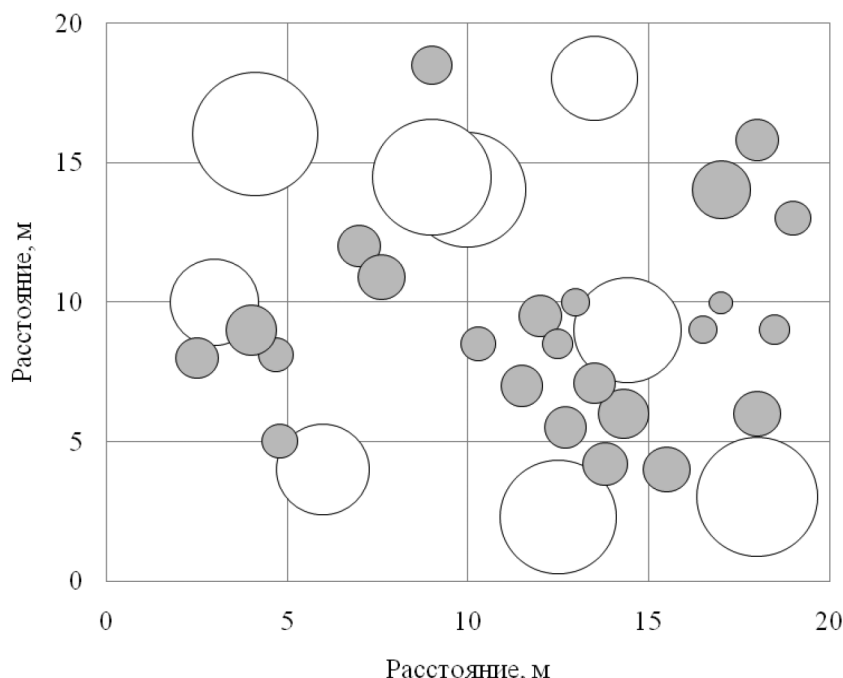


Рис. 1. Пространственное распределение угнетенных (закрашенный круг) и господствующих (незакрашенный круг) деревьев сосны обыкновенной на пробной площади сосняка лишайникового

Fig. 1. Spatial distribution of oppressed (filled circle) and dominant (open circle) Scots pine trees on a sample plot in a lichen pine forest

Функциональное состояние растений оценивали по показателям водного и минерального обменов. В качестве показателей влагообеспеченности растений использовали величины предрассветных ( $\Psi_{max}$ , МПа) и дневных ( $\Psi_{min}$ , МПа) водных потенциалов охвоенных побегов. Водные потенциалы охвоенных побегов сосны измеряли с помощью камеры давления [Сазонова и др., 2011] с точностью определения 0,05 МПа. Наблюдения проводили для 10 деревьев каждой группы роста; с каждого дерева отбирали по три побега со средней части кроны. Одновременно с измерением показателей водообмена растения проводили исследование запасов влаги в почве. Влажность почвы определяли весовым методом [Теория..., 2006]. Микрометеорологические наблюдения проводили по стандартным методикам [Сазонова и др., 2011].

Отбор ксилемного сока и однолетней хвои для анализа химического элементного состава проводили в соответствии с фенологическим развитием сосны в фазу начала роста (май), интенсивного роста (июнь), окончания роста (июль) и периода покоя (сентябрь). Для сбора ксилемного сока использовали камеру давления, конструкция которой была аналогична используемой для определения водных потенциалов побегов [Сазонова и др., 2011]. Используя сжатый азот, ступенчато повышали давление в камере, добиваясь стекания сока. Собранный ксилемный сок и хвою анализировали отдельно для каждого дерева. Определение содержания

азота (N) выполняли с помощью элементного анализатора PE-2400 (Perkin Elmer, США); калия (K) – методом атомно-эмиссионной спектроскопии на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-7000 (Shimadzu, Япония); фосфора (P) – спектрофотометрическим методом с молибденовой синью с помощью СФ-2000 («ОКБ Спектр», Россия) в трехкратной повторности.

Величину удельной листовой поверхности ( $SLA$ ,  $cm^2 g^{-1}$ ) вычисляли по отношению площади хвои к сухой массе. Площадь хвои определяли по методу Ю. Л. Цельникер [1982].

Для обработки результатов применяли методы вариационной статистики [Glantz, Slinker, 2003; Ивантер, Коросов, 2011]. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc.). На графиках и в таблице приведены средние значения и их стандартные ошибки. Разные буквы в таблице указывают на существенные различия средних значений при сравнении экспериментальных групп. Для оценки существенных различий между средними величинами использовали критерий Тьюки. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Проведенный анализ горизонтальной (рис. 1) и вертикальной (рис. 2) структуры сосняка лишайникового выявил разнородность морфометрических характеристик деревьев

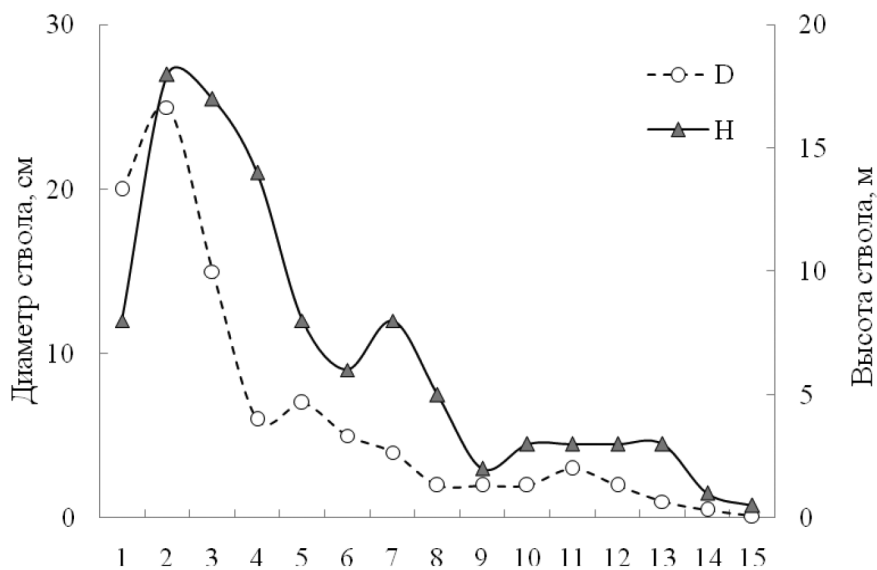


Рис. 2. Частотное распределение деревьев сосны обыкновенной по ступеням диаметра ( $D_{0,1}$ ) и высоты (H) на пробной площади сосняка лишайникового  
 Fig. 2. Frequency distribution of Scots pine trees by steps of diameter ( $D_{0,1}$ ) and height (H) on a sample plot in a lichen pine forest

сосны одного возраста и показал преобладание в древостое угнетенных деревьев с меньшей высотой и диаметром ствола по сравнению с господствующими деревьями. Значения  $SLA$  хвой господствующих ( $43,76 \pm 1,36 \text{ см}^2 \text{ г}^{-1}$ ) и угнетенных ( $63,56 \pm 1,62 \text{ см}^2 \text{ г}^{-1}$ ) деревьев также существенно различались ( $p < 0,05$ ).

В работе Н. Г. Балыкова с соавт. [1989], выполненной на тех же объектах, показано, что 85 % фитомассы соснового древостоя составляют деревья с диаметром 80–130 мм на уровне 0,1 м высоты дерева, однако их количество в 5 раз меньше числа деревьев с величиной  $D_{0,1}$  ниже 80 мм. При этом установлено сходство сроков начала процесса роста в толщину у деревьев разного жизненного состояния, однако окончание роста господствующих растений происходило на 10–15 дней позже, чем у угнетенных. Схожую закономерность отмечают и для сосновых фитоценозов разной продуктивности, когда увеличение продолжительности и интенсивности деления клеток камбия в более благоприятных эдафических условиях приводит к возрастанию годичного радиального прироста ствола [Кищенко, Вантенкова, 2014]. Средние значения массы ствола и продуктивности для господствующих ( $D_{0,1} > 80$  мм) и угнетенных ( $D_{0,1} < 80$  мм) деревьев сосны составили 10 и 0,4 кг, 0,25 и 0,013 кг в год соответственно [Балыков и др., 1989]. Важно отметить, что невысокая численность господствующих деревьев, а также их слабая сомкнутость не оказывали значительного затеняющего влияния на угнетенные деревья. Очевидно, дифференциация деревьев по жизненному состоянию в исследуемом сосняке лишайниковом обусловлена прежде всего почвенными условиями, в частности гидротермическим режимом и уровнем минерального питания.

Если по морфометрическим параметрам у растений разной жизненности отмечены существенные различия, то сравнение их физиологических показателей оказалось более сложным и зависящим в первую очередь от условий увлажнения. Наши многолетние исследования в лишайниковом типе леса позволили выделить периоды умеренного увлажнения и засухи, отличающиеся по напряженности метеоусловий [Сазонова, Придача, 2015]. При этом периоды атмосферной засухи, сопровождающиеся снижением запасов влаги в горизонтах почвы 0–50 см до 15–16 мм и более, были редкими и непродолжительными. В основном запасы общей влаги в корнеобитаемых горизонтах почвы (0–50 см) сосняка лишайникового в течение ряда вегетационных периодов превышали 28 мм, что хорошо согласуется с данными

по гидротермическому режиму почв сосновых лесов Карелии [Еруков, Власкова, 1986].

В этих условиях, используя величины  $\Psi$  охвоенных побегов как показатели водного дефицита [Kramer, Boyer, 1995], провели оценку жизненного состояния деревьев сосны. Сопоставление усредненных за вегетационный период величин  $\Psi_{max}$  и  $\Psi_{min}$  охвоенных побегов господствующих и угнетенных деревьев (табл.), полученных в условиях умеренного увлажнения, не выявило значимых различий ( $p > 0,05$ ). Этот факт свидетельствует, что формирование минимального и максимального водного дефицита, характеризуемого величинами  $\Psi_{max}$  и  $\Psi_{min}$ , не было связано с жизненным состоянием дерева, поскольку больший водный дефицит мог быть у господствующего дерева и меньший – у угнетенного, и наоборот. Ранее также отмечали [Pridacha et al., 2011; Sepúlveda, Johnstone, 2019] отсутствие тесной взаимосвязи визуально определенного жизненного состояния дерева и его физиологических характеристик. При этом диапазон варибельности  $\Psi_{max}$  ( $-0,3...-0,7$  МПа) был одинаковым для деревьев разного жизненного состояния и для данного уровня почвенной влагообеспеченности не был связан с изменениями запасов влаги в почве. Вариации  $\Psi_{max}$  были обусловлены изменениями запасов влаги в самом растении. В зависимости от погодных условий расход влаги на транспирацию, так же как и степень ее восполнения к предрассветному часу могут быть разными [Сазонова, Кайбияйнен, 1994; Сазонова и др., 2017], что и отражает в данном случае изменчивость величины  $\Psi_{max}$ . Вместе с тем сопоставление полученных величин  $\Psi_{min}$  у деревьев разной интенсивности роста с выявленной нами ранее [Сазонова и др., 2005] пороговой величиной для сосны ( $-1,15 \pm 0,11$  МПа), при которой происходит устьичное ограничение транспирации, свидетельствовало о наличии у деревьев сосны разного жизненного состояния «нормального» водного дефицита. Важно отметить, что при абсолютных значениях  $\Psi_{min}$ , превышающих пороговое, сильнее и продолжительнее будет и ограничение транспирации. Подобное явление депрессии транспирации у *Pinus sylvestris* наблюдается вплоть до снижения значений  $\Psi_{min}$  до  $-1,5$  МПа [Сазонова и др., 2017, 2019].

Для роста и развития древесного растения является важным не только наличие и доступность влаги, но и обеспеченность его элементами минерального питания [Lambers, Oliveira, 2019]. Проведенный анализ влияния жизненного состояния дерева на содержание ( $N_x$ ,  $P_x$ ,  $K_x$ ) и соотношение N:P:K в ксилемном соке

Средние за вегетацию величины показателей водного и минерального обмена деревьев сосны обыкновенной разного жизненного состояния в сосняке лишайниковом

Average values of water and mineral metabolism indices for the growing season in Scots pine trees of different vitality in a lichen pine forest

Показатель Index	Жизненное состояние дерева Tree vitality	
	Господствующее Dominant	Угнетенное Oppressed
$\Psi_{max}$ , МПа Pre-dawn water potential, МПа	$-0,47 \pm 0,03^a$	$-0,49 \pm 0,03^a$
$\Psi_{min}$ , МПа Daytime water potential, МПа	$-1,15 \pm 0,04^a$	$-1,19 \pm 0,05^a$
$N_x$ , мг л <sup>-1</sup> Nitrogen content in xylem sap, mg l <sup>-1</sup>	$31,7 \pm 1,8^a$	$30,2 \pm 1,5^a$
$P_x$ , мг л <sup>-1</sup> Phosphorus content in xylem sap, mg l <sup>-1</sup>	$10,6 \pm 0,6^a$	$10,9 \pm 0,4^a$
$K_x$ , мг л <sup>-1</sup> Potassium content in xylem sap, mg l <sup>-1</sup>	$53,4 \pm 2,9^a$	$51,0 \pm 2,6^a$
$N_{N:P:K}$ , % N of ratio N:P:K in xylem sap, %	$33 \pm 1,5^a$	$33 \pm 1,2^a$
$P_{N:P:K}$ , % P of ratio N:P:K in xylem sap, %	$11 \pm 0,8^a$	$12 \pm 0,9^a$
$K_{N:P:K}$ , % K of ratio N:P:K in xylem sap, %	$56 \pm 2,1^a$	$55 \pm 2,2^a$
$N_n$ , г м <sup>-2</sup> Nitrogen content per unit needle area, g m <sup>-2</sup>	$2,85 \pm 0,11^a$	$1,89 \pm 0,04^b$
$P_n$ , г м <sup>-2</sup> Phosphorus content per unit needle area, g m <sup>-2</sup>	$0,38 \pm 0,02^a$	$0,24 \pm 0,01^b$
$K_n$ , г м <sup>-2</sup> Potassium content per unit needle area, g m <sup>-2</sup>	$1,0 \pm 0,07^a$	$0,49 \pm 0,04^b$

Примечание. В пределах каждого показателя разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Note. Within each parameter, different letters indicate the significance of differences in average values at  $p < 0.05$ .

