

Вестник Московского университета

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Основан в ноябре 1946 г.

Серия 16 **БИОЛОГИЯ**

Издательство Московского университета

№ 1 • 2015 • ЯНВАРЬ–МАРТ

Выходит один раз в три месяца

СОДЕРЖАНИЕ

Физиология

- Грицай О.Б., Дубынин В.А. Влияние N-концевого фрагмента ноцицептина на уровень тревожности американского таракана *Periplaneta americana* в тесте “открытое поле” при изменении освещенности. 3

Геронтология

- Хохлов А.Н., Моргунова Г.В., Рындина Т.С., Колл Ф. Предварительные исследования потенциального геропротектора “Quinton Marine Plasma” в экспериментах на культивируемых клетках 9

Биохимия

- Ху Л.Я., Гончарова Н.Ю., Рубцов А.М. Особенности регуляции активности глюкокиназы печени крысы. 14

Экология

- Юзбеков А.К., Юзбеков М.А. Влияние техногенного загрязнения атмосферы на заболеваемость органов дыхания 19

Микология и альгология

- Толпышева Т.Ю., Коннычев М.А. Вертикальное распределение лишайников на березах в окрестностях г. Петропавловск-Камчатский 25

Микробиология

- Тренина М.А., Епремян А.С., Стоянова Л.Г. Зависимость ростовых характеристик природных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* от состава агаризованных питательных сред, используемых для наращивания биомассы 31

Энтомология

- Бенедиктов А.А. Виброакустические сигналы саранчового *Trilophidia annulata* (Thunb.) (Orthoptera, Acrididae, Oedipodinae). 37

Фауна, флора

- Гаврилов В.В., Горецкая М.Я., Веселовская Е.О. Сезонные и суточные изменения массы тела и жировых резервов зеленой пеночки в западном Подмоскowie 40
- Елумеева Т.Г., Онинченко В.Г., Янь У. Функциональные признаки листьев растений высокогорных пастбищ востока Цинхай-Тибетского нагорья (Сычуань, КНР) . . . 46

CONTENTS

Physiology

- Gritsai O.B., Dubynin V.A.* Effect of N-terminal fragment of nociceptin on the anxiety level of American cockroach *Periplaneta americana* in “open field” when light intensity 3

Gerontology

- Khokhlov A.N., Morgunova G.V., Ryndina T.S., Coll F.* Pilot study of a potential geroprotector, “Quinton Marine Plasma”, in experiments on cultured cells 9

Biochemistry

- Khu L.Ya., Goncharova N.Yu., Rubtsov A.M.* Characteristics of regulation of the activity of glucokinase from rat liver. 14

Ecology

- Uzbekov A.K., Uzbekov M.A.* Effects of industrial pollution on the respiratory diseases 19

Mycology and algaeology

- Tolpysheva T.Yu., Konnychev M.A.* Vertical distribution of macrolichens on the birches near Petropavlovsk-Kamchatsky city 25

Mycrobiology

- Trenina M.A., Epremyan A.S., Stoyanova L.G.* Dependence of growth characteristics of natural strains of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* on the composition of the nutrient agar media used for biomass growth. 31

Entomology

- Benediktov A.A.* Vibro-acoustical signals of the locust *Trilophidia annulata* (Thunb.) (Orthoptera, Acrididae, Oedipodinae) 37

Fauna, flora

- Gavrilov V.V., Goretskaia M.J., Veselovskaia E.O.* Season and diurnal changes of weight and fat reserves of the Greenish Warbler in the West of Moscow Region 40
- Elumeeva T.G., Onipchenko V.G., Yan Wu.* Leaf functional traits of plants of alpine pastures at the eastern Qinghai-Tibetan Plateau 46

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 595.722:591:044:577.11

**ВЛИЯНИЕ N-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА НОЦИЦЕПТИНА
НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ АМЕРИКАНСКОГО ТАРАКАНА
PERIPLANETA AMERICANA В ТЕСТЕ “ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ”
ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОСВЕЩЕННОСТИ****О.Б. Грицай, В.А. Дубынин***(кафедра физиологии человека и животных; e-mail: gokio1996@mail.ru)*

Инъекция N-концевого фрагмента ноцицептина (ФН) оказывала анксиолитическое действие на проявление тревожности таракана *P. americana* в “открытом поле” как при красном свете, так и при усилении освещенности. За показатель уровня тревожности были приняты интенсивность горизонтальной активности (ГА) и количество изменений направлений движения (СП) насекомых. Введение ФН приводило к снижению ГА при красном свете до 48% (доза 100 мкг/г) и 63% (доза 200 мкг/г), при этом значение СП составляло 39% (100 мкг/г) относительно контроля. Тетрапептид в дозе 50 мкг/г не оказывал значимых изменений ГА и СП. При усилении светового стимула до 6,0 Вт значение показателя ГА увеличивалось до 230%, а СП — до 192% уровня контроля. Инъекция ФН в этом случае вызывала торможение возрастания ГА на яркий свет до 37% (100 мкг/г) и до 50% (200 мкг/г). Показатель СП также снижался до 39% (100 мкг/г) и 68% (200 мкг/г) относительно контроля.

Ключевые слова: N-концевой фрагмент ноцицептина, тревожность, локомоторная активность, насекомые.

Гомологичные на 60% классическим опиоидным рецепторам ноцицептин/орфановые ORL1 рецепторы широко распространены в различных отделах ЦНС млекопитающих. Расположенные на терминалах нейронов, они оказывают пресинаптическое действие и играют важную роль в модуляции ряда функций организма, таких как ноцицепция, обучение, память и тревожность. Молекула эндогенного лиганда ORL1 рецепторов — ноцицептина, состоящая из 17 аминокислот, близка по своей структуре к эндорфинам, хотя и имеет N-концевой фенилаланин. В зависимости от объекта, места введения и метода тестирования ноцицептин может вызывать либо гиперальгезию, либо анальгезию, оказывать как анксиогенное, так и анксиолитическое действие [1]. Разнонаправленность влияний ноцицептина некоторые авторы объясняют существованием различных подтипов ORL1 рецептора. Ослабляя действие опиоидов и являясь их функциональным антагонистом, ноцицептин не связывается с опиоидными рецепторами [2, 3].

Трудами нескольких исследователей установлено присутствие ORL1 рецепторов в нервной системе беспозвоночных. Так, в ганглиях улитки *Helix aspersa* обнаружена иммунореактивность ноцицептин/орфановых нейронов. При аппликации на них ноцицептина электрофизиологическая активность у 22% регистрируемых клеток возрастала, а у 33%, наоборот, снижалась [4]. Кроме того, показано, что рассматриваемый

пептид дозозависимо усиливает болевую чувствительность улитки *Cerpea nemoralis* [5]. При рассмотрении влияния ноцицептина совместно с рядом агонистов и антагонистов опиоидных рецепторов была установлена его регуляторная роль в терморепреции у улитки *H. aspersa*. Ноцицептин в этом случае не воздействует на классические опиоидные рецепторы [6, 7], что совпадает с данными, полученными на млекопитающих [8].

Использованный нами фрагмент ноцицептина (ФН) — N-концевой тетрапептид Phe-Gly-Gly-Phe — определяет его связывание с рецептором ORL1. В экспериментах на крысах данный фрагмент при внутрибрюшинном введении снижал тревожность животных в “открытом поле” со сменой освещенности [9].

В представленной работе впервые рассмотрено регуляторное влияние системы ноцицептина на уровень тревожности насекомых. Использование нами методов тестирования, по сути аналогичных тем, которые применяются на млекопитающих, позволяет провести параллель между результатами, полученными на представителях разных типов животного царства.

Методика исследования

Для исследования влияния фрагмента ноцицептина (ФН) на уровень тревожности тараканов *P. americana* был применен метод “открытого поля” [10–12]. Прибор представляет собой стеклянный цилиндр диа-

метром 30 см и высотой 10 см, дно которого расчерчено на сектора. Мерой эффективности ФН служили изменения горизонтальной активности (ГА), выраженные в условных единицах (количество секторов, пройденных насекомым), а также число стоек и поворотов (СП) за 5-минутный период наблюдения. В первой серии опытов регистрацию проводили через 30, 60, 90, 120 мин после инъекции препарата (или физраствора в контроле) при красном свете. Во второй серии при изменении освещенности (с 0,08 до 6,0 Вт) ГА и СП фиксировали каждую минуту: при красном свете (5 мин), во время яркого светового стимула (5 мин) и после него (красный свет, 5 мин). Всего было использовано 170 особей 30–45-дневных тараканов *P. americana* из лабораторной культуры массой 0,96–0,99 г. За сутки до экспериментов в “открытом поле” определяли первоначальную активность насекомых. Синтез ФН осуществлен на химическом факультете СПбГУ В.Н. Калихевичем и З.А. Ардемасовой. Препарат приготавливали на основе физраствора с добавлением аспаркама, этот же физраствор использовался в контроле [13]. Введение производили при помощи микроинъектора в проторакс насекомого в дозах 50, 100 и 200 мкг/г. Через 30 мин после инъекции таракана помещали на арену “открытого поля”, фиксируя при этом ГА и СП. При статистической обработке результатов были применены ANOVA-метод и критерии Стьюдента и Манна–Уитни.

Результаты исследования

Фрагмент ноцицептина оказал значимое воздействие на поведение (в том числе на проявление защитных реакций) таракана *P. americana* в тесте “открытое поле” в дозах 100 и 200 мкг/г. Применение дозы 50 мкг/г не вызывало изменений поведения насекомых ни в одном из экспериментов.

Через 30 мин после введения препарата в дозе 100 мкг/г снижение ГА тараканов составило 85% от уровня контроля и не было значимо (рис. 1, А). Через 60 мин после инъекции ФН значение ГА уменьшалось до 48% по отношению к контролю ($p < 0,01$). Применение однофакторного метода ANOVA подтвердило высокую значимость действия тетрапептида — $F_{1,16} = 7,74$; $p < 0,01$. Межгрупповые различия величины ГА на 90 и 120 мин эксперимента были достоверны только в первые минуты 5-минутных интервалов наблюдений. Соответствующие значения ГА составили: $14,1 \pm 2,3$ в контроле и $7,8 \pm 1,6$ в опыте (55%; $p < 0,05$ через 90 мин); $11,9 \pm 2,8$ в контроле и $4,7 \pm 1,7$ в опыте (39%; $p < 0,05$ через 120 мин).