также показал отсутствие значимых различий ( $p > 0,5$ ) показателей, полученных в условиях умеренного увлажнения (табл.). Отмеченная нами стабилизация соотношения N:P:K в ксилемном соке растений разных групп, вероятно, свидетельствует о сбалансированности основных обменных процессов у деревьев разного жизненного состояния [Сазонова, Придача, 2002]. Ранее проведенные на этих же экспериментальных объектах исследования содержания азотных [Чернобровкина, Успенская, 1988] и углеводных [Кайбияйнен, Софронова, 2003] соединений также показали независимость их содержания от жизненного состояния дерева. Таким образом, в условиях умеренного увлажнения в сосняке лишайниковом можно отметить стабилизацию показателей минерального и водного обмена деревьев обеих групп, что свидетельствует о сходстве функционального статуса растений сосны разного габитуса.

Вместе с тем в условиях длительной засухи при снижении запасов влаги в корнеобитаемых горизонтах почвы (0–50 см) сосняка лишайникового ниже 16 мм (рис. 3) наряду с усиле-

нием дефицита доступных растениям форм элементов минерального питания [Морозова, Федорец, 1992] у угнетенных деревьев происходит большее снижение величины  $\Psi_{max}$  до  $-1,39 \pm 0,05$  МПа по сравнению с господствующими деревьями, значения  $\Psi_{max}$  которых не превышали  $-0,75$  МПа. При восполнении почвенных влагозапасов дождевыми осадками нами отмечено уменьшение водного дефицита, в частности повышение значений  $\Psi_{max}$ , как у господствующих, так и у угнетенных деревьев:  $-0,58 \pm 0,06$  и  $-0,57 \pm 0,05$  МПа соответственно [Сазонова, Придача, 2015]. Этот факт можно объяснить особенностями вертикально-фракционной структуры фитомассы угнетенных и господствующих деревьев, где у первых происходит формирование большей доли массы хвои, а у вторых – стволовой древесины в общей массе дерева [Бальков и др., 1989]. В засуху вследствие относительно большей ассимиляционной поверхности, свидетельством которой являются рассчитанные нами величины SLA, угнетенные растения испытывают и больший транспирационный расход воды,

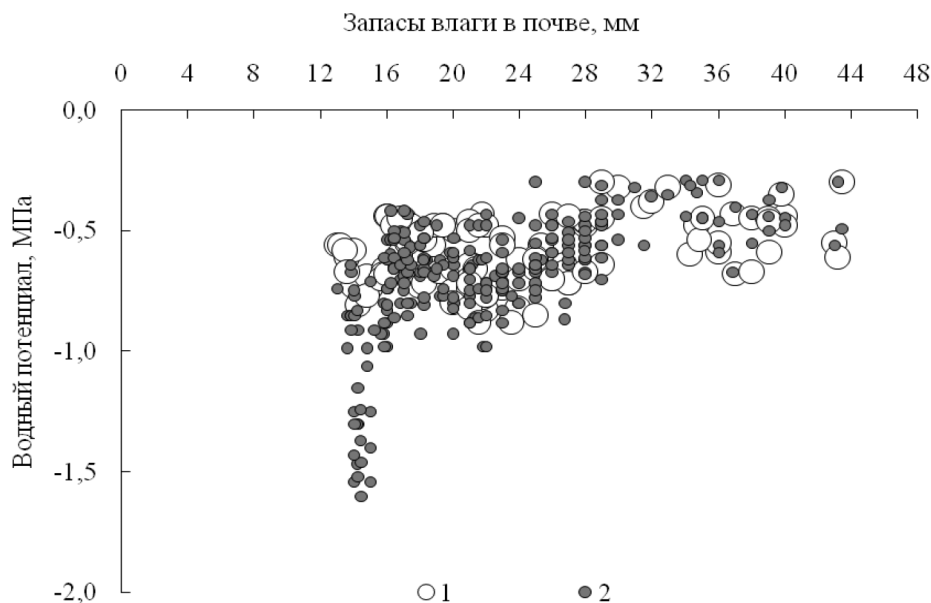


Рис. 3. Зависимость предрассветного водного потенциала ( $\Psi_{\max}$ ) охвоенных побегов господствующих (1) и угнетенных (2) деревьев сосны обыкновенной от запасов влаги в корнеобитаемых горизонтах почвы (0–50 см) сосняка лишайникового

Fig. 3. Dependence of predawn water potential ( $\Psi_{\max}$ ) of foliated shoots in the dominant (1) and oppressed (2) Scots pine trees on the moisture reserves in the root-inhabited soil horizons (0–50 cm) in a lichen pine forest

который не успевают восстановить вследствие перехвата почвенной влаги корнями господствующих деревьев. Наличие водного стресса, хоть и непродолжительного, может быть причиной замедленного роста сосен и в конечном счете низких продукционных показателей угнетенных деревьев по сравнению с господствующими растениями.

Следовательно, влияние различий в микроклиматических условиях произрастания отдельного растения в фитоценозе отражается прежде всего на его ростовой функции. Известно, что в процессе роста и развития древесных растений у них формируется сбалансированная система водного транспорта [Кайбияйнен, Хари, 1985]. Для исследуемых нами деревьев сосны показана линейная зависимость между площадью поперечного сечения заболони ствола под кроной ( $S_c$ ) и суммой площадей всех проводящих влагу корней, между  $S_c$  и суммой площадей всех проводящих влагу ветвей [Хари и др., 1985], а также между  $S_c$  и массой хвои [Кайбияйнен и др., 1986]. В условиях умеренного увлажнения удельные величины содержания  $N$ ,  $P$  и  $K$  в единице объема ксилемы, а также уровень водного дефицита ( $\Psi_{\min}$  и  $\Psi_{\max}$ ) были сходными у деревьев разного жизненного состояния. Следовательно, у растений в данных условиях среды формируется такая структура

фитомассы хвои, ветвей, стволов и корней, которую растение данного вида может обеспечить необходимым для его нормальной жизнедеятельности количеством воды и элементов минерального питания. Можно предположить, что господствующие деревья, превосходящие по морфометрическим показателям угнетенные растения, поглощают большее количество воды и элементов минерального питания в расчете на целое дерево, что и обеспечивает им возможность большего прироста фитомассы за вегетационный период. В пользу этого также указывают рассчитанные нами удельные значения содержания биогенных элементов ( $N_n$ ,  $P_n$ ,  $K_n$ ) на единицу площади ассимиляционной поверхности (табл.), которые были в 1,5–2 раза больше у господствующих деревьев, чем у угнетенных растений.

### Заключение

Дефицит ресурсов в сосняке лишайниковом, являющемся одним из наиболее бедных по содержанию минеральных элементов в почве и их доступности для растений по сравнению с другими суходольными типами леса [Морозова, Федорец, 1992], а также возникающие в отдельные периоды времени почвенные «засухи» привели к значительной дифференци-

ции деревьев сосны в древостое. В условиях умеренного увлажнения у деревьев разной интенсивности роста отмечены схожие значения показателей водного и минерального обмена. Однако в условиях дефицита почвенной влаги угнетенные растения испытывали больший водный стресс по сравнению с господствующими деревьями. Таким образом, в сосняке лишайниковом комплекс фитоценологических факторов в большей степени влияет на интенсивность ростовых процессов и их продолжительность и в меньшей степени – на показатели водного и минерального обмена деревьев сосны разной жизненности. Можно предположить, что изменение структуры фитомассы поглощающих, проводящих и ассимиляционных органов у деревьев сосны разной жизненности является адаптивной реакцией для поддержания стабильности их физиологических характеристик, что обеспечивает им устойчивое функционирование при варьировании различных условий внешней среды.

*Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при частичной финансовой поддержке РФФИ (гранты 09-04-00299-а и 13-04-00827-а).*

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

## Литература

- Балыков Н. Г., Виликайнен Л. М., Робонен Е. В., Смирнов А. В. Распределение фитомассы в сосняке лишайниковом // Лесоведение. 1989. № 6. С. 57–63.
- Габукова В. В., Ивонис И. Ю., Козлов В. А., Болондинский В. К., Софронова Г. И., Чернобровкина Н. П. Метаболизм сосны в связи с интенсивностью роста. Петрозаводск, 1991. 162 с.
- Гаель А. Г., Смирнова Л. Ф. Пески и песчаные почвы. М.: ГЕОС, 1999. 252 с.
- Еруков Г. В., Власкова Г. В. Гидротермический режим почв сосновых лесов Карелии. Л.: Наука, 1986. 111 с.
- Ивантер Э. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2011. 302 с.
- Ильинов А. А., Раевский Б. В. Состояние генофонда сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии // Сибирский лесной журнал. 2016. № 5. С. 45–54. doi: 10.15372/SJFS20160505
- Казимиров Н. И. Экологическая продуктивность сосновых лесов: математическая модель. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1995. 132 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.
- Кайбияйнен Л. К., Хари П. Сбалансированность системы водного транспорта у сосны обыкновенной. I. Пути движения влаги в ксилеме // Лесоведение. 1985. № 5. С. 23–28.
- Кайбияйнен Л. К., Хари П., Сазонова Т. А., Мякеля А. Сбалансированность системы водного транспорта у сосны обыкновенной. III. Площадь проводящей ксилемы и масса хвои // Лесоведение. 1986. № 1. С. 31–37.
- Кищенко И. Т., Вантенкова И. В. Сезонный рост хвойных лесообразующих видов в таежной зоне России (на примере Карелии). Петрозаводск: ПетрГУ, 2014. 163 с.
- Козубов Г. М., Муратова Е. Н. Современные голосеменные (морфолого-систематический обзор и кариология). Л.: Наука, 1986. 192 с.
- Морозова Р. М., Федорец Н. Г. Современные процессы почвообразования в хвойных лесах Карелии. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1992. 284 с.
- Ольчев А. В., Авилов В. К., Байбар А. С., Белотелов Н. В., Болондинский В. К., Иванов Д. Г., Кузьмина Е. В., Курбатова Ю. А., Левашова Н. Т., Мамкин В. В., Мангура П. А., Молчанов А. Г., Мухартова Ю. В., Никитин М. А., Новенко Е. Ю., Придача В. Б., Ривин Г. С., Розинкина И. А., Сазонова Т. А., Сандлерский Р. Б., Суркова Г. В., Холопцева Е. С. Леса Европейской территории России в условиях меняющегося климата. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2017. 276 с.
- Орлов А. Я., Кошельков С. П. Почвенная экология сосны. М.: Наука, 1971. 323 с.
- Придача В. Б., Сазонова Т. А. Морфофизиологическая реакция сосны обыкновенной в условиях гидролесомелиорации // Лесной журнал. 2010. № 4. С. 32–38. URL: <http://lesnoizhurnal.ru/upload/iblock/873/873b7937eb1a0eae4e092422cf7309eb.pdf> (дата обращения: 01.10.2020).
- Разнообразие биоты Карелии: условия формирования, сообщества, виды. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 2003. 262 с.
- Рысин Л. П. Биогеоценология лесов сосны обыкновенной. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2015. 303 с.
- Сазонова Т. А., Болондинский В. К., Придача В. Б. Влияние водного дефицита хвои сосны обыкновенной на фотосинтез в условиях достаточного почвенного увлажнения // Лесоведение. 2017. № 4. С. 311–318. doi: 10.7868/S0024114817040076
- Сазонова Т. А., Болондинский В. К., Придача В. Б. Сопrotивление движению влаги в проводящей системе сосны обыкновенной // Лесоведение. 2019. № 6. С. 556–566. doi: 10.1134/S0024114819060081
- Сазонова Т. А., Болондинский В. К., Придача В. Б. Эколого-физиологическая характеристика сосны обыкновенной. Петрозаводск: Verso, 2011. 207 с.
- Сазонова Т. А., Кайбияйнен Л. К. Оценка влагообеспеченности дерева по термодинамическим показателям // Лесоведение. 1994. № 4. С. 77–82.
- Сазонова Т. А., Кайбияйнен Л. К., Колосова С. В. Диагностика водного режима *Pinus sylvestris* (Pina-



сеае) // Ботанический журнал. 2005. Т. 90, № 7. С. 1012–1022.