При увеличении дозы ФН до 200 мкг/г значимое снижение ГА наступало уже через 30 мин после инъекции; величина показателя при этом составила 63% по отношению к контролю ($p < 0,01$) (рис. 1, Б). Через 60 мин показатель ГА равнялся 66% от уровня контроля ($p < 0,05$); $F_{1,10} = 7,2$; $p < 0,05$. Умень-

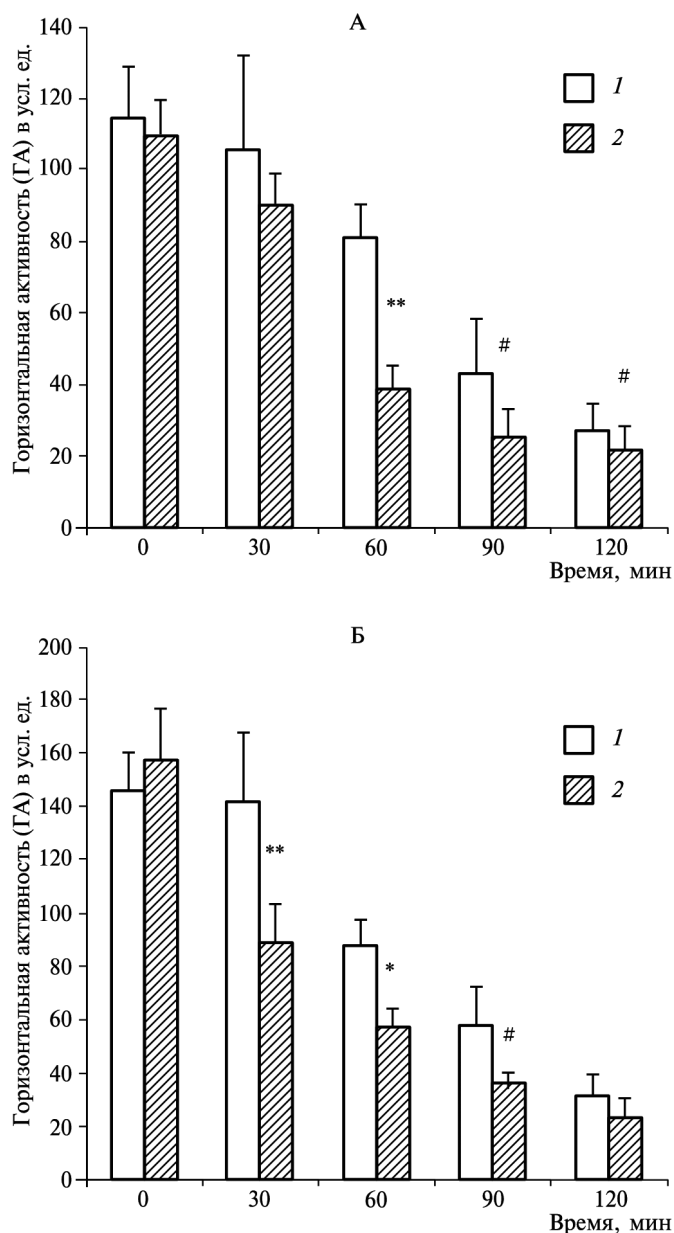


Рис. 1. Влияние фрагмента ноцицептина (ФН) на горизонтальную активность (ГА) таракана *P. americana* в тесте “открытое поле”: А 1 — контроль, $n = 9$; 2 — ФН в дозе 100 мкг/г, $n = 9$; Б 1 — контроль, $n = 6$; 2 — ФН в дозе 200 мкг/г, $n = 6$ ($AM \pm SEM$). Звездочками отмечены отличные от контроля значения: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$. # — значения p для данных, соответствующих первой минуте 5-минутных интервалов

шение ГА было особенно заметно в первую минуту 5-минутного интервала — 40% от уровня контроля ($p < 0,01$); $26,7 \pm 4,0$ в контроле и $10,5 \pm 1,9$ в опыте. На 90-й мин достоверные межгрупповые отличия зарегистрированы только в первую минуту этого интервала: (41%; $p < 0,05$), $21,3 \pm 5,1$ и $8,7 \pm 2,2$ соответственно. На 120-й мин наблюдения ФН не оказал выраженного действия на горизонтальную активность.

Тетрапептид в дозе 100 мкг/г значимо влиял на величину показателя СП в тесте “открытое поле” (рис. 2). Начиная с 60-й мин эксперимента происходило снижение значения СП, которое в этом слу-

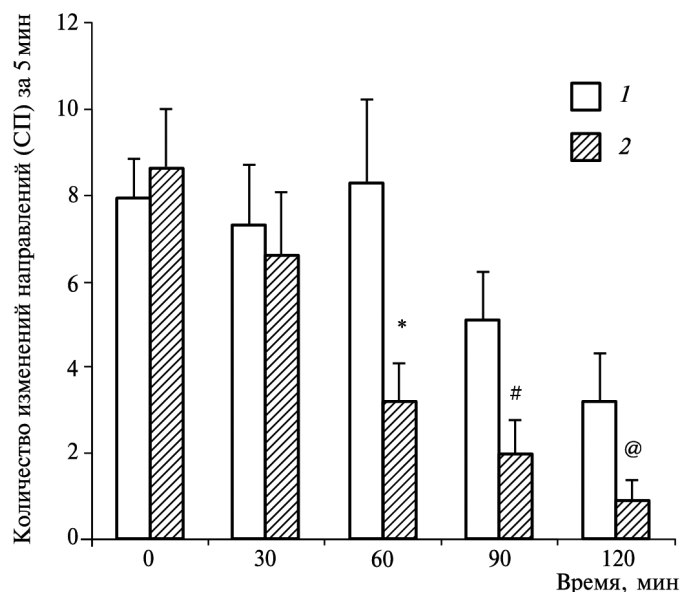


Рис. 2. Влияние фрагмента ноцицептина на количество изменений направлений (СП) таракана *P. americana* в тесте “открытое поле”: 1 — контроль, 2 — ФН в дозе 100 мкг/г, $n = 9$. @ — данные по критерию Манна—Уитни. (AM $\pm$ SEM). Остальные обозначения, как на рис. 1

чае достигало 39% от уровня контроля ($p < 0,05$). Через 90 и 120 мин соответствующие значения составили 40 и 28% ($p < 0,05$). Интересно, что ФН в дозе 200 мкг/г не был активен в отношении числа стоек и поворотов.

В серии опытов, рассматривающих поведение тараканов в “открытом поле” при смене освещенности были проведены предварительные тесты без инъекции как физраствора, так и ФН. Насекомые груп-

пы I находились в течение всего периода наблюдений (15 мин) в поле при красном свете. Показатель ГА постепенно снижался, что отражало их привыкание к условиям эксперимента (рис. 3). Насекомые группы II на 6—11-й мин опыта находились в условиях яркой освещенности. При этом их ГА значительно возрастала и составляла в среднем 230% от уровня показателя в группе I за тот же период ($p < 0,05—0,01$). Суммарный пробег насекомых I и II групп в интервале 6—10 мин составлял $78,9 \pm 19,3$ и $181,0 \pm 26,2$ соответственно; ($F_{1,15} = 9,56$; $p < 0,01$). В интервале 11—15 мин наблюдения (после выключения яркого света) величина ГА в группе II была значимо ниже, чем в группе I и равнялась 30% от значений последней ($p < 0,05—0,01$). Суммарный пробег насекомых составлял за этот период $51,8 \pm 16,1$ для группы I и $15,2 \pm 5,7$ для группы II; ($F_{1,15} = 4,41$; $p < 0,05$).

Инъекция ФН в дозах 100 и 200 мкг/г тормозила естественное увеличение ГА насекомых в ответ на световой стимул (рис. 4).

После введения дозы 100 мкг/г в начале наблюдений при красном свете величина ГА опытной группы составила 83% от контрольного значения (отличие незначимо). После включения яркого света значение ГА на фоне введения ФН оказалось сниженным до 37% от уровня контроля ($p < 0,05—0,01$). Суммарный пробег составил $178,5 \pm 29,5$ в контрольной группе и $67,1 \pm 18,8$ в опытной; ($F_{1,15} = 9,48$; $p < 0,01$).

При увеличении дозы ФН до 200 мкг/г значение ГА при красном свете составило 67% от уровня контроля ($p < 0,05$). Суммарный пробег был равен $113,8 \pm 9,4$ в контрольной группе и $76,7 \pm 15,8$ в опытной; ($F_{1,16} = 3,96$; $p < 0,05$). В результате включе-

ния светового стимула показатель ГА оказался равен 50% от уровня контроля ($p < 0,05$), $178,5 \pm 29,5$ и $89,3 \pm 13,5$ соответственно; ($F_{1,16} = 8,18$; $p < 0,05$). После выключения яркого света различия значений показателя ГА в контрольной и в опытных группах перестали быть значимы.