Сазонова Т. А., Придача В. Б. Влияние влагообеспеченности песчаных почв на параметры водообмена сосны обыкновенной в Южной Карелии // Лесоведение. 2015. № 6. С. 470–477.

Сазонова Т. А., Придача В. Б. Оптимизация минерального питания хвойных растений // Агрохимия. 2002. № 2. С. 23–30.

Саковец В. И., Германова Н. И., Матюшкин В. А. Экологические аспекты гидроресомелиорации в Карелии. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 2000. 155 с.

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

Усольцев В. А. Биологическая продуктивность лесов Северной Евразии: методы, база данных и ее приложения. Екатеринбург: УрО РАН, 2007. 636 с.

Хари П., Кайбияйнен Л. К., Сазонова Т. А., Мякеля А. Сбалансированность системы водного транспорта у сосны обыкновенной. II. Активная ксилема // Лесоведение. 1985. № 5. С. 74–77.

Цельникер Ю. Л. Упрощенный метод определения поверхности хвои сосны и ели // Лесоведение. 1982. № 4. С. 85–88.

Цельникер Ю. Л., Малкина И. С., Ковалев А. Г., Чмора С. Н., Мамаев В. В., Молчанов А. Г. Рост и газообмен CO<sub>2</sub> у лесных деревьев. М.: Наука, 1993. 256 с.

Чернобровкина Н. П., Успенская Л. Н. Динамика форм азота в органах сосны обыкновенной различной интенсивности роста // Лесоведение. 1988. № 6. С. 76–79.

Allen C. D., Macalady A. K., Chenchouni H., Bachelet D., McDowell N., Vennetier M., Cobb N. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests // Forest Ecol. Manag. 2010. Vol. 259. P. 660–684. doi: 10.1016/j.foreco.2009.09.001

Dobbertin M. Tree growth as indicator of tree vitality and of tree reaction to environmental stress: a review // Eur. J. Forest Res. 2005. Vol. 124. P. 319–333. doi: 10.1007/s10342-005-0085-3

FAO. Global Forest Resources Assessment 2020 – Key findings. Rome, 2020. 16 p. doi: 10.4060/ca8753en

## References

Balykov N. G., Vilikainen L. M., Robonen E. V., Smirnov A. V. Распределение фитомассы в сосняке лишайниковом [Distribution of phytomass in pinetum cladinosum]. Лесоведение [Russ. J. Forest Sci.]. 1989. No. 6. P. 57–63.

Chernobrovkina N. P., Uspenskaya L. N. Динамика форм азота в органах сосны обыкновенной различной интенсивности роста [Dynamics of nitrogen forms in the organs of the Scots pine of different growth rates]. Лесоведение [Russ. J. Forest Sci.]. 1988. No. 6. P. 76–79.

Erukov G. V., Vlaskova G. V. Гидротермический режим почв сосновых лесов Карелии [The hydrothermic regime of pine forests in Karelia]. Leningrad: Nauka, 1986. 111 p.

Gabukova V. V., Ivonis I. Yu., Kozlov V. A., Bolondinskii V. K., Sofronova G. I., Chernobrovkina N. P. Me-

Fatichi S., Pappas C., Ivanov V. Modeling plant – water interactions: an ecohydrological overview from the cell to the global scale // WIREs Water. 2016. Vol. 3. P. 327–368. doi: 10.1002/wat2.1125

Glantz S. A., Slinker B. K. Primer of applied regression and analysis of variance. N. Y.: McGraw-Hill, 2003. P. 162–318.

IPCC Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2013. 1535 p. doi: 10.1017/CBO9781107415324

Kreuzwieser J., Gessler A. Global climate change and tree nutrition: influence of water availability // Tree Physiol. 2010. Vol. 30. P. 1221–1234. doi: 10.1093/treephys/tpq055

Kramer P. J., Boyer J. S. Water relations of plants and soils. San Diego, CA, USA: Academic Press, 1995. 495 p.

Kučera A., Samec P., Bajer A., Skene K. R., Vichita T., Vranová V., Meena R. S., Datta R. Forest soil water in landscape context // IntechOpen. 2020. doi: 10.5772/intechopen.93003

Lambers H., Oliveira R. S. Plant physiological ecology. Springer Nature Switzerland AG, 2019. 736 p. doi: 10.1007/978-3-030-29639-1

McDowell N., Pockman W. T., Allen C. D., Breshers D. D., Cobb N., Kolb T., Plaut J., Sperry J., West A., Williams D. G., Yepez E. A. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? // New Phytologist. 2008. Vol. 178. P. 719–739. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02436.x

Придача В. Б., Сазонова Т. А., Таланова Т. Ю., Олчев А. В. Морфологические ответы *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. на промышленную загрязненность в условиях северо-западной России // Russ. J. Ecol. 2011. Vol. 42. P. 22–29. doi: 10.1134/S1067413611010073

Sepúlveda P., Johnstone D. A novel way of assessing plant vitality in urban trees // Forests. 2019. Vol. 10(1). 2. doi: 10.3390/f10010002

Поступила в редакцию 12.10.2020

tabolizm sosny v svyazi s intensivnost'yu rosta [Pine metabolism in relation to growth rate]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 1991. 162 p.

Gael' A. G., Smirnova L. F. Peski i peschanye pochvy [Sands and sandy soils]. Moscow: GEOS, 1999. 252 p.

Ильин А. А., Раевский В. В. Состояние генфонды сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии [The current state of *Pinus sylvestris* L. gene pool in Karelia]. Сибирский лесной журнал. [The Siberian J. Forest Sci.]. 2016. No. 5. P. 45–54. doi: 10.15372/SJFS20160505

Ивантер Е. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию [Introduction to quantitative biology]. Petrozavodsk: PetrGU, 2011. 302 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.]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 2003. Vol. 50, no. 1. P. 136–143.

*Kaibiyainen L. K., Khari P.* Sbalansirovannost' sistemy vodnogo transporta u sosny obyknovennoi. I. Puti dvizheniya vlagi v ksileme [Balance of water transport systems in *Pinus sylvestris* L. I. Water paths in xylem]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 1985. No. 5. P. 23–28.

*Kaibiyainen L. K., Khari P., Sazonova T. A., Myakelya A.* Sbalansirovannost' sistemy vodnogo transporta u sosny obyknovennoi. III. Plushchad' provodyashchei ksilemy i massa khvoi [Balance of water transport systems in *Pinus sylvestris* L. III. The area of conductive xylem and the needle mass]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 1986. No. 1. P. 31–37.

*Kazimirov N. I.* Ekologicheskaya produktivnost' sosnovykh lesov: Matematicheskaya model' [Pine forests ecological productivity: Mathematical model]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 1995. 132 p.

*Khari P., Kaibiyainen L. K., Sazonova T. A., Myakelya A.* Sbalansirovannost' sistemy vodnogo transporta u sosny obyknovennoi. II. Aktivnaya ksilema [Balance of water transport systems in *Pinus sylvestris* L. II. Active xylem]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 1985. No. 5. P. 74–77.

*Kishchenko I. T., Vantenkova I. V.* Sezonnii rost khvoinykh lesoobrazuyushchikh vidov v taezhnoi zone Rossii (na primere Karelii) [Seasonal growth of coniferous forest-forming species in the taiga zone of Russia (by the example of Karelia)]. Petrozavodsk: PetrGU, 2014. 163 p.

*Kozubov G. M., Muratova E. N.* Sovremennye golosemnyye (morfologo-sistematicheskii obzor i kariologiya) [Modern gymnosperms (morphological-systematic review and karyology)]. Leningrad: Nauka, 1986. 192 p.

*Morozova R. M., Fedorets N. G.* Sovremennye protsessy pochvoobrazovaniya v khvoinykh lesakh Karelii [Modern processes of soil formation in the coniferous forests of Karelia]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 1992. 284 p.

*Ol'chev A. V., Avilov V. K., Baibar A. S., Belotelov N. V., Bolondinskii V. K., Ivanov D. G., Kuz'mina E. V., Kurbatova Y. A., Levashova N. T., Mamkin V. V., Mangura P. A., Molchanov A. G., Mukhartova Y. V., Nikitin M. A., Novenko E. Y., Pridacha V. B., Rivin G. S., Rozinkina I. A., Sazonova T. A., Sandler'skii R. B., Surkova G. V., Kholoptseva E. S.* Lesa Evropeiskoi territorii Rossii v usloviyakh menyayushchegosya klimata [Forests of European Russia under climate changes]. Moscow: KMK, 2017. 276 p.

*Orlov A. Ya., Koshel'kov S. P.* Pochvennaya ekologiya sosny [Soil ecology of pine]. Moscow: Nauka, 1971. 323 p.

*Pridacha V. B., Sazonova T. A.* Morfofiziologicheskaya reaktsiya sosny obyknovennoi v usloviyakh gidrolesomeliatsii [Morphological response of Scotch pine under silvicultural operations]. *Lesnoi zhurn.* [Russ. Forestry J.]. 2010. No. 4. P. 32–38. URL: <http://lesnoizhurnal.ru/upload/iblock/873/873b7937eb1a0eae4e092422cf7309eb.pdf> (accessed: 01.10.2020).

*Raznoobrazie bioty Karelii: usloviya formirovaniya, soobshchestva, vidy* [Biotic diversity of Karelia: conditions of formation, communities, and species]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 262 p.

*Rysin L. P.* Biogeotsenologiya lesov sosny obyknovennoi [Scots pine forest biogeocenology]. Moscow: KMK, 2015. 303 p.

*Sakovets V. I., Germanova N. I., Matyushkin V. A.* Ekologicheskie aspekty gidrolesomeliatsii v Karelii [Environmental aspects of hydroforestry in Karelia]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2000. 155 p.

*Sazonova T. A., Bolondinskii V. K., Pridacha V. B.* Ekologo-fiziologicheskaya kharakteristika sosny obyknovennoi [Eco-physiological characteristics of the Scots pine]. Petrozavodsk: Verso, 2011. 207 p.

*Sazonova T. A., Bolondinskii V. K., Pridacha V. B.* Soprotivlenie dvizheniyu vlagi v provodyashchei sisteme sosny obyknovennoi [Resistance to moisture transport in the conductive system of Scots pine]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 2019. No. 6. P. 556–566. doi: 10.1134/S0024114819060081

*Sazonova T. A., Bolondinskii V. K., Pridacha V. B.* Vliyanie vodnogo defitsita khvoi sosny obyknovennoi na fotosintez v usloviyakh dostatochnogo pochvennogo uvlazhneniya [The effect of water deficit in needles on photosynthesis of the Scots pine under normal soil moistening]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 2017. No. 4. P. 311–318. doi: 10.7868/S0024114817040076

*Sazonova T. A., Kaibiyainen L. K.* Otsenka vlagooobespechennosti dereva po termodinamicheskim pokazatelyam [Estimation of a tree water regime on thermodynamic parameters]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 1994. No. 4. P. 77–82.

*Sazonova T. A., Kajbiyaynen L. K., Kolosova S. V.* Diagnostika vodnogo rezhima *Pinus sylvestris* (Pinaceae) [Diagnostics of water regime of *Pinus sylvestris* (Pinaceae)]. *Bot. zhurn.* [Bot. J.]. 2005. Vol. 90, no. 7. P. 1012–1022.

*Sazonova T. A., Pridacha V. B.* Optimizatsiya mineral'nogo pitaniya khvoinykh rastenii [Optimization of the mineral nutrition in the conifers]. *Agrokhim.* [Agrochem.]. 2002. No. 2. P. 23–30.

*Sazonova T. A., Pridacha V. B.* Vliyanie vlagooobespechennosti peschanykh pochv na parametry vodoobmena sosny obyknovennoi v Yuzhnoi Karelii [The effects of moisture availability of sandy soils on water exchange of Scots pine in Southern Karelia]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 2015. No. 6. P. 470–477.

*Teoriya i praktika khimicheskogo analiza pochv* [Theory and practice of chemical analysis of soils]. Ed. L. A. Vorobyova. Moscow: GEOS, 2006. 400 p.

*Tsel'niker Yu. L.* Uproshchennyi metod opredeleeniya poverkhnosti khvoi sosny i eli [A simplified method for determination of needle surface in pine and spruce trees]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 1982. No. 4. P. 85–88.

*Tsel'niker Yu. L., Malkina I. S., Kovalev A. G., Chmora S. N., Mamaev V. V., Molchanov A. G.* Rost i gazoobmen SO<sub>2</sub> u lesnykh derev'ev [The growth and CO<sub>2</sub>-gaseous exchange in forest trees]. Moscow: Nauka, 1993. 256 p.

*Usol'tsev V. A.* Biologicheskaya produktivnost' lesov Severnoi Evrazii: metody, baza dannykh i ee prilozheniya

[Biological productivity of Northern Eurasia's forests: methods, datasets, applications]. Ekaterinburg: UrO RAN, 2007. 636 p.