Смена интенсивности освещенности индуцировала также изменение показателя СП насекомых (рис. 5). При красном свете различия между контрольными и опытными значениями СП не были значимыми. После включения яркого света количество стоек и поворотов заметно возрастает: в контрольной группе до 192%; ($p < 0,05$), а у насекомых, инъектированных ФН в дозах 100 и 200 мкг/г, происходит увеличение показателя СП до 215%; ($p < 0,01$) и 182%; ($p < 0,05$) соответственно. Тем не менее при ярком свете действие препарата (100 мкг/г)

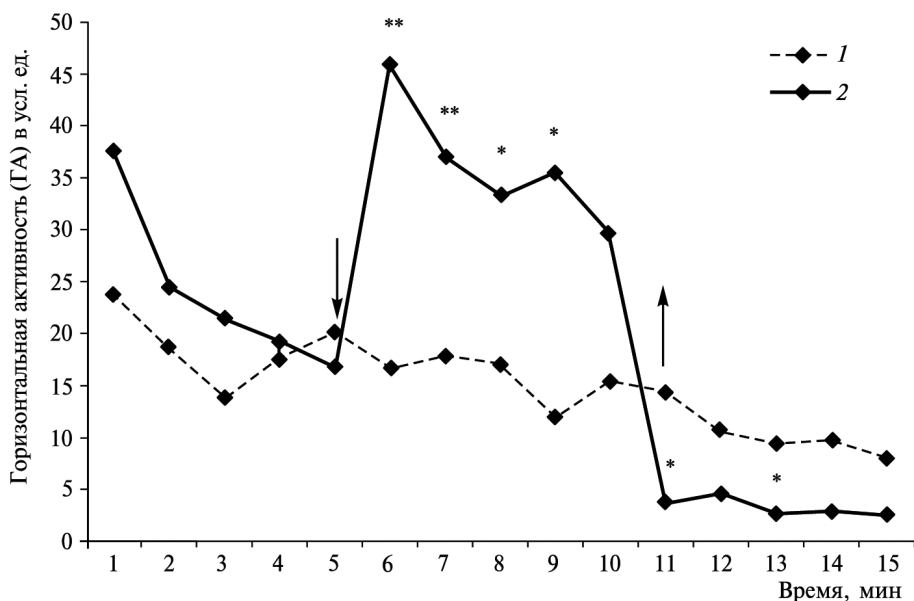


Рис. 3. Влияние изменения освещенности на первоначальную горизонтальную активность (ГА) таракана *P. americana* в тесте “открытое поле”. Обозначения: стрелками указаны “on”- и “off”-стимулы; 1 — при красном свете (контрольная группа I), $n = 8$; 2 — при действии светового стимула (контрольная группа II), $n = 9$. (AM $\pm$ SEM). Остальные обозначения, как на рис. 1

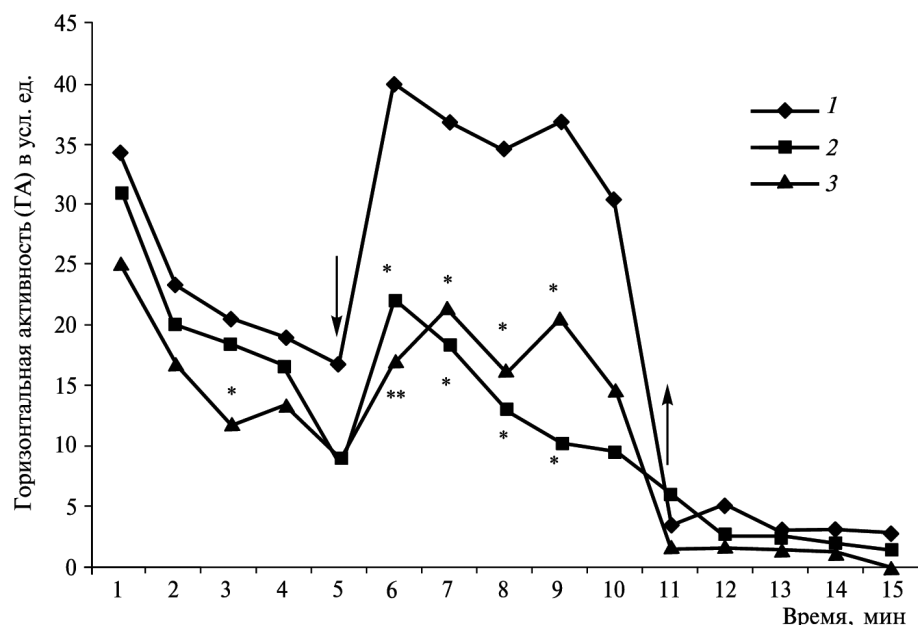


Рис. 4. Воздействие фрагмента ноцицептина (ФН) на горизонтальную активность (ГА) таракана *P. americana* в “открытом поле” на фоне смены освещенности: 1 — контроль, $n = 9$; 2 — ФН в дозе 100 мкг/г, $n = 8$; 3 — ФН в дозе 200 мкг/г, $n = 9$ ($AM \pm SEM$). Остальные обозначения, как на рис. 1

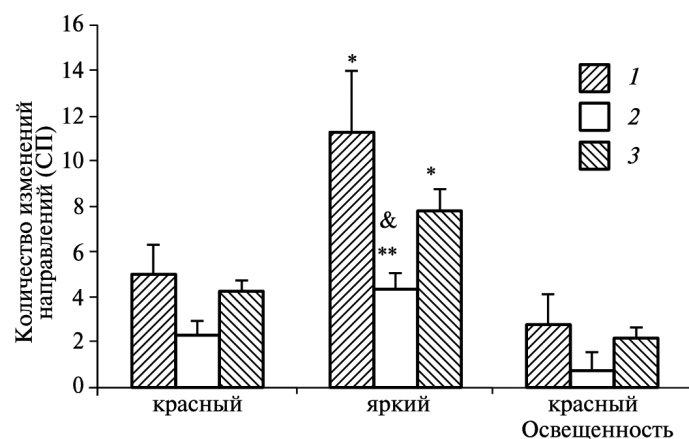


Рис. 5. Влияние фрагмента ноцицептина (ФН) на количество изменений направлений (СП) таракана *P. americana* в тесте “открытое поле” при смене освещенности: 1 — контроль, $n = 9$; 2 — ФН в дозе — 100 мкг/г, $n = 9$; 3 — ФН в дозе 200 мкг/г, $n = 9$; ($AM \pm SEM$). Освещенность: красный — 0,08 Вт; яркий — 6 Вт. & — $p < 0,05$. Объяснения в тексте. Остальные обозначения, как на рис. 1

приводит к снижению значения показателя в опытных группах по отношению к контрольной до 39% ($p < 0,05$; на рис. 5 обозначено знаком &). ФН в дозе 200 мкг/г уменьшал СП до 68%, но различия не были значимы.

Обсуждение

Новизна обстановки вызывает у животных стрессоподобное, “тревожное” состояние, которое зачастую приводит к значительному росту двигательной и исследовательской активности. Насекомым также присуще состояние тревоги, что подтверждается вы-

делением у многих видов соответствующих феромонов [14]. В то же время влияние ноцицептина на уровень тревожности млекопитающих может проявляться в форме подавления двигательной активности в новой обстановке [15]. Именно “всплеск” локомоторной активности мы приняли за показатель тревожности тараканов в “открытом поле”. Находясь в садках до начала эксперимента, насекомые имели малую локомоторную активность. Новизна обстановки “открытого поля” активизировала набор поведенческих реакций, которые отражают тревожность и исследовательское поведение. При этом ГА насекомых значительно возрастала, кроме того, они часто меняли направление движения (СП), что мы рассматривали как проявление ориентировочно-исследовательских реакций.

Введение ФН индуцировало снижение ГА тараканов до 48% (100 мкг/г) и до 63% (200 мкг/г) относительно контроля, что говорит о снижении тревожности, т.е. анксиолитическом действии препарата. Также происходило снижение выраженности ориентировочно-исследовательских реакций, что проявлялось только в узком диапазоне доз — 100 мкг/г. В экспериментах на грызунах, в которых снижение исследовательского поведения (норковая реакция) считалось показателем тревоги, ноцицептин продемонстрировал двухфазный эффект: в малых дозах оказал анксиолитическое, а в больших — анксиогенное действие [16]. В условиях другого эксперимента ноцицептин стимулировал у крыс локомоторную активность и исследовательское поведение [17].

Во второй серии опытов при смене освещенности тараканы подвергались влиянию двух стрессогенных факторов: новизна “открытого поля” и яркий свет. Как известно, в оптических долях мозга насекомых находятся зрительные нейроны трех типов: одни реагируют только на включение света (оп-клетки), другие на выключение (off-клетки), а третьи отвечают на оба стимула (оп-off-единицы). После выключения света оп-off клетки снижают частоту импульсации ниже фонового уровня [18]. Оптические интернейроны формируют связи с такими областями надглоточного ганглия, как центральное тело и грибовидные тела — высшими ассоциативными центрами, в которых происходит интеграция всех видов сенсорной информации. Эти структуры осуществляют управление сложным поведением насекомого, в том числе контроль за моторной активностью, ориентацией в пространстве, состоянием оцепенения [19]. Структуры центрального комплекса протоцеребрума, являющиеся основным источником возбуждения в ходе

локомоции, хорошо изучены у таракана *P. americana* [20]. Использование вживленных электродов показало, что в грибовидных телах таракана расположены нейроны, одни из которых реагируют на “on”-, другие на “off”-стимулы, а третьи отвечают на передвижение [21, 22]. Можно высказать предположение, что эти структуры мозга содержат сайты, которые связываются с лигандом ФН. В результате включение света, т.е. увеличения стрессогенности среды, приводит к усилению как ГА (230%), так и СП (192%) (рис. 3, 5). После выключения стимула происходит характерное снижение значения ГА до 30% относительно контроля (насекомые затаивались) (рис. 3). Можно предположить, что этот процесс контролируется on-off клетками.

Инъекция ФН вызывала снижение ГА и ориентировочно-исследовательских реакций на стрессогенное воздействие (изменение освещенности), которое проявилось в уменьшении значений показателей ГА и СП (рис. 4, 5). Эти данные также указывают на анксиолитическое действие ФН на насекомых, оказавшихся в новых экспериментальных условиях. В аналогичных тестах на крысах в “открытом поле” со сменой освещенности при ярком свете происходило снижение ГА, а также уменьшение количества стоек, отходов от стенок арены, т.е. снижение ориен-

тировочно-исследовательской активности. При выключении света, т.е. при снижении стрессогенности среды, возрастали значения этих показателей (а в наших тестах, наоборот, они уменьшались). Под влиянием ФН у грызунов происходило увеличение суммарного пробега, количества стоек, выхода в центр и числа заглядываний в норки, что указывает на снижение тревожности [9]. Обнаруженные нами эффекты во многом соответствуют нашим предыдущим данным о влиянии опиоидных пептидов на формирование защитного поведения насекомых [11, 12]. Несмотря на разную направленность поведенческих реакций тараканов и крыс, которые проявляются в стрессогенных ситуациях, ФН в том и другом случае оказывал анксиолитическое действие. На этом основании можно предположить, что роль системы ноцицептин-орфановой рецепции в модуляции состояния тревоги сформировалась достаточно давно и имеет много общих черт как у позвоночных, так и у беспозвоночных. Однако для строгого подтверждения наличия у насекомых орфановых рецепторов необходимы дальнейшие исследования совместного влияния ноцицептина с агонистами и антагонистами опиоидных сайтов. Наши результаты еще раз подчеркнули тот факт, что тараканы *P. americana* являются прекрасным объектом для изучения медиаторных систем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jenck F., Moreau J.L., Martin J.R., Kilpatrick G.J., Reinschield R.K., Monsma F.J.Jr., Nothacker H.-P., Civelli O. Orphanin FQ acts as an anxiolytic to attenuate behavioral responses to stress // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. N 26. P. 14854—14858.
2. Nishi M., Takeshima H., Mori M., Nakagawara K., Takeuchi T. Structure and chromosomal mapping of gene for the mouse K-opioid receptor and an opioid receptor homologue (MOR-C) // Biochem. Biophys. Res. Com. 1994. Vol. 205. N 2. P. 1353—1357.
3. Mogil J.S., Pasternak G.W. The molecular and behavioral pharmacology of the orphanin FQ/nociceptive peptide and receptor family // Pharmacol. Rev. 2001. Vol. 5. N 3. P. 381—415.
4. Leon-Olea M., Miller-Perez C., Cruz R., Anton B. Immunohistochemical localization and electrophysiological action of nociceptin/orphanin-FQ in the snail (*Helix aspersa*) neurons // Neurosci. Lett. 2001. Vol. 316. N 3. P. 141—144.
5. Kavaliers M., Perrot-Sinal T.S. Pronociceptive effects of the neuropeptide, nociceptin, in the land snail, *Cepaea nemoralis* // Peptides. 1996. Vol. 17. N 5. P. 763—768.
6. Miller-Perez C., Sanchez-Islas E., Pellicer F., Rodriguez-Manzo G. Role of nociceptin/orphanin FQ and the pseudopeptide [Phe1 Psi (CH₂NH)Gly₂]-nociceptin (1—13)-NH₂ and their interaction with classic opioids in the modulation of termoneuroception in the land snail *Helix aspersa* // Eur. J. Pharmacol. 2008. Vol. 581. N 1—2. P. 77—85.
7. Rialas C.M., Weeks B., Cadet P., Goumon Y. Nociceptin, endomorph-1 and -2 do not interact with immune and neural mu 3 opiate receptor // Acta Pharmacol. Sin. 2000. Vol. 21. N 6. P. 516—520.
8. Meunier J.-C., Mollereau C., Toll L., Suaudeau C., Moisand C., Alvinerie P., Butour J.-L., Guillemot J.-C., Ferrara P., Monsarrat B., Mazarguil A., Vassart G., Parmentier M., Costentin J. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL₁ receptor // Nature. 1995. Vol. 377. N 6549. P. 532—535.
9. Иванова Е.А., Сарычева С.Ю., Дубынин В.А. и др. Поведенческие эффекты аналога N-концевого фрагмента ноцицептина при системном введении // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2012. Т. 153. № 2. С. 141—145.
10. Грицай О.Б., Дубынин В.А., Ашмарин И.П. Влияние факторов тревожности млекопитающих на насекомых. Действие фрагмента кортиколиберина 2—4 на поведение мучного хрущака *Tenebrio molitor* // Журн. эвол. биохим. и физиол. 1996. Т. 32. № 4. С. 440—447.
11. Грицай О.Б., Дубынин В.А., Пилипенко В.Э., Петров О.П. Влияние пептидных и неопиоидных опиоидов на защитную реакцию таракана *Periplaneta americana* в “горячей камере” // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2004. Т. 40. № 2. С. 125—130.
12. Грицай О.Б., Дубынин В.А., Беспалова Ж.Д., Пилипенко В.Э. Влияние ряда экзорфинов и эндорфинов на реакцию избегания таракана *Periplaneta americana* в условиях повышенной температуры // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2009. Т. 45. № 4. С. 391—396.
13. Fernandes F., Misilmeri M.A., Filger J., Devine D.P. Nociceptin/orphanin FQ increases anxiety-related behavior and circulating levels of corticosterone during neophobic test of anxiety // Neuropsychopharmacology. 2004. Vol. 29. N 1. P. 59—71.
14. Иванов В.Д. Феромоны насекомых // Соросовский образовательный журн. Сер. Биология. 1998. № 6. С. 29—34.

15. *Caleo G., Guerrini R., Rizzi A., Salvadori S., Regoli D.* Pharmacology of nociceptin and its receptor: a novel therapeutic target // *Br. J. Pharmacol.* 2000. Vol. 129. N 7. P. 1261–1283.
16. *Kamei J., Matsunawa Y., Miyata S., Tanaka S.* Effect of nociceptin on the exploratory behavior of mice in the hole-board test // *Eur. J. Pharmacol.* 2004. Vol. 489. N 1. P. 77–87.
17. *Florin S., Suaudeau C., Meunier J.C., Costentin J.* Nociceptin stimulates locomotion and exploratory behaviour in mice // *Eur. J. Pharmacol.* 1996. Vol. 317. N 1. P. 9–13.
18. *Францевич Л.И.* Электрические реакции нейронов зрительного отдела мозга медоносной пчелы *Apis mellifera* // Физиология и биохимия беспозвоночных. Л.: Наука, 1968. С. 105–110.
19. *Чайка С.Ю.* Нейроморфология насекомых. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2010. 396 с.
20. *Li Y.S., Strausfeld N.J.* Morphology and sensory modality of mushroom body efferent neurons in the brain of the cockroach, *Periplaneta americana* // *J. Comp. Neurol.* 1997. Vol. 387. N 4. P. 631–65.
21. *Mizunami M., Weibrecht J.M., Strausfeld N.J.* Mushroom bodies of the cockroach: Their participation in place memory // *J. Comp. Neurol.* 1998. Vol. 402. N 4. P. 520–537.

Поступила в редакцию
19.05.13

EFFECT OF N-TERMINAL FRAGMENT OF NOCICEPTIN ON THE ANXIETY LEVEL OF AMERICAN COCKROACH *PERIPLANETA AMERICANA* IN “OPEN FIELD” WHEN LIGHT INTENSITY

O.B. Gritsai, V.A. Dubynin

Injection of N-terminal fragment of nociceptin (FN) anxiolytic effect cockroach manifestation of anxiety in the test “open field” at a red light and illumination 6 W. An index of the level of anxiety was adopted intensity horizontal activity (HA) and number of changes of direction (CD) of insect. Introduction FN decreased the HA cockroaches at a red light to 48% (dose 100 µg/g) and 63% (dose 200 µg/g), and value of CD was 39% (100 µg) with respect to control. FN at a dose of 50 µg/g had no significant changes on the HA and CD. With increasing light stimulus value of HA rose to 230% and value CD rose to 192%, with respect to control. Injections of FN in this case, a natural increase of HA inhibition to 37% (100 µg/g) and to 50% (200 µg/g); value of CD reduced to 39% (100 µg/g) and to 68% (200 µg/g).

Key words: *N-terminal fragment of nociceptin, locomotor activity, anxiety, insects.*

Сведения об авторах

Грицай Оксана Богдановна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-68; e-mail: gokio1996@mail.ru

Дубынин Вячеслав Альбертович — докт. биол. наук, проф. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-28-95; e-mail: dubynin@5.human.bio.msu.ru

ГЕРОНТОЛОГИЯ

УДК 576.35:57.017.6

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО
ГЕРОПРОТЕКТОРА “QUINTON MARINE PLASMA”
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ****А.Н. Хохлов, Г.В. Моргунова, Т.С. Рындина, Ф. Колл****(сектор эволюционной цитогеронтологии; e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru)*

Изучили влияние изотонического раствора “Quinton Marine Plasma” (QMP) на размножение и “стационарное старение” (накопление “возрастных” изменений клеток при замедлении скорости размножения в пределах одного пассажа и дальнейшем их пребывании в стационарной фазе роста) трансформированных культивируемых клеток китайского хомячка. Ни в одном из экспериментов не обнаружили выраженного положительного действия QMP на исследованные показатели жизнеспособности клеточной культуры. Предположили, что QMP, как и многие другие исследованные авторами в последнее время потенциальные геропротекторы (2,4-динитрофенол в концентрациях, обеспечивающих мягкое разобшение, эфирное масло орегано, гидратированный C₆₀-фуллерен и др.), может проявлять свое благотворное действие только на уровне целого организма, задействуя нейрогуморальные механизмы, отсутствующие в цитологических модельных системах.

Ключевые слова: *Quinton Marine Plasma, цитогеронтология, геропротекторы, культивируемые клетки, клеточная пролиферация, “стационарное старение”.*

Известно, что морская вода и препараты на ее основе благотворно влияют на живые организмы [1–7]. Один из наиболее известных таких препаратов, “Quinton Marine Plasma” (QMP), представляет собой морскую воду, полученную из мест интенсивного (“вихревого”) размножения планктона в Атлантическом океане [8, 9]. QMP обогащен различными минеральными соединениями, микроэлементами и биологически активными веществами. Выпускающая препарат испанская компания “Quinton Laboratories” подвергает QMP процедурам очистки и холодной стерилизации, исключая потерю им лечебных свойств. QMP успешно применяется для профилактики инфекционных заболеваний, стимуляции иммунитета и умственных способностей, улучшения антиоксидантного статуса организма, нормализации кишечной флоры, лечения аллергии, простудных заболеваний, легочных патологий, кожных болезней (например, экземы и псориаза), мышечной атрофии, синуситов, гипертонической болезни, заболеваний желудочно-кишечного тракта и др. [8–10]. Однако до сих пор остаются неясными конкретные механизмы благотворного влияния QMP на живые организмы. В настоящей работе мы попытались выяснить, как QMP может действовать на размножение и “стационарное старение” [11–19] культивируемых клеток, которые, находясь вне организма, не подвергаются влия-

нию нейрогуморальных факторов [11, 14, 20–22]. При этом мы выбрали трансформированные клетки, так как они не изменяются от пересева к пересеву [23] в отличие от нормальных клеток, которые размножаются, подчиняясь “феномену Хейфлика” (“нельзя дважды войти в одну реку”). Такой выбор обеспечил возможность многократного корректного повторения исследований на идентичных культурах.

Материалы и методы

В работе использовали препарат “Isotonic Quinton Marine Plasma”, предоставленный компанией “Laboratories Quinton International, S.L.”.