Allen C. D., Macalady A. K., Chenchouni H., Bachelet D., McDowell N., Vennetier M., Cobb N. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecol. Manag.* 2010. Vol. 259. P. 660–684. doi: 10.1016/j.foreco.2009.09.001

Dobbertin M. Tree growth as indicator of tree vitality and of tree reaction to environmental stress: a review. *Eur. J. Forest Res.* 2005. Vol. 124. P. 319–333. doi: 10.1007/s10342-005-0085-3

FAO. Global Forest Resources Assessment 2020 – Key findings. Rome, 2020. 16 p. doi: 10.4060/ca8753en  
Faticchi S., Pappas C., Ivanov V. Modeling plant – water interactions: an ecohydrological overview from the cell to the global scale. *WIREs Water.* 2016. Vol. 3. P. 327–368. doi: 10.1002/wat2.1125

Glantz S. A., Slinker B. K. Primer of applied regression and analysis of variance. N. Y.: McGraw-Hill, 2003. P. 162–318.

IPCC *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press, 2013. 1535 p. doi: 10.1017/CBO9781107415324

Kramer P. J., Boyer J. S. Water relations of plants and soils. San Diego, CA, USA, 1995. 495 p.

Kreuzwieser J., Gessler A. Global climate change and tree nutrition: influence of water availability. *Tree Physiol.* 2010. Vol. 30. P. 1221–1234. doi: 10.1093/treephys/tpq055

Kučera A., Samec P., Bajer A., Skene K. R., Vich-ta T., Vranová V., Meena R. S., Datta R. Forest soil water in landscape context. *IntechOpen.* 2020. doi: 10.5772/intechopen.93003

Lambers H., Oliveira R. S. Plant physiological ecology. Springer Nature Switzerland AG, 2019. 736 p. doi: 10.1007/978-3-030-29639-1

McDowell N., Pockman W. T., Allen C. D., Breshers D. D., Cobb N., Kolb T., Plaut J., Sperry J., West A., Williams D. G., Yezpe E. A. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist.* 2008. Vol. 178. P. 719–739. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02436.x

Pridacha V. B., Sazonova T. A., Talanova T. Yu., Olchev A. V. Morphophysiological responses of *Pinus sylvestris* L. and *Picea obovata* Ledeb. to industrial pollution under conditions of northwestern Russia. *Russ. J. Ecol.* 2011. Vol. 42. P. 22–29. doi: 10.1134/S1067413611010073

Sepúlveda P., Johnstone D. A novel way of assessing plant vitality in urban trees. *Forests.* 2019. Vol. 10(1). 2. doi: 10.3390/f10010002

Received October 12, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Сазонова Татьяна Аркадьевна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.  
Институт леса КарНЦ 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

### 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

## CONTRIBUTORS:

### 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

### 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

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.1

### **О ЗАВИСИМОСТИ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА КРАТКОВРЕМЕННЫЕ ЕЖЕСУТОЧНЫЕ Понижения ТЕМПЕРАТУРЫ ОТ ФОТОПЕРИОДА И ПРИНАДЛЕЖНОСТИ К ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ГРУППЕ**

**Т. Г. Шибаета, А. Ф. Титов**

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

В работе обобщены и систематизированы собственные и литературные данные, позволяющие судить о наличии или отсутствии зависимости реакции растений на кратковременные ежесуточные понижения температуры (дроп-воздействия) от фотопериода и принадлежности к фотопериодической группе (длиннодневные, фотопериодически нейтральные и короткодневные). Применение дроп-воздействий является одним из альтернативных применению ретардантов способов управления ростом растений с целью получения более компактных форм при выращивании овощных и цветочных (горшечных и клумбовых) культур. Ранее считалось, что длиннодневные растения являются менее отзывчивыми на дроп-воздействия, чем короткодневные. Однако на основании анализа имеющихся данных сделан вывод, что реакция растений на дроп-воздействия не зависит от их принадлежности к определенной фотопериодической группе. Прежде всего она определяется условиями проведения опыта, а именно продолжительностью фотопериода. В частности, наибольший эффект дроп-воздействий на компактность растений проявляется в условиях короткого фотопериода. С увеличением фотопериода эффект дроп-воздействий ослабевает или вообще отсутствует. Для проявления эффекта дроп-воздействий в условиях длинных фотопериодов, как правило, требуются более длительные низкотемпературные воздействия. Предполагается, что это связано с усилением синтеза гиббереллинов при увеличении фотопериода, свойственным растениям всех фотопериодических групп.

**Ключевые слова:** низкая температура; фотопериод; длиннодневные и короткодневные растения.

#### **T. G. Shibaeva, A. F. Titov. PLANT RESPONSES TO A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP: EFFECT OF PHOTOPERIOD AND COMPARISON OF PLANTS FROM DIFFERENT PHOTOPERIODIC GROUPS**

The paper summarizes and systematizes authors' own and literary data indicating whether or not the plant response to short-term daily temperature drops depends on the photo-

period and photoperiodic group (long-day, neutral, and short-day plants). A daily short-term temperature drop is used as an alternative to the growth retardants method of plant height control to produce compact vegetable and bedding transplants and ornamental plants. It was previously thought that long-day plants are less responsive to a temperature drop than short-day plants. Based on the analysis of the available data, it was concluded that plant response to a temperature drop does not depend on their belonging to a certain photoperiodic group, but is primarily determined by the conditions of the experiment, namely, the duration of the photoperiod. In particular, the greatest morphogenic effect of a temperature drop is manifested in a short photoperiod. As the photoperiod increases, the effect of a temperature drop gets weaker or is absent. For the effects of a temperature drop to be manifested under long photoperiods, longer temperature decreases are usually required. This is probably due to increased synthesis of gibberellins with an increase in photoperiod, which is characteristic of plants of all photoperiodic groups.

**Key words:** low temperature; photoperiod; long-day plants; short-day plants.

## Введение

Одним из альтернативных применению ретардантов способов управления ростом растений с целью получения более компактных форм при выращивании овощных и цветочных (горшечных и клумбовых) культур является применение кратковременных ежесуточных понижений температуры (дроп-воздействия, от англ. *drop* – падение) [Myster, Moe, 1995; Runcle, 2009; Bergstrand, 2017]. В многочисленных работах показано, что дроп-воздействия оказывают влияние на габитус растений в условиях разных фотопериодов (короткого, нейтрального и длинного) [Mortensen, Moe, 1992a; Ueber, Hendriks, 1992; Moe et al., 1995; Спиридонова и др., 2010]. В то же время эксперименты, проведенные с более чем двадцатью различными видами и сортами растений, указывают на то, что эффективность дроп-воздействий в плане торможения линейного роста может зависеть от продолжительности фотопериода [Myster, Moe, 1995]. Однако результаты работ по изучению влияния переменных температур в условиях разных фотопериодов трудно сопоставлять из-за разных параметров дроп-воздействий (продолжительность, интенсивность, время суток).

Обобщая данные о критической длине дня для инициации цветения при разных температурах, еще в 1960 г. было высказано предположение, что в своем влиянии на фотопериодизм высокие температуры эквивалентны свету, а низкие – темноте [Schwemmler, 1960]. Это предположение до сих пор вызывает дискуссии, однако несомненно то, что высокие и низкие температуры способны оказывать значительное влияние на темновые и светозависимые процессы, участвующие в фотопериодической реакции растений, а степень их влияния зависит от многих факторов – интенсивности температуры и продолжительности ее дейст-

вия, вида растения, продолжительности фотопериода и др. Нужно отметить, что под фотопериодическим контролем находится не только переход растений к цветению, но и многие другие процессы, например, рост стебля в длину, формирование листовой пластинки, ветвление, синтез пигментов, клубнеобразование, половое созревание [Hillman, 1962].

Результаты, полученные в ряде работ с растениями, принадлежащими к разным фотопериодическим группам, показывают, что дроп-воздействия влияют, хотя и в разной степени, на габитус растений, приводя к образованию более компактной формы как у длиннодневных (ДДР), так и у фотопериодически нейтральных (НДР) и короткодневных (КДР) растений [Cuijpers, Vogelesang, 1992; Moe, Mortensen, 1992; Grindal, Moe, 1994; Cockshull et al., 1995; Moe et al., 1995]. Хотя имеется и другая точка зрения, согласно которой ДДР являются менее отзывчивыми на дроп-воздействия, чем КДР [Mortensen, Moe, 1992a; Moe et al., 1995].

В связи с вышеизложенным цель данной работы заключалась в обобщении и систематизации имеющихся собственных и литературных данных с целью выявления: а) влияния фотопериода на реакцию растений на дроп-воздействия и б) особенностей реакции растений, принадлежащих к разным фотопериодическим группам, на дроп-воздействия в условиях разных фотопериодов.

## Влияние фотопериода на реакцию растений на дроп-воздействия

Опыты, проведенные на растениях огурца (*Cucumis sativus* L.) в условиях разных фотопериодов (8, 12 и 16 ч с сохранением интеграла дневного освещения), показали, что 2-часовые дроп-воздействия (12 °С) в конце ночи вызывают уменьшение линейных размеров растений

при любом фотопериоде [Sysoeva et al., 1999]. Однако при увеличении продолжительности фотопериода с 8 до 12 и 16 ч эффективность 2-часовых воздействий снижалась и более эффективными для получения компактных растений оказались 6-часовые дроп-воздействия. Влияние 2- и 6-часовых дроп-воздействий (12 °С) в условиях фотопериодов 8, 12, 16 и 24 ч на бутонизацию и цветение петунии (*Petunia × hybrida*) и бархатцев (*Tagetes erecta* L.) показали, что дроп-воздействия значительно ускоряют развитие растений в условиях короткого фотопериода, но с увеличением его продолжительности (с 8 до 16 ч) этот эффект снижается, а при 24-часовом фотопериоде отсутствует [Спиридонова и др., 2010]. Результаты опытов, проведенных с растениями огурца, баклажана (*Solanum melongena* L.), сладкого перца (*Capsicum annuum* L.) и томата (*Solanum lycopersicum* L.) в условиях двух длинных фотопериодов (16 и 24 ч), также показали, что влияние 2-часовых дроп-воздействий (10 °С) на линейные размеры и накопление биомассы растений было менее выраженным при более длительном фотопериоде [Шиббаева, 2019].

Таким образом, из анализа имеющихся работ можно заключить, что в условиях длинных фотопериодов влияние дроп-воздействий на линейные размеры растений менее выражено или вообще отсутствует по сравнению с короткими фотопериодами. При увеличении длительности фотопериода для получения компактных растений требуются более продолжительные дроп-воздействия. Вероятно, это связано с участием гиббереллинов (ГА) в реакции растений на дроп-воздействия [Myster et al., 1997; Grindal et al., 1998]. Судя по имеющимся данным, градиент температур оказывает влияние на синтез ГА или на чувствительность тканей к ГА, что может приводить к изменениям длины стебля [Erwin et al., 1989; Moe et al., 1991], в частности, за счет блокирования синтеза на этапе превращения ГА<sub>19</sub> в ГА<sub>20</sub>, контролируемое ГА<sub>19</sub>-оксидазой [Langton, Cockshull, 1997]. Это превращение зависит от интенсивности света и продолжительности светового периода [Zeevaart et al., 1991]. Увеличение фотопериода приводит к усилению синтеза ГА, причем как у короткодневных [Oden, Heide, 1989], так и у длиннодневных [Zeevaart et al., 1991] растений. Можно предположить, что дроп-воздействия в сочетании с коротким фотопериодом приводят к снижению содержания биоактивных ГА, что приводит к снижению скорости роста стебля, а для получения такого эффекта при длинном фотопериоде требуется более продолжительное низкотемпературное воздействие.

## Реакция на дроп-воздействия растений разных фотопериодических групп

Результаты опытов, проведенных с растениями разных фотопериодических групп (КДР хризантема *Chrysanthemum carinatum* Schoubs, НДР бархатцы *Tagetes erecta* и ДДР петуния *Petunia × hybrida*) в условиях разных (8, 12 и 16 ч) фотопериодов [Спиридонова и др., 2010; Марковская и др., 2013], не выявили определенной закономерности в реакции растений на дроп-воздействия в зависимости от их принадлежности к той или иной фотопериодической группе.

На основании относительно немногочисленных экспериментов, проведенных в разных условиях, ранее был сделан вывод, что длиннодневные растения менее отзывчивы на дроп-воздействия, чем короткодневные [Mortensen, Moe, 1992a; Moe et al., 1995]. Анализ литературы по влиянию дроп-воздействий на растения, принадлежащие к разным фотопериодическим группам, показывает, что меньшая отзывчивость ДДР на дроп-воздействия, возможно, связана не с их принадлежностью к фотопериодической группе, а с условиями проведения экспериментов. Так, в большинстве опытов (табл.) КДР выращивали и подвергали дроп-воздействиям в условиях короткого дня [Moe, Mortensen, 1992; Moe et al., 1992; Ueber, Hendriks, 1992, 1997; Bakken, Moe, 1995; Vogelezang, 1997], а ДДР – в условиях длинного дня [Cuijpers, Vogelezang, 1992; Moe et al., 1992; Mortensen, Moe, 1992a, b; Tutty et al., 1994; Cockshull et al., 1995; Ihlebek et al., 1995]. Однако известно, что фотопериод влияет на реакцию растений на дроп-воздействия таким образом, что увеличение фотопериода приводит к усилению синтеза гиббереллинов, тем самым нивелируя реакцию на дроп-воздействия у растений всех фотопериодических групп. Примером подтверждения предположения о том, что меньшая реакция ДДР на дроп-воздействия связана не с их принадлежностью к фотопериодической группе, а с условиями проведения опытов в условиях длинного дня, служат результаты опытов с КДР пуансеттией (*Euphorbia pulcherrima* Willd.), хризантемой (*Chrysanthemum* L.) и бегонией (*Begonia × tuberhybrida pendula*), которые в условиях нейтрального или длинного фотопериода показали отсутствие у них типичной реакции на дроп-воздействия (табл.). Кроме того, и отсутствие реакции у КДР каланхоэ (*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln.) и бальзамина (*Impatiens shawkeri* W. Bull) на дроп-воздействия [Mortensen, Moe, 1992a, b], скорее всего, объясняется тем, что опыты проводились в условиях длинного (16 ч)

Влияние дроп-воздействий\* на рост растений разных фотопериодических групп

Effect of a temperature drop\* on the growth of plants from different photoperiodic groups

Вид растения Plant species	КД/ДД**	Эффекты Effect	Автор(ы) Author(s)
<i>Короткодневные растения</i> <i>Short-day plants</i>			
<i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzseh	КД	Уменьшение высоты растения и длины черешков Decrease in plant height and petiole length	Moe, Mortensen, 1992; Moe et al., 1992; Ueber, Hendriks, 1992, 1997
	ДД	Отсутствуют None	Cockshull et al., 1995
<i>Begonia × hiemalis</i> Fortsch	КД	Уменьшение высоты растения, длины черешков и цветоносов Decrease in plant height, length of petioles and flower stalks	Moe, Mortensen, 1992; Bakken, Moe, 1995; Vogelezang, 1997
<i>Begonia × tuberhybrida pendula</i>	ДД	Слабый эффект на высоту растения Weak effect on plant height	Mortensen, Moe, 1992a
<i>Chrysanthemum</i> L. sp.	ДД	Слабый эффект на высоту растения Weak effect on plant height	Cuijpers, Vogelezang, 1992; Tutty et al., 1994; Cockshull et al., 1995
<i>Impatiens hawker</i> W. Bull	ДД	Отсутствуют None	Mortensen, Moe, 1992a; Moe et al., 1992
<i>Kalanchoe blossfeldiana</i> Poelln.	ДД	Увеличение длины стебля и цветоносов Increase in the length of the stem and flower stalks	Mortensen, Moe, 1992b
<i>Нейтральнодневные растения</i> <i>Day-neutral plants</i>			
<i>Cucumis sativus</i> L.	КД,	Уменьшение высоты растения и длины черешков Decrease in plant height and petiole length	Grimstad, 1993, 1995; Sysoeva et al., 1997, 1999; Марковская и др., 2013/ Markovskaya et al., 2013
<i>Pisum sativum</i> L.	КД	Уменьшение высоты растения Decrease in plant height	Stavang et al., 2007
<i>Pelargonium</i> L'Chér ex Ait.	ДД	Слабый эффект на высоту растения Weak effect on plant height	Mortensen, Moe, 1992a; Moe et al., 1992
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	ДД	Уменьшение высоты растения и длины черешков Decrease in plant height and petiole length	Grimstad, 1993, 1995; Шибеева и др., 2020 / Shibaeva et al., 2020
<i>Длиннодневные растения</i> <i>Long-day plants</i>			
<i>Fuchsia × hybrida</i> Hort. ex Vilm.	КД	Уменьшение высоты растения Decrease in plant height	Mortensen, Moe, 1992a; Vogelezang, 1997
<i>Campanula isophylla</i> Moretti	ДД	Слабый эффект на высоту растения Weak effect on plant height	Ihlebekk et al., 1995
<i>Melissa officinalis</i> L.	ДД	Слабый эффект на высоту растения Weak effect on plant height	Moe et al., 1992
<i>Petunia × hybrida</i>	ДД	Отсутствуют None	Mortensen, Moe, 1992a Moe et al., 1992
<i>Salvia splendens</i> Selloe ex Schult.	ДД	Отсутствуют None	Mortensen, Moe, 1992a
<i>Tagetes patula</i> L.	ДД	Отсутствуют None	Mortensen, Moe, 1992a
<i>Verbena elegans</i> Kunth	ДД	Отсутствуют None	Moe et al., 1992

Примечание. \*Продолжительность дроп-воздействий от 1,5 до 6 ч, снижение температуры на 6–10 °С. \*\*КД – короткий день, ДД – длинный день.

Note. \*Duration of the drop impact from 1.5 to 6 hours, temperature decrease by 6–10 °С. \*\*КД – short day, ДД – long day.

фотопериода. У ДДР фуксии (*Fuchsia* × *hybrid* Hort. ex Vilm.) при коротком и нейтральном фотопериоде дроп-воздействия приводили к уменьшению высоты растения [Mortensen, Moe, 1992a; Vogelezang, 1997]. Во всех остальных известных случаях ДДР подвергались дроп-воздействиям в условиях длинного дня и эффекты не наблюдались (табл.), на основании чего сделан вывод об их меньшей чувствительности к дроп-воздействиям.

Изучение динамики удлинения стебля в дневное и ночное время в условиях короткого и длинного дня показало, что она может существенно различаться у разных видов растений, но это тоже не связано с их принадлежностью к определенной фотопериодической группе [Bertram, Karlsen, 1994]. Очевидно, в реакции растений на дроп-воздействия значительную роль может играть и видоспецифичность, не связанная с принадлежностью растения к той или иной фотопериодической группе.

## Заключение

Анализ результатов опытов, проведенных разными авторами с растениями разных фотопериодических групп (короткодневными, нейтральными и длиннодневными) в условиях разных фотопериодов, позволяет заключить, что реакция растений на дроп-воздействия не зависит от их принадлежности к определенной фотопериодической группе, а прежде всего определяется условиями проведения опыта, а именно продолжительностью фотопериода. Наибольший эффект дроп-воздействий на компактность растений проявляется в условиях короткого фотопериода. С увеличением фотопериода эффект дроп-воздействий ослабевает или вообще отсутствует. Для проявления эффекта дроп-воздействий в условиях длинных фотопериодов, как правило, требуются более длительные низкотемпературные воздействия. Вероятно, это связано с усилением синтеза гиббереллинов при увеличении фотопериода, что свойственно растениям всех фотопериодических групп.

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) и при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00840а).

## Литература

Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Кратковременная гипотермия и растение. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 194 с.

Спиридонова Е. А., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры и фотопериода на развитие декоративных растений // Ученые записки ПетрГУ. 2010. № 4(109). С. 18–21.

Шibaева Т. Г., Шерудило Е. Г., Титов А. Ф. Реакции растений на кратковременные ежесуточные понижения температуры в разное время дня и ночи // Труды КарНЦ РАН. 2020. № 3. С. 60–71. doi: 10.17076/eb1088

Шibaева Т. Г. Реакция растений на кратковременные ежесуточные понижения температуры: феноменология и физиологические механизмы: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2019. 32 с.

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.

Bergstrand K.-J. I. Methods for growth regulation of greenhouse produced ornamental pot- and bedding plants – a current review // Folia Hort. 2017. Vol. 29, no. 1. P. 63–74. doi: 10.1515/fhort-2017-0007

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

Cockshull K. E., Langton F. A., Cave C. R. J. Differential effects of different DIF treatments on chrysanthemum and poinsettia // Acta Hort. 1995. Vol. 378. P. 15–25. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.1

Cuijpers L. H. M., Vogelezang 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., Heins R. D., Karlsson M. G. Thermomorphogenesis in *Lilium longiflorum* // Am. J. Bot. 1989. Vol. 76. P. 47–52. doi: 10.1002/j.1537-2197.1989.tb11283.x

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., Ernstsena A., Reid J. B., Junttila O., Lindgard B., Moe R. Endogenous gibberellin A1 levels control thermoperiodic stem elongation in *Pisum sativum* // Physiol. plant. 1998. Vol. 102. P. 523–531. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1020406.x

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

Ihlebekk H., Eilertsen S., Junttila O., Grindal G., Moe R. Control of plant height in *Campanula isophylla* by temperature alternations; involvement of GAS // Acta Hort. 1995. Vol. 394. P. 347–355. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.394.38

Hillman W. S. Experimental control of flowering in *Lemna*. IV. Inhibition of photoperiodic sensitivity by copper // Amer. J. Bot. 1962. Vol. 49, no. 8. P. 892–897. doi: 10.1002/j.1537-2197.1962.tb15026.x

Langton F. A., Cockshull K. E. Is stem extension determined by DIF or by absolute day and night temperature? // Sci. Hortic. 1997. Vol. 69. P. 229–237. doi: 10.1016/S0304-4238(97)00020-4

Moe R., Heins R. D., Erwin J. E. Effect of day and night temperature alterations, and plant growth regulators on stem elongation and flowering of the long-day plant *Campanula isophylla* Morettii // Sci. Hort. 1991. Vol. 48. P. 141–151. doi: 10.1016/0304-4238(90)90100-S

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

Moe R., Willumsen K., Ihlebekk I. H., Stupa A. I., Glomsrud N. M., Mortensen L. M. DIF and temperature drop responses in SDP and LDP, a comparison // Acta Hort. 1995. Vol. 378. P. 27–33. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.2

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. 1992a. Vol. 327. P. 77–86. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.9

Mortensen L. M., Moe R. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment and different day/night, temperature combinations on growth and flowering of *Rosa* L. and *Kalanchoe blossfeldiana* v. Poelln. // Sci. Hortic. 1992b. Vol. 51. P. 145–153. doi: 10.1016/0304-4238(92)90113-Q

Myster J., Junttila O., Lindgerd B., Moe R. Temperature alternations and the influence of gibberellins and indoleacetic acid on elongation growth and flowering of *Begonia x hiemalis* Fotsch // Plant Growth Regul. 1997. Vol. 21. P. 135–144.

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

Oden P. C., Heide O. M. Quantification of gibberellins and indoleacetic acid in *Begonia* leaves: Relationship with environment, regeneration and flowering // Physiol. Plant. 1989. Vol. 76, no. 4. P. 500–506. doi: 10.1111/j.1399-3054.1989.tb05469.x

Runcl E. Controlling height with temperature drops // Greenhouse Product News. 2009. April. P. 50.

Schwemmler B. Thermoperiodic effects and circadian rhythms in flowering of plants // Cold Spring-Harbor Symp. Quant. Biol. 1960. Vol. 25. P. 239–243. doi: 10.1101/sqb.1960.025.01.024

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

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

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. Effect of a short duration temperature drop on water status and elongation growth of ornamental plants // Acta Hort. 1997. Vol. 435. P. 25–32. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.435.1

Vogelezang J. V. M. The timing of low temperature treatments on stem elongation as affected by lighting strategies // Acta Hort. 1997. Vol. 435. P. 47–56. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.435.3

Zeevaart J. A. D., Talon M., Wilson T. M. Stem Growth and Gibberellin Metabolism in Spinach in Relation to Photoperiod. In: Gibberellins / Eds. N. Takahashi, B. O. Phinney, J. MacMillan. Springer-Verlag, 1991. P. 273–279.

Поступила в редакцию 29.06.2020

## References

Markovskaya E. F., Sysoeva M. I., Sherudilo E. G. *Kratkovremennaya gipotermiya i rastenie* [Short-term hypothermia and plants]. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2013. 194 p.

Shibaeva T. G., Sherudilo E. G., Titov A. F. *Reaktsii rastenii na kratkovremennye ezhesutochnye ponizheniya temperatury v raznoe vremya dnya i nochi* [Plant responses to a short-term daily temperature drop at different times of the day and night]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2020. No. 3. P. 60–71. doi: 10.17076/eb1088

Shibaeva T. G. *Reaktsiya rastenii na kratkovremennye ezhesutochnye ponizheniya temperatury: fenomenologiya i fiziologicheskie mekhanizmy* [Plant responses to a short-term daily temperature drop: phenomenology and physiological mechanisms]: Summary DSc (Dr. of Biol.) thesis. St. Petersburg, 2019. 32 p.