Эксперименты проводили на трансформированных клетках китайского хомячка перевиваемой линии B11-dii FAF28 (клон 237), полученной из Медико-генетического научного центра РАМН (Москва). Клетки культивировали при 37°C в стеклянных флаконах Карреля, используя среду Игла в модификации Дульбекко (ДМСИ, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва) с добавлением 5–10% сыворотки крови крупного рогатого скота (СКРС; “РАА”, Австрия или “Биолот”, Санкт-Петербург), пенициллина (100 ед/мл) и стрептомицина (100 мкг/мл). Поддерживая культуру, клетки пересевали в соотношении 1:10–1:3 через каждые 3–4 сут. Снимали клетки

* “Квинтон Лабораториз, С.Л.”, пров. Аликанте, г. Кош, кв. Вирхен дель Кармен, ул. Аснар 6, 033350 Испания (Laboratories Quinton, S.L., Aznar Street 6, PI Virgen del Carmen, 033350 Cox, Alicante, Spain).

с поверхности роста с помощью смеси (1:1) 0,02%-го версена и 0,25%-го трипсина (Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва).

В первой серии экспериментов, направленных на определение цитотоксических или митогенных свойств QMP, клетки 2–3-дневного “возраста” (т.е. выращиваемые без пересева в течение 2–3 сут) засевали в герметично закрывающиеся пенициллиновые флаконы площадью 2,83 см² с плотностью около 40 тыс. кл./см² (суспензия в 1 мл ростовой среды). Среда состояла из следующих ингредиентов в различных комбинациях: 1) ДМСИ; 2) СКРС; 3) физиологический раствор (ФР); 4) изотонический QMP. В среде всегда присутствовали пенициллин и стрептомицин в указанных выше концентрациях. Через 5 сут культивирования при 37°C клетки снимали с поверхности роста с помощью смеси растворов версена и трипсина, а затем подсчитывали их количество в камере Горяева (4 камеры на флакон), оценивая, как изменилась плотность клеток по сравнению с плотностью посева.

Изучая влияние QMP на кинетику роста клеток и их последующей гибели в стационарной фазе роста, клетки 3-дневного “возраста” сняли с поверхности флакона Карреля смесью растворов версена и трипсина, суспендировали в ростовой среде (90% ДМСИ и 10% СКРС), развели средой до необходимой концентрации клеток и посеяли по 1 мл суспензии в 125 герметично закрывающихся пенициллиновых флаконов площадью 4,15 см² (плотность посева — около 40 тыс. кл./см²). Все флаконы поместили в термостат (37°C). Через сутки после посева с помощью смеси растворов версена и трипсина сняли клетки со дна 4 флаконов и подсчитали их количество в камере Горяева, чтобы определить плотность прикрепившихся клеток. Оставшиеся флаконы разделили на три группы (“контроль”, “QMP” и “ФР”) и добавили в них по 1 мл среды, содержащей ДМСИ, СКРС, ФР и QMP в различных комбинациях. В результате конечные концентрации ингредиентов в группах стали следующими: “контроль” — 90% ДМСИ, 10% СКРС; “QMP” — 50% ДМСИ, 10% СКРС, 40% QMP; “ФР” — 50% ДМСИ, 10% СКРС, 40% ФР. После этого через определенные промежутки времени извлекали из термостата по три флакона каждой группы, клетки снимали с поверхности роста смесью версена и трипсина, суспендировали в ростовой среде без СКРС и оценивали

количество клеток в каждом флаконе с помощью 4 камер Горяева. Перед подсчетом все флаконы шифровали.

Математические расчеты и статистическую обработку результатов производили с помощью программ Microsoft Excel 2007 и SigmaPlot 12.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведены результаты эксперимента по оценке влияния замены в ростовой среде ДМСИ на QMP или ФР, а также культивирования в QMP без СКРС на скорость размножения трансформированных клеток китайского хомячка. Оказалось, что, в противоположность данным, полученным другими авторами на моноклеарных клетках периферической крови человека [9, 10], наши клетки практически неспособны выживать и тем более размножаться в QMP как без СКРС, так и с ней. Это позволяет полагать, что известная идея [24, 25] о возможности полной замены культуральной среды на QMP применима далеко не ко всем клетками, т.е. в QMP, по-видимому, нет всего необходимого спектра как питательных веществ, так и ростовых факторов, необ-

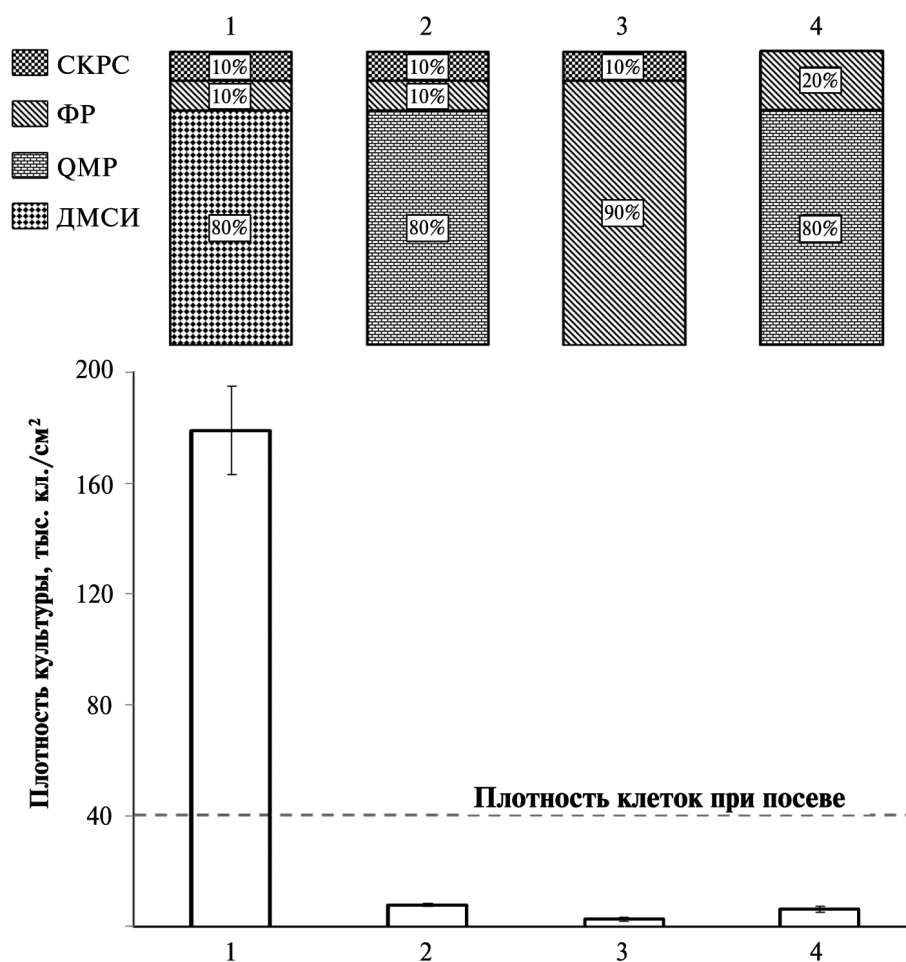


Рис. 1. Влияние замены в ростовой среде ДМСИ на QMP или ФР, а также культивирования в QMP без СКРС на скорость размножения трансформированных клеток китайского хомячка (изменение плотности клеточной культуры через 5 сут после посева).

Приведены стандартные ошибки среднего

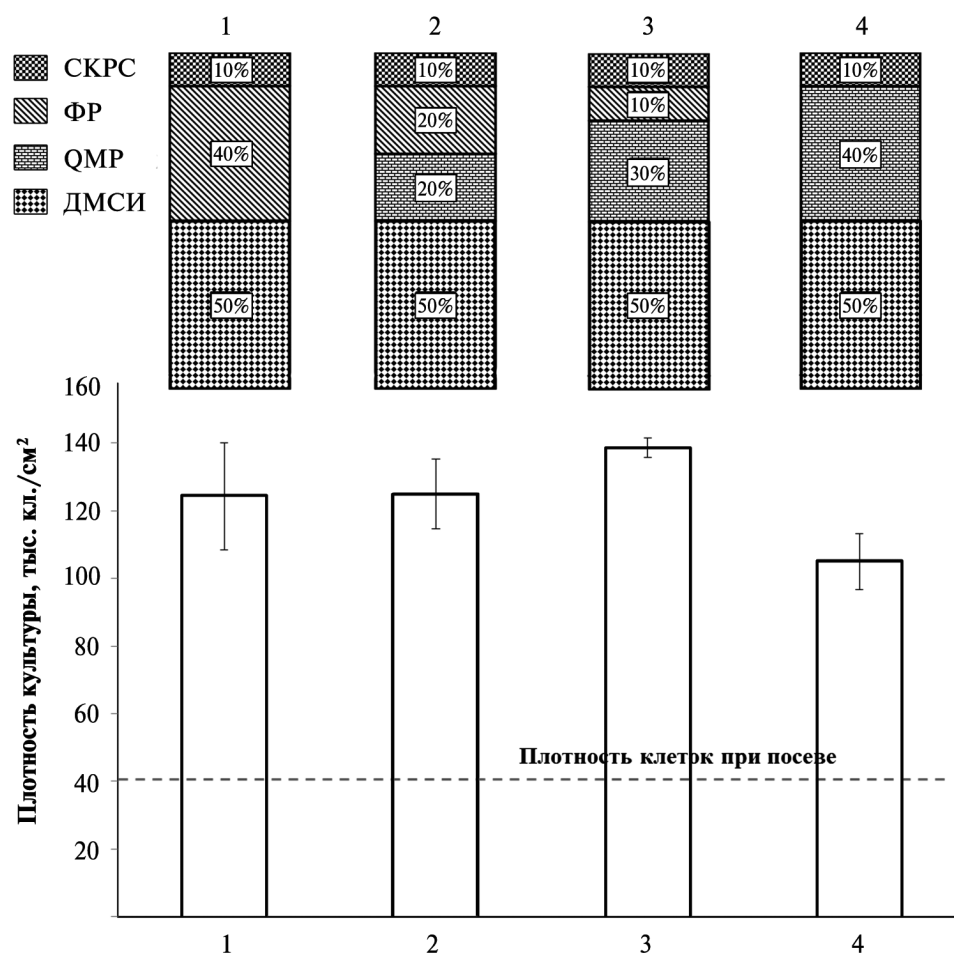


Рис. 2. Влияние различных комбинаций ФР и QMR на скорость размножения трансформированных клеток китайского хомячка (изменение плотности клеточной культуры через 5 сут после посева) в ростовой среде с 50% ДМСИ и 10% СКРС. Приведены стандартные ошибки среднего

ходимых для полноценного размножения культуры животных клеток.