Spiridonova E. A., Sysoeva M. I., Sherudilo E. G. *Vliyanie ezhesutochnykh kratkovremennykh snizhenii temperatury i fotoperioda na razvitie dekorativnykh rastenii* [Effects of a short-term daily temperature drop

- on ornamental plants development]. *Uchenye zapiski PetrGU* [Proceed. Petrozavodsk St. Univ.]. 2010. No. 4(109). P. 18–21.
- 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.
- Bergstrand K.-J. I. Methods for growth regulation of greenhouse produced ornamental pot- and bedding plants – a current review. *Folia Hort.* 2017. Vol. 29, no. 1. P. 63–74. doi: 10.1515/fhort-2017-0007
- 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
- Cockshull K. E., Langton F. A., Cave C. R. J. Differential effects of different DIF treatments on chrysanthemum and poinsettia. *Acta Hort.* 1995. Vol. 378. P. 15–25. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.1
- Cuijpers L. H. M., Voegelezang 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., Heins R. D., Karlsson M. G. Thermomorphogenesis in *Lilium longiflorum*. *Am. J. Bot.* 1989. Vol. 76. P. 47–52. doi: 10.1002/j.1537-2197.1989.tb11283.x
- 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., Ernstsén A., Reid J. B., Junttila O., Lindgard B., Moe R. Endogenous gibberellin A1 levels control thermoperiodic stem elongation in *Pisum sativum*. *Physiol. plant.* 1998. Vol. 102. P. 523–531. doi: 10.1034/j.1399-3054.1998.1020406.x
- Grindal G., Moe R. Effects of temperature-drop and a short dark interruption on stem elongation and flowering in *Begonia x hiemalis* Fotsch. *Sci. Hort.* 1994. Vol. 57. P. 123–132. doi: 10.1016/0304-4238(94)90040-X
- Ihlebekk H., Eilertsen S., Junttila O., Grindal G., Moe R. Control of plant height in *Campanula isophylla* by temperature alternations; involvement of GAS. *Acta Hort.* 1995. Vol. 394. P. 347–355. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.394.38
- Hillman W. S. Experimental control of flowering in *Lemna*. IV. Inhibition of photoperiodic sensitivity by copper. *Amer. J. Bot.* 1962. Vol. 49, no. 8. P. 892–897. doi: 10.1002/j.1537-2197.1962.tb15026.x
- Langton F. A., Cockshull K. E. Is stem extension determined by DIF or by absolute day and night temperature? *Sci. Hort.* 1997. Vol. 69. P. 229–237. doi: 10.1016/S0304-4238(97)00020-4
- Moe R., Heins R. D., Erwin J. E. Effect of day and night temperature alterations, and plant growth regulators on stem elongation and flowering of the long-day plant *Campanula isophylla* Morettii. *Sci. Hort.* 1991. Vol. 48. P. 141–151. doi: 10.1016/0304-4238(90)90100-S
- 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
- Moe R., Willumsen K., Ihlebekk I. H., Stupa A. I., Glomsrud N. M., Mortensen L. M. DIF and temperature drop responses in SDP and LDP, a comparison. *Acta Hort.* 1995. Vol. 378. P. 27–33. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.2
- 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.* 1992a. Vol. 327. P. 77–86. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.9
- Mortensen L. M., Moe R. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment and different day/night, temperature combinations on growth and flowering of *Rosa L.* and *Kalanchoe blossfeldiana* v. Poelln. *Sci. Hort.* 1992b. Vol. 51. P. 145–153. doi: 10.1016/0304-4238(92)90113-Q
- Myster J., Junttila O., Lindgerd B., Moe R. Temperature alternations and the influence of gibberellins and indoleacetic acid on elongation growth and flowering of *Begonia x hiemalis* Fotsch. *Plant Growth Regul.* 1997. Vol. 21. P. 135–144.
- 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
- Oden P. C., Heide O. M. Quantification of gibberellins and indoleacetic acid in *Begonia* leaves: Relationship with environment, regeneration and flowering. *Physiol. Plant.* 1989. Vol. 76, no. 4. P. 500–506. doi: 10.1111/j.1399-3054.1989.tb05469.x
- Runcle E. Controlling height with temperature drops. *Greenhouse Product News.* 2009. April. P. 50.
- Schwemmler B. Thermoperiodic effects and circadian rhythms in flowering of plants. *Cold Spring-Harbor Symp. Quant. Biol.* 1960. Vol. 25. P. 239–243. doi: 10.1101/sqb.1960.025.01.024
- 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
- 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
- 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 flo-

wering of *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch. *Acta Hortic.* 1992. Vol. 327. P. 33–40. doi: 10.17660/ActaHortic.1992.327.4

Ueber E., Hendriks L. Effect of a short duration temperature drop on water status and elongation growth of ornamental plants. *Acta Hortic.* 1997. Vol. 435. P. 25–32. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.435.1

Vogelezang J. V. M. The timing of low temperature treatments on stem elongation as affected by lighting

strategies. *Acta Hortic.* 1997. Vol. 435. P. 47–56. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.435.3

Zeevaart J. A. D., Talon M., Wilson T. M. Stem Growth and Gibberellin Metabolism in Spinach in Relation to Photoperiod. In: Gibberellins. Eds. N. Takahashi, B. O. Phinney, J. MacMillan. Springer-Verlag, 1991. P. 273–279.

Received June 29, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Шибалева Татьяна Геннадиевна

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

### 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

### 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 581.1

## ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ЦИНКА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Н. М. Казнина, Ю. В. Батова, Г. Ф. Лайдинен, А. Ф. Титов

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

В условиях контролируемой среды изучено влияние дефицита цинка на некоторые показатели роста и фотосинтетического аппарата (ФСА) 7-дневных проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Показано, что на ранних фазах развития недостаток цинка в корнеобитаемой среде не влияет явным образом на высоту и накопление сухой биомассы побега растений, однако оказывает негативное воздействие на ряд показателей ФСА. В частности, у проростков уменьшалась площадь листовой пластинки 1-го листа, снижались количество фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) и устьичная проводимость. Вместе с тем при дефиците микроэлемента отмечено перераспределение хлорофиллов в сторону светособирающих комплексов фотосистем (ССК), направленное на усиление светопоглощения. Достоверных же изменений соотношения хлорофиллов ( $a/b$ ) и активности фотосистемы II (ФС II), определяемой по показателю  $Fv/Fm$ , характеризующему потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФС II, не обнаружено. Кроме того, у проростков, испытывающих дефицит цинка, на высоком уровне поддерживалась скорость фотосинтеза, а также сохранялась целостность клеточных мембран, что во многом обеспечивало их нормальный рост и накопление сухой биомассы. Высказано предположение, что отрицательное влияние дефицита цинка на ряд показателей ФСА у проростков может в дальнейшем являться одной из причин указанного в литературе снижения семенной продуктивности пшеницы в этих условиях.

Ключевые слова: озимая пшеница; дефицит цинка; фотосинтетический аппарат; высота побега; биомасса побега.

### **N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, G. F. Laidinen, A. F. Titov. EFFECT OF ZINC DEFICIENCY ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WINTER WHEAT SEEDLINGS**

The effect of zinc deficiency on the photosynthetic apparatus (PSA) of 7-day-old winter wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) cv. Moskovskaya 39 was studied in a controlled environment. It was shown that in the early phases of seedling development, the lack of zinc in the root environment did not have a tangible effect on shoot height and accumulation of dry biomass, but negatively affected a number of PSA parameters. In particular, the 1<sup>st</sup> leaf area, the content of photosynthetic pigments (chlorophylls and carotenoids), and stomatal conductance decreased. At the same time, where the micronutrient was in deficit, chlorophylls were redistributed towards the light-harvesting complexes (LHC) of photosystems to promote light absorption. No significant changes were found in the ratio of chlorophylls ( $a/b$ ) and the photosystem II (PS II) activity determined from the parameter  $Fv/Fm$ , which characterizes the potential quantum yield of PS II photochemical

activity. In addition, the rate of photosynthesis was maintained at a high level in seedlings deficient in zinc, and the integrity of cell membranes was maintained, which largely ensured their normal growth and accumulation of dry biomass. It is hypothesized that the negative effect of zinc deficiency on a number of PSA parameters in seedlings may subsequently be one of the reasons for the decrease in wheat seed productivity reported in the literature under these conditions.

**Key words:** winter wheat; zinc deficiency; photosynthetic apparatus; shoot height; shoot biomass.

## Введение

Пшеница является одной из важнейших продовольственных культур во многих странах мира. В настоящее время ее посевы занимают свыше 200 миллионов гектаров сельскохозяйственных площадей, находящихся в разных природно-климатических условиях [Филипс, Нортон, 2012]. Неслучайно современные сорта и гибридные линии пшеницы характеризуются не только высокой продуктивностью, но и обладают высоким адаптивным потенциалом. Вместе с тем отмечается, что среди зерновых злаков именно пшеница наиболее требовательна к условиям минерального питания и недостаток макро- и микроэлементов в почве приводит к снижению ее продуктивности и значительным потерям урожая [Агафонов и др., 2012].

В настоящее время обнаружено, что самым распространенным и наиболее опасным для растений нарушением микроэлементного состава почвы является недостаток в ней цинка, связанный с многоплановой ролью этого микроэлемента в клеточном метаболизме [Marschner, 1995; Hänsch, Mendel, 2009]. У злаков дефицит цинка в почве вызывает целый ряд изменений в фотосинтетическом аппарате (ФСА), в том числе редукцию хлоропластов, снижение содержания фотосинтетических пигментов, нарушение работы устьичного аппарата, замедление скорости фотосинтеза [Hajiboland, Beiramzadeh, 2008; Chen et al., 2008; Höller et al., 2014]. Однако указанные признаки дефицита цинка обнаруживаются, как правило, только в фазы кущения или выхода в трубку [Alloway, 2004; Höller et al., 2014]. Поэтому большинство имеющихся экспериментальных данных, касающихся влияния недостатка цинка на ФСА, получено именно в эти фазы онтогенеза. Вместе с тем известно, что габитус растения и его продуктивность во многом зависят от активности ФСА на более ранних фазах развития.

Учитывая вышесказанное, целью данной работы явилось изучение влияния дефицита цинка на ФСА 7-дневных проростков озимой пшеницы.

## Материалы и методы

Объектом исследования служили проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39, которые выращивали в камере искусственного климата в рулонах фильтровальной бумаги при температуре 22 °С, относительной влажности воздуха 60–70 %, ФАР 100 мкмоль/(м<sup>2</sup>·с), 14-часовом фотопериоде, на питательном растворе Хогланда – Арнона с добавлением микроэлементов, в том числе цинка в оптимальной (2 мкМ) концентрации (контроль). В опытном варианте цинк в питательный раствор не добавлялся. Спустя 7 сут у проростков оценивали следующие показатели, характеризующие ФСА: площадь листовой пластинки 1-го листа, содержание хлорофиллов и каротиноидов, отношение хлорофиллов (*a/b*), доля хлорофиллов в светособирающих комплексах (ССК), фотохимическая активность фотосистемы II (ФС II), интенсивность фотосинтеза, устьичная проводимость. Помимо этого у проростков измеряли высоту побега (от корневой шейки до наиболее высокой точки листа) и сухую биомассу побега, а также проницаемость мембран клеток листа.

Площадь листовой пластинки рассчитывали по формуле  $S = 2/3ld$ , где *l* – длина, *d* – ширина листовой пластинки [Аникиев, Кутузов, 1961]. Сухую биомассу побега измеряли после высушивания при 105 °С до постоянного веса. Содержание хлорофиллов (*a* и *b*) и каротиноидов определяли на спектрофотометре СФ-2000 («Спектр», Россия), экстрагируя ацетоном [Шлык, 1971]. Долю хлорофиллов в ССК от их общей суммы рассчитывали с учетом того, что весь хлорофилл *b* находится в ССК, а отношение хлорофиллов *a/b* в ССК равно 1,2 [Lichtenthaler, 1987]. Потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (*Fv/Fm*) измеряли после 20-минутной темновой адаптации листьев с использованием анализатора фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением MINI-PAM (Walz, Германия). Устьичную проводимость и интенсивность фотосинтеза определяли на установке для ис-

следования CO<sub>2</sub>-газообмена и водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия). О проницаемости мембран судили по выходу электролитов из тканей листа с использованием кондуктометрического метода (кондуктометр HANNA, Италия) [Гришенкова, Лукаткин, 2005].

Каждый вариант опыта состоял из трех повторностей, по 10 растений в каждой. Для измерения разных показателей биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла от 3 до 10 растений, аналитическая повторность 3–4-кратная. Весь опыт повторяли дважды. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента при  $p < 0,05$ .

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

## Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что на ранних фазах развития пшеницы недостаток цинка в корнеобитаемой среде не оказывает негативного воздействия на рост побега, однако отрицательно влияет на некоторые показатели ФСА. В частности, спустя 7 сут экспозиции проростки опытного варианта имели

практически равную с контрольными высоту и сухую биомассу побега. При этом площадь листовой пластинки 1-го листа у опытных проростков оказалась меньше на 12 % по сравнению с контрольными (табл.). Уменьшение размеров листьев при недостатке цинка отмечалось ранее и другими авторами. Полагают, что подобный эффект во многом является следствием задержки деления меристематических клеток, находящихся у злаков в основании листа [Hossian et al., 1997]. Это происходит из-за нарушения биосинтеза РНК [Удрис, Нейланд, 1981] и/или снижения уровня ИУК, синтез которой при отсутствии металла заметно тормозится [Broadley et al., 2007]. Уменьшение размеров 1-го листа, обнаруженное в нашем опыте, может в дальнейшем отрицательно сказаться на формировании последующих листьев и в целом на продуктивности растения, поскольку у злаков именно 1-й лист является основным донором ассимилятов для 2-го и 3-го листьев.