Как видно из данных, приведенных на рис. 2, при замене 40% стандартной ростовой среды на различные комбинации QMR и ФР интенсивность размножения культуры во всех параллелях оказалась практически одинаковой. Это позволило нам сделать вывод о том, что QMR даже в присутствии ДМСИ и СКРС не влияет на жизнеспособность изученных культивируемых клеток.

Интересно заметить, что клетки в среде, разбавленной ФР или QMR, росли не хуже, чем в контроле, что позволило думать о значительной “избыточности” используемой нами культуральной среды (90% ДМСИ и 10% СКРС). Однако этот эксперимент проводился

лишь на протяжении 5 сут, так что нельзя было исключить, что в дальнейшем, при “стационарном старении” культуры, различия между контролем и опытом проявятся.

На рис. 3 представлены данные заключительного эксперимента, в котором мы как раз и изучали возможное влияние QMR (40% в ростовой среде) на кинетику роста и “стационарного старения” культуры трансформированных клеток китайского хомячка на протяжении почти полутора месяцев. Надо сказать, что клетки в таком длительном эксперименте действительно стареют (без кавычек) в том смысле, который вкладывается в этот термин в рамках классического определения старения как увеличения вероятности смерти со временем [26, 27]. Поэтому, кстати, кривая выживания клеток очень хорошо аппроксимируется уравнением Гомпертца [19]. В этой модельной системе мы опять-таки не обнаружили влияния QMR на показатели жизнеспособности клеток — на этот раз те показатели, которые определяют скорость их “стационарного старения”. Видно, что все три кривые

на рис. 3 практически идентичны. Лишь на 5-е сут культивирования насыщающая плотность культуры

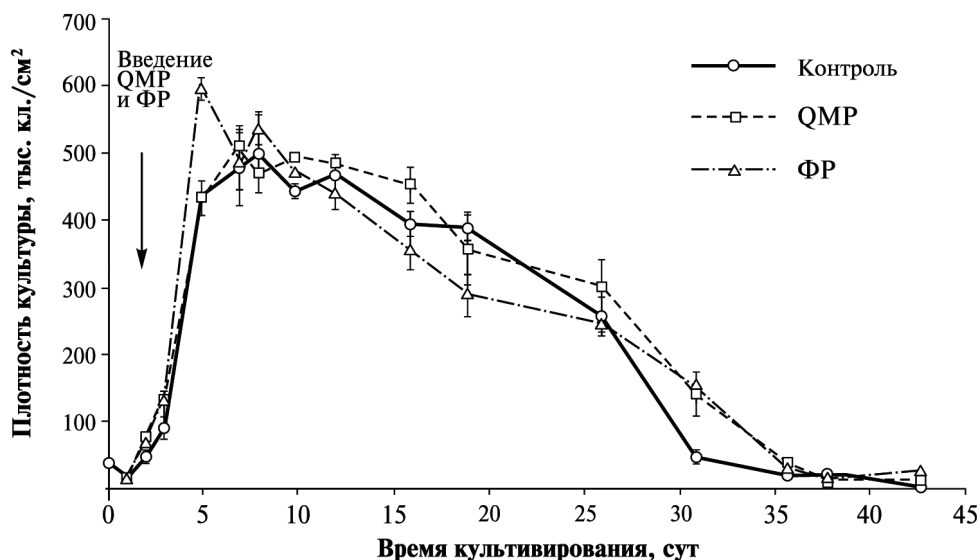


Рис. 3. Влияние на кинетику роста и “стационарного старения” культуры трансформированных клеток китайского хомячка замены в ростовой среде 40% ДМСИ на QMR или ФР (методические подробности — в тексте). Приведены стандартные ошибки среднего

с 40% ФР оказалась достоверно более высокой, чем этот показатель для двух других культур. Известно, что данный параметр обратно коррелирует с “возрастом” клеток в цитогеронтологических экспериментах [28]. Конечно, было бы заманчиво предположить, что ФР ненадолго “омолаживает” наши клетки, однако более приемлемой представляется идея Е.Е. Егорова с соавт. о значительном влиянии на пролиферативные характеристики культивируемых клеток, изменяющихся при разбавлении культуральной среды ее ионной силы и редокс-потенциала [29, 30].

Таким образом, нам ни в одном эксперименте не удалось обнаружить положительного влияния QMP на жизнеспособность использованных культивируемых клеток. Возможно, препарат проявляет себя таким образом только в отношении трансформированных клеток, поэтому представляется целесообразным в даль-

нейшем повторить эти эксперименты на нормальных фибробластах, обладающих ограниченным митотическим потенциалом, а также на нормальных “иммортализованных” клетках с активированной теломеразой. Кроме того, не исключено, что QMP, как и многие другие исследованные нами в последнее время потенциальные геропротекторы (2,4-динитрофенол в концентрациях, обеспечивающих мягкое разобщение, эфирное масло орегано, гидратированный C₆₀-фуллерен и др.), может проявлять свое благотворное действие только на уровне целого организма, задействуя нейрогуморальные механизмы, отсутствующие в цитологических модельных системах.

Авторы благодарны А.Д. Гладневой за помощь в работе с рукописью статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yoshizawa Y., Tanojo H., Kim S.J., Maibach H.I. Sea water or its components alter experimental irritant dermatitis in man // *Skin Res. Technol.* 2001. Vol. 7. P. 36–39.
2. Kimata H., Tai H., Nakagawa K., Yokoyama Y., Nakajima H., Ikegami Y. Improvement of skin symptoms and mineral imbalance by drinking deep sea water in patients with atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS) // *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2002. Vol. 45. N 2. P. 83–84.
3. Yoshioka S., Hamada A., Cui T., Yokota J., Yamamoto S., Kusunose M., Miyamura M., Kyotani S., Kaneda R., Tsutsui Y., Odani K., Odani I., Nishioka Y. Pharmacological activity of deep-sea water: examination of hyperlipemia prevention and medical treatment effect // *Biol. Pharm. Bull.* 2003. Vol. 26. N 11. P. 1552–1559.
4. Tabary O., Muselet C., Miesch M.C., Yvin J.C., Clément A., Jacquot J. Reduction of chemokine IL-8 and RANTES expression in human bronchial epithelial cells by a sea-water derived saline through inhibited nuclear factor- κ B activation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 309. N 2. P. 310–316.
5. Miyamura M., Yoshioka S., Hamada A., Takuma D., Yokota J., Kusunose M., Kyotani S., Kawakita H., Odani K., Tsutsui Y., Nishioka Y. Difference between deep seawater and surface seawater in the preventive effect of atherosclerosis // *Biol. Pharm. Bull.* 2004. Vol. 27. N 11. P. 1784–1787.
6. Hataguchi Y., Tai H., Nakajima H., Kimata H. Drinking deep-sea water restores mineral imbalance in atopic eczema/dermatitis syndrome // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 59. P. 1093–1096.
7. Slapak I., Skoupá J., Strnad P., Horník P. Efficacy of isotonic nasal wash (seawater) in the treatment and prevention of rhinitis in children // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2008. Vol. 134. N 1. P. 67–74.
8. Original Quinton [Электронный ресурс]. 2010. (URL: <http://www.originalquinton.com/> (дата обращения: 04.09.2014)).
9. Alberola J., Coll F. Marine therapy and its healing properties // *Curr. Aging Sci.* 2013. Vol. 6. N 1. P. 63–75.
10. Martínez-Peinado P., Maseres-Javaloy P., Martínez-López J.E., García-Irles M., Sempere-Ortells J.M. In vitro and in vivo studies to evaluate a potential activity of Quinton Solution on the immune system // *International Immunology Meeting Abstracts (Suppl. 1. Pt. 3)*. Oxford: Oxford University Press, 2010. P. iii93.
11. Хохлов А.Н. Пролиферация и старение // *Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР. Сер. Общие проблемы физико-химической биологии*. Т. 9. М.: ВИНТИ, 1988. 176 с.
12. Khokhlov A.N. Stationary cell cultures as a tool for gerontological studies // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1992. Vol. 663. P. 475–476.
13. Khokhlov A.N. Cell proliferation restriction: is it the primary cause of aging? // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1998. Vol. 854. P. 519.
14. Khokhlov A.N. Does aging need its own program, or is the program of development quite sufficient for it? Stationary cell cultures as a tool to search for anti-aging factors // *Curr. Aging Sci.* 2013. Vol. 6. N 1. P. 14–20.
15. Khokhlov A.N. Decline in regeneration during aging: appropriateness or stochastics? // *Russ. J. Dev. Biol.* 2013. Vol. 44. N 6. P. 336–341.
16. Khokhlov A.N. Impairment of regeneration in aging: appropriateness or stochastics? // *Biogerontology*. 2013. Vol. 14. N 6. P. 703–708.
17. Khokhlov A.N. Evolution of the term “cellular senescence” and its impact on the current cytogerontological research // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2013. Vol. 68. N 4. P. 158–161.
18. Khokhlov A.N. What will happen to molecular and cellular biomarkers of aging in case its program is canceled (provided such a program does exist)? // *Adv. Gerontol.* 2014. Vol. 4. N 2. P. 150–154.
19. Khokhlov A.N., Klebanov A.A., Karmushakov A.F., Shilovsky G.A., Nasonov M.M., Morgunova G.V. Testing of geroprotectors in experiments on cell cultures: choosing the correct model system // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2014. Vol. 69. N 1. P. 10–14.
20. Khokhlov A.N. From Carrel to Hayflick and back, or what we got from the 100-year cytogerontological studies // *Biophysics*. 2010. Vol. 55. N 5. P. 859–864.
21. Alinkina E.S., Vorobyova A.K., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B., Khokhlov A.N. Cytogerontological studies of biological activity of oregano essential oil // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2012. Vol. 67. N 2. P. 52–57.