Анализ содержания пигментов выявил отчетливо выраженное снижение общего количества хлорофиллов ( $a+b$ ) в листьях опытных растений по сравнению с контрольными (табл.). Однако соотношение хлорофиллов ( $a/b$ ) в обоих вариантах опыта оказалось практически равным. По данным P. Balashouri [1995], уменьшение количества зеленых пигментов при дефиците цинка связано со снижением активности

Влияние дефицита цинка в корнеобитаемой среде на некоторые показатели роста и активности фотосинтетического аппарата у проростков озимой пшеницы сорта Московская 39

Effect of zinc deficiency on some parameters of growth and photosynthetic apparatus activity in winter wheat plants cv. Moskovskaya 39

Показатель Parameter	Контроль Control	Опыт Experiment
Высота побега, см Shoot height, sm	17,76 ± 0,31	15,59 ± 0,73
Площадь листа, см <sup>2</sup> Leaf area, cm <sup>2</sup>	3,26 ± 0,07	2,86 ± 0,18*
Сухая биомасса побега, мг Dry shoot biomass, mg	12,93 ± 0,86	12,31 ± 0,82
Общее содержание хлорофиллов ( $a+b$ ), мг/г сырой массы Total chlorophyll content ( $a+b$ ), mg/g fw	1,88 ± 0,01	1,77 ± 0,01*
Соотношение хлорофиллов ( $a/b$ ) Chlorophyll ratio ( $a/b$ )	2,04 ± 0,050	1,95 ± 0,007
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы Carotenoid content, mg/g fw	0,34 ± 0,004	0,28 ± 0,003*
Содержание хлорофиллов в ССК, % от общего количества Chlorophyll content in light-harvesting complexes, % of the total amount	72,44 ± 1,22	74,40 ± 0,20*
Fv/Fm	0,79 ± 0,002	0,78 ± 0,001
Выход электролитов, % от полного выхода Electrolytes leakage, % of total	4,02 ± 0,05	3,32 ± 0,04

Примечание. \* Различия с контролем достоверны при  $p < 0,05$ .

Note. \* Differences with the control are significant at  $p < 0.05$ .

ряда ферментов, участвующих в биосинтезе хлорофилла. Отсутствие же изменений в соотношении хлорофиллов указывает на сохранение оптимального распределения хлорофиллов между отдельными хлорофилл-содержащими комплексами [Рубин, Кренделева, 2003]. Также были обнаружены изменения в распределении зеленых пигментов по пулам ССК и фотосистем. Значимое увеличение доли хлорофиллов в ССК у проростков опытного варианта, по-видимому, направлено на улучшение светопоглощения.

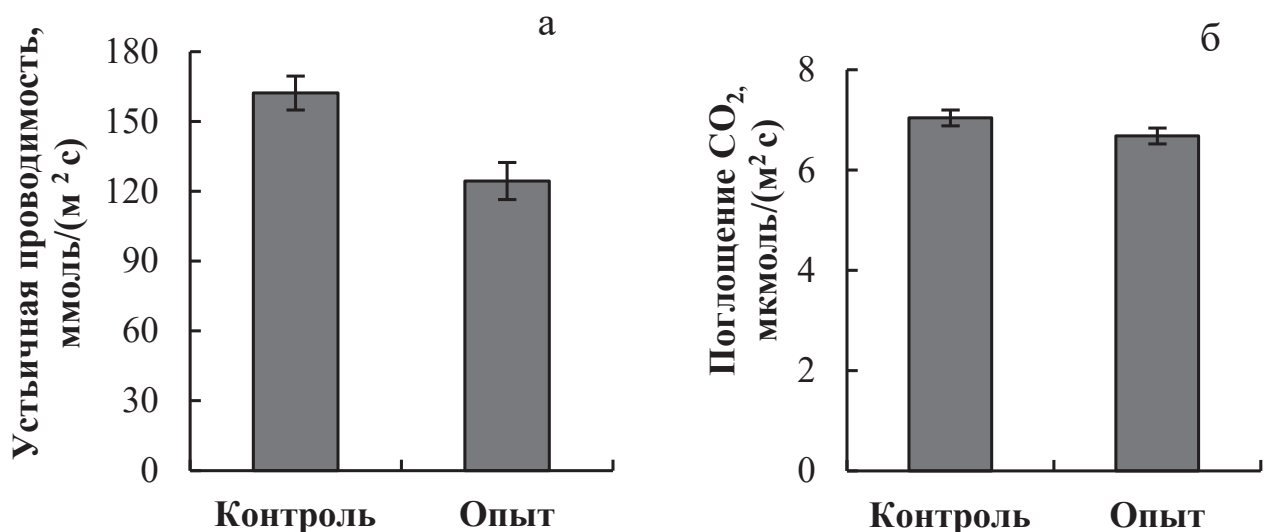
Помимо зеленых пигментов при дефиците металла уменьшалось (на 18 % по сравнению с контролем) и содержание каротиноидов (табл.). Причины такого снижения при дефиците цинка пока неясны. Однако известно, что уменьшение содержания этих пигментов может отрицательно сказываться на активности фотосинтетических процессов. Это связано с целым рядом важнейших функций, которые выполняют каротиноиды, – в том числе антенной (действуя в качестве дополнительных «светосборщиков»), а также антиоксидантной (защищая клетки от окислительного стресса) [Lichtenhalter, 1987; Мокроносов и др., 2006].

В ряде работ указывается на наблюдаемые при дефиците цинка изменения, затрагивающие световую фазу фотосинтеза [Römheld, Marschner, 1991; Wang, Jin, 2005; Chen et al., 2008]. Однако в нашем исследовании каких-либо нарушений в работе ФС II обнаружено не было, о чем свидетельствует отсутствие достоверных изменений (по сравнению с конт-

ролем) величины показателя потенциального квантового выхода фотохимической активности ФС II ( $F_v/F_m$ ) (табл.).

В ходе наших исследований также выявлено, что у проростков, испытывающих дефицит цинка в корнеобитаемой среде, заметно (на 23 % по сравнению с контролем) снижается устьичная проводимость (рис.). Аналогичные данные получены ранее и другими авторами, в частности, в опытах с рисом [Chen et al., 2008; Hajiboland, Beiramzadeh, 2008], кукурузой [Wang et al., 2009] и тритикале [Arough et al., 2016]. Предполагается, что уменьшение устьичной проводимости при недостатке этого микроэлемента может быть связано с нарушением устьичного движения вследствие снижения активности одного из важных цинксодержащих ферментов – карбоангидразы, некоторые изоформы которой ( $\alpha$ КА1 и  $\beta$ КА4) участвуют в контроле газообмена между листьями растений и атмосферой [Hu et al., 2010].

В ряде исследований отмечается торможение скорости фотосинтеза у растений при недостатке цинка, что является следствием изменений и/или нарушений в ФСА [Li et al., 2013; Munirah et al., 2015]. Однако все эти данные получены на растениях, находящихся на поздних фазах развития [Alloway, 2004; Höller et al., 2014]. В наших исследованиях у опытных проростков замедления скорости фотосинтеза не наблюдалось, несмотря на снижение содержания фотосинтетических пигментов и уменьшение устьичной проводимости (рис.). Как известно, одним из условий поддержания



Влияние дефицита цинка в корнеобитаемой среде на устьичную проводимость (а) и скорость фотосинтеза (б) у проростков озимой пшеницы сорта Московская 39

Effect of zinc deficiency on stomatal conductance (a) and photosynthesis rate (б) in winter wheat plants cv. Moskovskaya 39

высокой скорости фотосинтеза в стрессовых условиях является сохранение проницаемости клеточных мембран. В нашем случае увеличения проницаемости мембран у опытных проростков (по отношению к контрольным) не происходило, о чем свидетельствует отсутствие значимых изменений величины выхода электролитов из клеток (табл.). Аналогичные данные обнаружены, к примеру, у устойчивых к дефициту цинка сортов риса, что коррелировалось с высокой скоростью фотосинтеза [Chen et al., 2008].

## Заключение

Проведенные исследования показали, что недостаток цинка в корнеобитаемой среде уже на ранних фазах развития озимой пшеницы оказывает отрицательное влияние на ФСА. У 7-дневных проростков, испытывающих дефицит цинка, уменьшается площадь 1-го листа, снижаются содержание фотосинтетических пигментов и устьичная проводимость. Вместе с тем перераспределение хлорофиллов в сторону ССК, направленное на усиление светопоглощения, сохранение активности ФС II и целостности клеточных мембран листа, способствует поддержанию в этих условиях необходимой скорости фотосинтеза, что, по крайней мере отчасти, обеспечивает активный рост побега растений и накопление ими сухой биомассы. Тем не менее обнаруженные нами в условиях дефицита цинка отрицательные изменения ряда параметров ФСА пшеницы с большой долей вероятности могут в дальнейшем негативно отразиться на семенной продуктивности растений, что подтверждается имеющимися в литературе данными [Alloway, 2004; Höller et al., 2014; Khattak et al., 2015; Ma et al., 2017].

*Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0074) и при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 20-516-00016 Бел\_а).*

## Литература

Агафонов Е. В., Громаков А. А., Максименко М. В. Применение комплексных удобрений и азотной подкормки под озимую пшеницу // Земледелие. 2012. № 7. С. 16–20.

Аникиев В. В., Кутузов Ф. Ф. Новый способ определения площади листовой поверхности у злаков // Физиология растений. 1961. Т. 8, № 3. С. 375–377.

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.

Мокронос А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Академия, 2006. 446 с.

Рубин А. Б., Кренделева Т. Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза // Успехи биол. химии. 2003. Т. 43. С. 225–266.

Удрис Г. А., Нейланд Я. Н. Биологическая роль цинка. Рига: Зинатне, 1981. 180 с.

Филипп С., Нортон Р. Производство зерна пшеницы и применение минеральных удобрений // Питание растений. 2012. № 4. С. 2–5.

Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биологические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–170.

Alloway B. J. Zinc in soil and crop nutrition. Brussels, Belgium: Inter. Zinc Assoc., 2004.

Arough Y. K., Seyed S. R., Seyed S. R. Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition // J. Plant Interact. 2016. Vol 11, no. 1. P. 167–177. doi: 10.1080/17429145.2016.1262914

Balashouri P. Effect of zinc on germination, growth and pigment content and phytomass of *Vigna radiata* and *Sorghum bicolor* // J. Ecobiol. 1995. Vol. 7. P. 109–114.

Broadley M. R., White P. J., Hammond J. P., Zelko I., Lux A. Zinc in plants // New Phytologist. 2007. Vol. 173. P. 677–702.

Chen W., Yang X., He Z., Feng Y., Hu F. H. Differential changes in photosynthetic capacity, 77 K chlorophyll fluorescence and chloroplast ultrastructure between Zn-efficient and Zn-inefficient rice genotypes (*Oryza sativa*) under low zinc stress // Physiol. Plantarum. 2008. Vol. 132. P. 89–101.

Hajiboland R., Beiramzadeh N. Growth, gas exchange and function of antioxidant defense system in two contrasting rice genotypes under Zn and Fe deficiency and hypoxia // Acta Biol. Szeged. 2008. Vol. 52, no. 2. P. 283–294.

Hänsch R., Mendel R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) // Curr. Opin. Plant Biol. 2009. Vol. 12. P. 259–266.

Höller S., Meyer A., Frei M. Zinc deficiency differentially affects redox homeostasis of rice genotypes contrasting in ascorbate level // J. Plant Physiol. 2014. Vol. 171. P. 1748–1756.

Hossian B., Hirata N., Nagatomo Y., Akashi R., Takaki H. Internal zinc accumulation is correlated with increased growth in rice suspension culture // J. Plant Growth Regul. 1997. Vol. 16(4). P. 239–243.

Hu H., Boisson-Dernier A., Israelsson-Nordstrom M., Bohmer M., Xue S., Ries A., Godoski J., Kuhn J. M., Schroeder J. I. Carbonic anhydrases are upstream regulators of CO<sub>2</sub> – controlled stomatal movements in guard cells // Nature Cell Biol. 2010. Vol. 12. P. 87–93.

Khattak S. G., Dominy P. J., Ahmad W. Effect of Zn as soil and foliar application on yield and protein con-



tent of wheat in alkaline soil // *J. Natn. Sci.* 2015. Vol. 43, no. 4. P. 303–312.

Li Y., Zhang Y., Shi D., Liu X., Qin J., Ge Q., Xu L., Pan X., Li W., Zhu Y., Xu J. Spatial-temporal analysis of zinc homeostasis reveals the response mechanisms to acute zinc deficiency in *Sorghum bicolor* // *New Phytologist*. 2013. Vol. 200. P. 1102–1115.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods in enzymology*. 1987. Vol. 148. P. 350–382.

Ma D., Sun D., Wang C., Ding H., Qin H., Hou J., Huang X., Xie Y., Guo T. Physiological responses and yield of wheat plants in zinc-mediated alleviation of drought stress // *Frontiers in Plant Sci.* 2017. Vol. 8. P. 1–12.

Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. 2<sup>nd</sup> Ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

Munirah N., Khairi M., Nozulaidi M., Jahan M. The effects of zinc application on physiology and production

of corn plants // *Australian J. Basic and Appl. Sci.* 2015. Vol. 9, no. 2. P. 362–367.

Römheld V., Marschner H. Function of micronutrients in plants // J. J. Mortvedt, F. R. Cox, L. M. Shuman, R. M. Welch (eds). *Micronutrients in agriculture*. SSSA Book Series. No. 4. Madison, WI, USA, 1991. P. 297–328.

Wang H., Jin J. Y. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency // *Photosynthetica*. 2005. Vol. 43, no. 4. P. 591–596.

Wang H., Liu R. L., Jin J. Y. Effects of zinc and soil moisture on photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence parameters of maize // *Biol. Plantarum*. 2009. Vol. 53, no. 1. P. 191–194.

Поступила в редакцию 18.09.2020

## References

Agafonov E. V., Gromakov A. A., Maksimenko M. V. Primenenie kompleksnykh udobrenii i azotnoi podkormki pod ozimuyu pshenitsu [Application of complex fertilizers and nitrogen fertilization for winter wheat]. *Zemledelie* [Agriculture]. 2012. No. 7. P. 16–20.

Anikiev V. V., Kutuzov F. F. Novyi sposob opredelenia ploshadi listovoi poverkhnosti u zlakov [A new method to determine leaf area in cereals]. *Fiziol. rast.* [Russ. J. Plant Physiol.]. 1961. Vol. 8, no. 3. P. 375–377.

Filips C., Norton R. Proizvodstvo zerna pshenitsy i primeneniye mineral'nykh udobrenii [Wheat grain production and the use of mineral fertilizers]. *Pitanie rast.* [Plant Nutrition]. 2012. No. 4. P. 2–5.

Grishenkova N. N., Lukatkin A. S. Opredeleniye ustoi-chivosti rastitel'nykh tkanei k abioticheskim stressam s ispol'zovaniem konduktometricheskogo metoda [Determination of plant tissue tolerance to abiotic stresses using the conductometric method]. *Povolzhskii ecol. zhurn.* [Povolzhsky J. Ecol.]. 2005. No. 1. P. 3–11.

Mokronosov A. T., Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. Fotosintez. Fiziologo-biokhimicheskie aspekty [Photosynthesis. Physiology-biochemical aspects]. Moscow: Akademia, 2006. 446 p.

Rubin A. B., Krendeleva T. E. Regulyatsiya pervichnykh protsessov fotosinteza [Regulation of primary photosynthesis processes]. *Uspekhi biol. khim.* [Advances in Modern Chem.]. 2003. Vol. 43. P. 225–266.

Shlyk A. A. Opredeleniye khlороfillov i karotinoidov v ekstraktakh zelenykh list'ev [Determination of chlorophylls and carotenoids in green leaf extracts]. *Biol. metody v fiziol. rast.* [Biol. Methods in Plant Physiol.]. Moscow: Nauka, 1971. P. 154–170.

Udris G. A., Neyland Ya. N. Biologicheskaya rol' tsinka [The biological role of zinc]. Riga: Zinatne, 1981. 180 p.

Alloway B. J. Zinc in soil and crop nutrition. Brussels, Belgium: Inter. Zinc Assoc., 2004.

Arough Y. K., Seyed S. R., Seyed S. R. Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition. *J. Plant Interact.* 2016. Vol 11, no. 1. P. 167–177. doi: 10.1080/17429145.2016.1262914

Balashouri P. Effect of zinc on germination, growth and pigment content and phytomass of *Vigna radiata* and *Sorghum bicolor*. *J. Ecobiol.* 1995. Vol. 7. P. 109–114.

Broadley M. R., White P. J., Hammond J. P., Zelko I., Lux A. Zinc in plants. *New Phytologist*. 2007. Vol. 173. P. 677–702.

Chen W., Yang X., He Z., Feng Y., Hu F. H. Differential changes in photosynthetic capacity, 77 K chlorophyll fluorescence and chloroplast ultrastructure between Zn-efficient and Zn-inefficient rice genotypes (*Oryza sativa*) under low zinc stress. *Physiol. Plantarum*. 2008. Vol. 132. P. 89–101.

Hajiboland R., Beiramzadeh N. Growth, gas exchange and function of antioxidant defense system in two contrasting rice genotypes under Zn and Fe deficiency and hypoxia. *Acta Biol. Szeged*. 2008. Vol. 52, no. 2. P. 283–294.

Hänsch R., Mendel R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr. Opin. Plant Biol.* 2009. Vol. 12. P. 259–266.

Höller S., Meyer A., Frei M. Zinc deficiency differentially affects redox homeostasis of rice genotypes contrasting in ascorbate level. *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171. P. 1748–1756.

Hossain B., Hirata N., Nagatomo Y., Akashi R., Takaki H. Internal zinc accumulation is correlated with increased growth in rice suspension culture. *J. Plant Growth Regul.* 1997. Vol. 16(4). P. 239–243.

Hu H., Boisson-Dernier A., Israelsson-Nordstrom M., Bohmer M., Xue S., Ries A., Godoski J., Kuhn J. M., Schroeder J. I. Carbonic anhydrases are upstream regulators of CO<sub>2</sub> – controlled stomatal movements in guard cells. *Nature Cell Biol.* 2010. Vol. 12. P. 87–93.

Khattak S. G., Dominy P. J., Ahmad W. Effect of Zn as soil and foliar application on yield and protein content of wheat in alkaline soil. *J. Natn. Sci.* 2015. Vol. 43, no. 4. P. 303–312.

Li Y., Zhang Y., Shi D., Liu X., Qin J., Ge Q., Xu L., Pan X., Li W., Zhu Y., Xu J. Spatial-temporal analysis of zinc homeostasis reveals the response mechanisms to acute zinc deficiency in *Sorghum bicolor*. *New Phytologist*. 2013. Vol. 200. P. 1102–1115.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. 1987. Vol. 148. P. 350–382.

Ma D., Sun D., Wang C., Ding H., Qin H., Hou J., Huang X., Xie Y., Guo T. Physiological responses and Yield of wheat plants in zinc-mediated alleviation of drought stress. *Frontiers in Plant Sci*. 2017. Vol. 8. P. 1–12.

Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. 2<sup>nd</sup> Ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

Munirah N., Khairi M., Nozulaidi M., Jahan M. The effects of zinc application on physiology and production of corn plants. *Austr. J. Basic and Appl. Sci*. 2015. Vol. 9, no. 2. P. 362–367.

Römheld V., Marschner H. Function of micronutrients in plants. J. J. Mortvedt, F. R. Cox, L. M. Shuman, R. M. Welch (eds). *Micronutrients in agriculture*. SSSA Book Series. No. 4. Madison, WI, USA, 1991. P. 297–328.

Wang H., Jin J. Y. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency. *Photosynthetica*. 2005. Vol. 43, no. 4. P. 591–596.

Wang H., Liu R. L., Jin J. Y. Effects of zinc and soil moisture on photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence parameters of maize. *Biol. Plantarum*. 2009. Vol. 53, no. 1. P. 191–194.

Received September 18, 2020

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### **Казнина Наталья Мстиславовна**

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

### **Батова Юлия Валерьевна**

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

### **Лайдинен Галина Федоровна**

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

### **Титов Александр Федорович**

главный научный сотрудник, 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:

### **Kaznina, Natalia**

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

### **Batova, Yulia**

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

### **Laidinen, Galina**

Institute of Biology, Karelian Research Centre,  
Russian Academy of Sciences  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: laidinen@krc.karelia.ru  
tel.: (8142) 762706

### **Titov, Alexander**

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

## 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](mailto: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 брюхоногого моллюска *Margarites groenlandicis* (Gmelin, 1790) – *M. groenlandicus* или для подвида *M. g. umbilicalis*.

**СОКРАЩЕНИЯ.** Разрешаются лишь общепринятые сокращения – названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа 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](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. Шерудило<sup>1</sup>, М. И. Сысоева<sup>1</sup>, Г. Н. Алексейчук<sup>2</sup>, Е. Ф. Марковская<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии Карельского научного центра РАН

<sup>2</sup>Институт экспериментальной ботаники НАН Республики Беларусь им. В. Ф. Купревича

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L.; кратковременное снижение температуры; устойчивость.

**E. G. Sherudilo, M. I. Sysoeva, G. N. Alekseichuk, E. F. Markovskaya. EFFECTS OF DIFFERENT REGIMES OF SEED HARDENING ON COLD RESISTANCE IN CUCUMBER PLANTS**

Аннотация на английском языке

Keywords: *Cucumis sativus* L.; temperature drop; resistance.

**ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ**

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

Table 2. Ultrastructure of leaf mesophyll cells after the exposure of wheat seedlings or roots to 10 min of chilling at 2 °C

Показатель Index	Контроль Control	Охлаждение проростков Seedling chilling	Охлаждение корней Root chilling
Площадь среза хлоропласта, мкм <sup>2</sup> Chloroplast cross-sectional area, μm <sup>2</sup>	10,0 ± 0,7	13,5 ± 1,1	12,7 ± 0,5
Площадь среза митохондрии, мкм <sup>2</sup> Mitochondria cross-sectional area, μm <sup>2</sup>	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,03	0,6 ± 0,04
Площадь среза пероксисомы, мкм <sup>2</sup> Peroxisome cross-sectional area, μm <sup>2</sup>	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. Gidrogeokhimicheskie kriterii sostoyaniya poverkhnostnykh vod gumidnoi zony i ikh ustoichivosti k antropogennomu vozdeistviyu [Hydrogeochemical criteria of the state of surface water in humid zone and their tolerance to anthropogenic impact]: DSc (Dr. of Chem.) thesis. Petrozavodsk, 2006. 481 p.

Ссылки на патенты

Патент РФ № 2000130511/28.04.12.2000.

Еськов Д. Н., Серегин А. Г. Оптико-электронный аппарат // Патент России № 2122745. 1998. Бюл. № 33.

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. 5. FLAVIN-CONTAINING MONOOXYGENASES (FMO) ARE PHASE I ENZYMES OF XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION. NOMENCLATURE, STRUCTURE, MOLECULAR DIVERSITY, FUNCTION, PARTICIPATION IN THE FUNCTIONING OF THE BIOTRANSFORMATION SYSTEM. A COMPARISON WITH CYTOCHROMES P450 (A REVIEW) . . . . .	5
N. A. Galibina, K. M. Nikerova, Yu. L. Moshchenskaya, M. A. Yershova. PHYSIOLOGICAL, BIO-CHEMICAL AND MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF HEARTWOOD FORMATION MECHANISMS	20

ORIGINAL PAPERS

S. P. Rozhkov, A. S. Goryunov, M. Yu. Krupnova. INTERRELATION OF SERUM ALBUMIN CONFORMATIONAL AND PHASE STATES IN SALT SOLUTIONS AS STUDIED BY EPR SPIN LABELING . . . . .	38
V. P. Andreev, P. S. Sobolev, D. O. Zaitsev, N. Sh. Lebedeva. Zn-TETRAPHENYLPORPHINE AS A MODEL SYSTEM FOR STUDYING THE INFLUENCE OF THE NATURE OF THE SOLVENT ON THE THERMODYNAMICS OF AXIAL COORDINATION WITH METALLOPORPHYRINS. . . . .	54
I. N. Bakhmet, D. A. Ekimov. EFFECT OF NIKEL IONS ON CARDIAC ACTIVITY IN THE BLUE MUSSEL <i>MYTILUS EDULIS</i> LINNAEUS, 1758 . . . . .	64
A. R. Unzhakov, E. P. Antonova, S. N. Kalinina. LACTATE DEHYDROGENASE ISOENZYMES IN TISSUES OF CARNIVOROUS MAMMALS DURING POSTNATAL ONTOGENY . . . . .	70
M. V. Zaretskaya, O. M. Fedorenko, O. N. Lebedeva. GENETIC GROUNDS FOR ADAPTATION: FLOWERING ONSET TIME AND DEGREE OF SEED DORMANCY IN NORTHERN NATURAL <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> POPULATIONS . . . . .	80
E. S. Kholoptseva, A. A. Ignatenko, V. V. Talanova, A. F. Titov. METHYL JASMONATE EFFECT ON THE PROCESS OF COLD ADAPTATION IN WHEAT . . . . .	92
Yu. V. Venzhik, E. S. Kholoptseva, A. A. Ignatenko, V. V. Talanova. ADAPTIVE CAPACITIES OF <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. ( <i>POACEAE</i> ) UNDER LOW TEMPERATURE IMPACTS OF VARYING INTENSITY . . .	104
T. A. Sazonova, V. B. Pridacha. THE EFFECT OF SOIL CONDITIONS ON GROWTH AND PARAMETERS OF THE MINERAL AND WATER METABOLISM IN SCOTS PINE IN A MIDDLE-TAIGA LICHEN-TYPE PINE FOREST . . . . .	113

SHORT COMMUNICATIONS

T. G. Shibaeva, A. F. Titov. PLANT RESPONSES TO A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP: EFFECT OF PHOTOPERIOD AND COMPARISON OF PLANTS FROM DIFFERENT PHOTOPERIODIC GROUPS . . . . .	124
---	-----

N. M. Kaznina, Yu. V. Batova, G. F. Laidinen, A. F. Titov. EFFECT OF ZINC DEFICIENCY ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WINTER WHEAT SEEDLINGS .....	132
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS .....	139

Научный журнал

**Труды Карельского научного центра  
Российской академии наук**  
№ 11, 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 20.11.2020. Дата выхода 30.11.2020. Формат 60x84<sup>1/8</sup>.  
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 15,1. Усл. печ. л. 17,0.  
Тираж 100 экз. Заказ 632. 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