22. Yablonskaya O.I., Ryndina T.S., Voeikov V.L., Khokhlov A.N. A paradoxical effect of hydrated C₆₀-fullerene at an ultralow concentration on the viability and aging of cultured Chinese hamster cells // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2013. Vol. 68. N 2. P. 63–68.
23. Khokhlov A.N. Can cancer cells age? Stationary cell culture approach to the problem solution // Visualizing of senescent cells in vitro and in vivo. Programme and abstracts (Warsaw, Poland, 15–16 December 2012). Warsaw, 2012. P. 48–49.
24. Lewis M.R. Sea water as a medium for tissue cultures // Anat. Rec. 1916. Vol. 10. N 4. P. 287–299.
25. Berges J.A., Franklin D.J., Harrison P.J. Evolution of an artificial seawater medium: improvements in enriched seawater, artificial water over the last two decades // J. Phycol. 2001. Vol. 37. N 6. P. 1138–1145.
26. Khokhlov A.N., Wei L., Li Y., He J. Teaching cytogerontology in Russia and China // Adv. Gerontol. 2012. Vol. 25. N 3. P. 513–516.
27. Wei L., Li Y., He J., Khokhlov A.N. Teaching the cell biology of aging at the Harbin Institute of Technology and Moscow State University // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2012. Vol. 67. N 1. P. 13–16.
28. Khokhlov A.N. The cell kinetics model for determination of organism biological age and for geroprotectors or geropromoters studies // Biomarkers of aging: expression and regulation. Proceeding / Eds. F. Licastro, C.M. Caldarera. Bologna: CLUEB, 1992. P. 209–216.
29. Moldaver M.V., Yegorov Y.E. Sparse plating increases the heterogeneity of proliferative potential of fibroblasts // Mech. Ageing Dev. 2009. Vol. 130. N 5. P. 337–342.
30. Бурнаевский Н.С., Вишнякова Х.С., Сафенина А.В., Рыбалко Д.В., Попов К.В., Егоров Е.Е. Влияние парциального давления кислорода на эффективность колониеобразования и дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток человека, полученных из различных источников // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2010. Т. 5. № 4. С. 24–30.

Поступила в редакцию
15.09.14

PILOT STUDY OF A POTENTIAL GEROPROTECTOR, “QUINTON MARINE PLASMA”, IN EXPERIMENTS ON CULTURED CELLS

A.N. Khokhlov, G.V. Morgunova, T.S. Ryndina, F. Coll

Effect of isotonic “Quinton Marine Plasma” (QMP) solution on the growth and “stationary phase aging” (accumulation of “age” changes in cultured cells during cell proliferation slowing down within a single passage and subsequent “aging” in the stationary phase of growth) of transformed Chinese hamster cells was studied. No positive effects of QMP on the studied viability indexes of the cultured cells were found in all the experiments. It is assumed that QMP, like many other potential anti-aging agents the authors studied recently (2,4-dinitrophenol in concentrations that provide mild uncoupling, the essential oil of oregano, hydrated C₆₀-fullerene, etc.), can demonstrate its beneficial effect only at the level of the whole organism, triggering neurohumoral mechanisms that are not present in cytological model systems.

Key words: *Quinton Marine Plasma, cytogerontology, geroprotectors, cultured cells, cell proliferation, “stationary phase aging”.*

Сведения об авторах

Хохлов Александр Николаевич — докт. биол. наук, зав. сектором эволюционной цитogerонтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-15-90; e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru

Моргунова Галина Васильевна — аспирант сектора эволюционной цитogerонтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-15-90; e-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru

Рындина Татьяна Сергеевна — магистрант сектора эволюционной цитogerонтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-15-90; e-mail: ryndina.tatyana@gmail.com

Колл Франциско (Coll Francisco) — генеральный директор “Квинтон Лабораториз”. Тел.: +34 965-702511; e-mail: direccion@quinton.es

БИОХИМИЯ

УДК 577.112

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЛЮКОКИНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

Л.Я. Ху, Н.Ю. Гончарова, А.М. Рубцов

(кафедра биохимии; e-mail: am_rubtsov@mail.ru)

Предложен простой метод выделения глюкокиназы из растворимой фракции печени крысы, позволяющий получать препарат с высокой удельной активностью с сохранением нативных кинетических свойств фермента, практически лишенный примеси других молекулярных форм гексокиназы. График зависимости скорости реакции от концентрации глюкозы имеет выраженный сигмоидальный характер: при 25°C и 2°C коэффициенты Хилла во всем диапазоне концентраций субстрата равны 1,76 и 1,35; значения $S_{0,5}$ для глюкозы составляют 6,90 мМ и 20 мМ соответственно. Обсуждается роль кинетического механизма реакции в регуляции активности глюкокиназы в печени.

Ключевые слова: глюкокиназа, гексокиназа, кооперативные свойства.

Глюкокиназа (АТР:D-глюкоза-6-фосфотрансфераза, КФ 2.7.1.1, ГЛК) является одной из молекулярных форм гексокиназы (ГК) млекопитающих [1]. Фермент экспрессируется в поджелудочной железе и печени, где представлен разными изозимами [2]. По современным представлениям [1–5], ГЛК поджелудочной железы играет роль глюкозного сенсора, стимулирующего секрецию инсулина при гипергликемии, а ГЛК печени участвует в быстром удалении избытка глюкозы (Glc) из крови. На долю ГЛК в печени приходится около 80% от общей активности всех молекулярных форм ГК [4–7], причем именно ГЛК обеспечивает быстрый синтез гликогена и его депонирование в печени при гипергликемии [5, 8].

С физиологической точки зрения особый интерес представляет механизм срочной активации ГЛК, связанный со специфическим кинетическим поведением фермента [9]. В отличие от других молекулярных форм гексокиназы ГЛК демонстрирует положительную кооперативность при взаимодействии с Glc в области ее физиологических концентраций [6, 7, 10–12]. Степень кооперативности при взаимодействии ГЛК с субстратом характеризуется величиной коэффициента Хилла (h) 1,5–2 [4, 9, 11–13]. Эта кооперативность не связана с наличием двух центров связывания Glc на молекуле фермента [1] или с его олигомерной организацией, так как ГЛК, как и другие изоформы гексокиназы, является мономерным белком [1, 14], причем олигомеризации ГЛК в ходе реакции также не наблюдается [15]. В настоящее время кооперативный характер взаимодействия ГЛК с субстратом объясняется медленной конформационной перестройкой молекулы фермента при связывании Glc, приводящей к изменению конфор-

мации субстратсвязывающего центра, что увеличивает сродство фермента к субстрату [1, 11, 12, 16]. С помощью флуоресцентной спектроскопии удалось зарегистрировать изменение конформации ГЛК после связывания Glc [16] и измерить микроскопические константы скоростей образования промежуточного комплекса Glc-ГЛК и его конформационного превращения в каталитически компетентный комплекс [12].

Проявление кооперативности ГЛК при взаимодействии с субстратом зависит от степени нативности препарата белка: кооперативность утрачивается при хранении, а также у высокоочищенных препаратов фермента [9, 17, 18]. Как правило, очистка фермента сопровождается изменением кинетических свойств и/или утратой стабильности фермента. Высокоочищенный фермент из печени кролика оказался лишенным кооперативности по Glc [17]. При степени очистки 40% препарат ГЛК из печени крысы [18] быстро инактивировался при хранении [9]. Изменение процедуры очистки [17] приводило к получению препарата фермента с высоким выходом (85%), но низкой кооперативностью по Glc [9].

В настоящей работе предложен быстрый метод получения очищенного препарата ГЛК из печени крысы с сохранением нативных свойств фермента и проанализировано влияние KCl и дитиотрейтола (ДТТ) на кооперативность ГЛК при взаимодействии с Glc.

Методы исследования

В опытах использовали белых крыс весом 180–200 г, содержавшихся на стандартной диете (пищевые гранулы для грызунов, *ed libitum*). Эксперименты проводили в соответствии с Международ-

ными стандартами по лабораторной практике (Good Laboratory Practice, GLP). Все процедуры по получению клеточных фракций и препаратов фермента проводили при 2°C.

Получение растворимой фракции. После декаптации животных печень извлекали, охлаждали и промывали ледяной водой, освобождали от жира, соединительной ткани и кровеносных сосудов и измельчали ножницами. Навеску измельченной ткани гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера (стекло-тефлон) в пятикратном объеме среды выделения (25 мМ Tris-HCl, pH 7,6; 250 мМ сахараза; 1 мМ ЭДТА; 2 мМ ДТТ) в течение 1 мин при скорости вращения пестика 800 об/мин. К гомогенату добавляли среду выделения до 10-кратного разведения и центрифугировали при $25\,000 \times g$ в течение 30 мин. Полученный супернатант представлял собой растворимую клеточную фракцию.

Получение препарата ГЛК из растворимой фракции проводили методом ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе (готовилась в виде суспензии в 10 мМ К-фосфатном буфере, pH 7,0, 90 мг ионообменника/мл). К растворимой фракции, содержащей все изoenzymы ГК, при перемешивании добавляли по каплям ДЭАЭ-целлюлозу до соотношения 0,1 мл суспензии на 1 мл растворимой фракции и выдерживали при постоянном перемешивании 15 мин. ДЭАЭ-целлюлозу с адсорбированными на ней белками отделяли на воронке Бюхнера. Полноту адсорбции ГЛК контролировали, измеряя активность фермента в полученном фильтрате.

Изоenzимы ГК с высоким сродством к Glc элюировали с ДЭАЭ-целлюлозы раствором, содержащим 150 мМ KCl, 10 мМ К-фосфатного буфера, pH 7,0, и 2 мМ ДТТ в объеме, равном объему растворимой фракции, взятой в эксперимент. Осадок ионообменника с адсорбированными ферментами суспендировали в элюирующем растворе, суспензию переносили в химический стакан и элюировали примесные изoenzymы ГК в течение 15 мин при постоянном перемешивании. ДЭАЭ-целлюлозу с адсорбированной ГЛК отделяли на воронке Бюхнера. Для полноты отделения изoenzymов ГК от ГЛК проводили повторную элюцию тем же раствором.

Элюцию глюкокиназы с ДЭАЭ-целлюлозы проводили раствором, содержащим 400 мМ KCl, 10 мМ К-фосфатного буфера, pH 7,0, и 2 мМ ДТТ. При однократной элюции выход фермента составлял 60–70%, при 2-кратной — 80–90%.

Высаливание ГЛК из элюата проводили сульфатом аммония при насыщении 65%. После добавления необходимого количества сухого сульфата аммония элюат инкубировали при постоянном перемешивании в течение 20 мин для формирования осадка белка. Осадок отделяли центрифугированием при $20\,000 \times g$ в течение 15 мин. ГЛК может храниться в полученном осадке при 2°C в течение нескольких дней без потери активности. Перед использованием осадок рас-

творяли в 50 мМ Tris-HCl, pH 7,8, содержащем 2 мМ ДТТ из расчета: осадок, полученный из 1 г ткани на 1 мл буфера. Непосредственно перед определением активности ГЛК препарат разводили в 10 раз буфером того же состава.

Определение активности ГЛК при 25°C проводили энзиматическим методом при непрерывной регистрации оптической плотности при 340 нм (за счет образования NADPH) с использованием сопряженной системы с глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (Г6ФДГ). Проба 1 (объем 1,5 мл) для определения общей гексокиназной активности (ГЛК + ГК) содержала 2–250 мМ глюкозы; 50 мМ Tris-HCl, pH 7,8; 5 мМ АТР; 10 мМ MgCl₂; 100 мМ KCl; 2 мМ ДТТ; 0,25 мМ NADP⁺; 1 IU Г6ФДГ; 50 мкл разведенного препарата фермента. Проба 2 (объем 1,5 мл) для определения активности изoenzymов ГК с высоким сродством к глюкозе содержала 0,8 мМ глюкозы и все указанные выше компоненты в тех же концентрациях. Активность ГЛК определяли по разнице активности в пробах 1 и 2. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое превращает 1 мкмоль субстрата за 1 мин при 25°C.

Определение активности ГЛК при 2°C проводили в пробирках Eppendorf, помещенных в лед, после установления в них температуры 2°C. Пробы 1 и 2 (см. выше) объемом 1,5 мл содержали все указанные выше компоненты, за исключением NADP⁺ и Г6ФДГ. Реакцию начинали добавлением 200 мкл препарата фермента и инкубировали пробы 10 мин. Реакцию останавливали нагреванием пробирок в кипящей водяной бане (3 мин). Белок осаждали центрифугированием при $13\,000 \times g$ в течение 5 мин. Аликвоты количественно переносили в кюветы спектрофотометра, добавляли NADP⁺ и Г6ФДГ и определяли количество Г6Ф, образовавшегося в ходе гексокиназной реакции.

Исследование инактивации ГЛК проводили, инкубируя разведенный препарат ГЛК в кювете спектрофотометра в среде для определения активности в отсутствие Glc, MgATP, KCl и ДТТ. Концентрация фермента составляла 5×10^{-3} ед./мл, время инкубации — 1–6 мин при 25°C. Остаточную активность ГЛК определяли после добавления субстратов (Glc и MgATP). В качестве контроля использовали пробу, не содержащую KCl и ДТТ, без инкубации фермента в отсутствие субстратов и стабилизаторов.

В таблицах и на рисунках представлены средние значения параметров, полученные с использованием 3–10 препаратов. Во всех случаях стандартное отклонение ($\pm$ SD) не превышало 10% от величины параметра.

Результаты и их обсуждение

Получение нативного препарата ГЛК из растворимой фракции печени крысы. В полученной нами растворимой фракции печени активность ГЛК при концентрации Glc 100 мМ и суммарная активность

Очистка ГЛК печени крысы

Фракция	Объем, мл	Белок, мг	Общая активность, ед		Соотношение активностей ГЛК/ГК
			ГЛК	ГК	
Растворимая фракция	20	115,00	2,12 (100%)	1,40 (100%)	1,51
Адсорбат на ДЭАЭ-целлюлозе	—	—	2,12 (100%)	1,40 (100%)	1,51
Элюат (150 мМ KCl)	20	29,20	0,06 (3%)	0,96 (69%)	0,06
Элюат (400 мМ KCl)	20	8,20	1,60 (75%)	0,18 (13%)	8,89
Осадок после высаливания (65% насыщения $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	4	4,48	1,22 (58%)	0,04 (3%)	30,50

изоформ ГК с высоким сродством к Glc составили $1,23 \pm 0,2$ и $0,28 \pm 0,05$ мкмоль/мин на 1 г ткани при 25°C ($n = 10$) соответственно, что согласуется с данными литературы, согласно которым на долю активности ГЛК приходится 70–85% от общей гексокиназной активности [19, 20]. Однако присутствие изоформ ГК с высоким сродством к Glc усложняет исследование кооперативности ГЛК, поскольку в диапазоне концентраций Glc 1–6 мМ активность ГЛК сопоставима с суммарной активностью изоформ ГК с высоким сродством к Glc [14]. В связи с этим очевидна необходимость получения препаратов ГЛК, свободных от примеси других изоформ ГК.

В настоящей работе предложен быстрый метод получения высокоочищенного активного и стабильного препарата ГЛК с сохранением нативных кооперативных свойств фермента, практически свободного от примеси других изоформ ГК (табл. 1). Метод основан на ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе со ступенчатой элюцией и последующим высаливанием белка. Подобраны условия адсорбции белка (значение pH, низкая ионная сила, количество ионообменника), которые обеспечивали практически полное связывание ГЛК с ДЭАЭ-целлюлозой. Двукратная элюция 150 мМ KCl сопровождалась низкими потерями ГЛК ($3,1 \pm 1,1\%$, $n = 8$) и удалением ~70% изоформ ГК с высоким сродством к Glc. Двукратная элюция 400 мМ KCl обеспечивала высокий выход ГЛК ($80 \pm 6\%$, $n = 7$) (табл. 1). Дополнительную очистку обеспечивало высаливание ГЛК из элюата сульфатом аммония. Выход фермента при этом составил $60 \pm 3\%$ ($n = 5$) от исходной активности ГЛК в растворимой фракции.

Полученные препараты ГЛК практически не содержали примеси ГК (около 3% по активности) и могли храниться при 2°C в течение одной недели.

Стабильность и кинетические свойства ГЛК печени крысы. Известно, что ГЛК нестабильна при низких концентрациях, и разведение ГЛК из печени кролика до 5×10^{-3} ед. на 1 мл (при измерении актив-

Таблица 1

ности фермента) в отсутствие субстратов приводит к полной потере активности в течение 5 мин [19]. Инактивация предотвращается ионами K^+ , которые не влияют на кинетические параметры ГЛК. В отличие от K^+ восстановленный глутатион вызывает двукратное увеличение максимальной активности фермента, но не защищает ГЛК от инактивации при разведении [17]. В гомогенатах печени крысы ГЛК дольше сохраняет активность в присутствии ДТТ [19].

Нами показано, что в присутствии насыщающих концентраций субстратов разведение ГЛК до 5×10^{-3} ед. в 1 мл не приводило

к инактивации фермента по меньшей мере в течение 10 мин. Инкубация ГЛК в отсутствие субстратов сопровождалась ее инактивацией с $k_i = 0,71 \pm 0,044$ мин $^{-1}$. Введение в среду инкубации насыщающих концентраций одного из субстратов (Glc или MgATP) лишь частично защищало фермент от инактивации при разведении. Защитным действием обладали также ионы K^+ и в меньшей степени Na^+ , а также ДТТ (табл. 2).

Таблица 2

Влияние субстратов и эффекторов на стабильность ГЛК печени крысы при разведении

Среда инкубации: ГЛК 5×10^{-3} ед/мл, 25°C , pH 7,8	Активность, %
+ 100 мМ Glc, 5 мМ MgATP	100
+ 100 мМ Glc	30
+ 5 мМ MgATP	5
+ 2 мМ ДТТ	90
+ 100 мМ KCl	85
+ 100 мМ NaCl	30

Более того, ДТТ обладал и активирующим действием в отношении ГЛК: его введение в среду для определения активности почти в 3 раза увеличивало максимальную активность фермента (табл. 3). Таким образом, восстановленное состояние SH-групп необходимо для поддержания нативной конформации ГЛК и сохранении ее активности. Известно, что из 12 SH-групп в ГЛК печени крысы ни одна не локализована в консервативных последовательностях субстрат-связывающего центра фермента [21]. Это говорит о том, что поддержание нативного состояния ГЛК обеспечивается определенной конформацией всей молекулы фермента, а не только участков, формирующих активный центр.

Таблица 3

Влияние ДТТ на активность и значение $V_{\max}$ ГЛК при разведении в отсутствие субстратов и KCl

ДТТ, мМ	Активность ГЛК при разведении, %	$V_{\max}$, %
0	6,0	100
0,1	6,0	100
0,2	6,0	100
0,5	49,5	170
1,0	89,0	220
2,0	100	280
3,0	100	280

Зависимость скорости глюкокиназной реакции от концентрации глюкозы. Как видно из рис. 1, зависимость начальной скорости реакции от концентрации субстрата описывается типичной сигмоидой, что хорошо согласуется с данными литературы [6, 7, 10–12]. При обработке этого графика методом Силоновой—Курганова [22] коэффициент q , характеризующий меру отклонения сигмоиды от гиперболы, составил $2,0 \pm 0,1$ ($n = 10$). Значение коэффициента Хилла (h), характеризующее кооперативное взаимодействие ГЛК с Glc, составило $1,76 \pm 0,14$ ($n = 10$, рис. 2). При расчетах за $V_{\max}$ принимали скорость реакции при насыщении субстратом (в диапазоне концентраций Glc 80–250 мМ). Значение $S_{0,5}^{\text{Glc}}$, характеризующее сродство ГЛК к субстрату, составило $6,90 \pm 0,01$ мМ ($n = 10$, рис. 2). Ионы калия увеличивали сродство ГЛК к Glc (в отсутствие KCl $S_{0,5}^{\text{Glc}}$ составило $9,9 \pm 0,8$ мМ ($n = 3$) и не влияли на кооперативность фермента ($h = 1,70 \pm 0,06$, $n = 3$, рис. 2).

При температуре 2°C (рис. 2) по сравнению с температурой 25°C степень кооперативности ГЛК снижалась ($h = 1,35 \pm 0,02$, $n = 3$). Кроме того, почти в три раза снижалось сродство фермента к субстрату — $S_{0,5}^{\text{Glc}} = 20,0 \pm 1,8$ мМ ($n = 3$).

Таким образом, можно заключить, что именно кооперативность ГЛК обеспечивает физиологически необходимый уровень активации фермента в условиях гипергликемии. Гипотетическая ГЛК, лишенная кооперативности по субстрату и обладающая низким сродством к нему, не могла бы эффективно утилизировать Glc даже при очень высокой степени гипергликемии. Кооперативность проявляется и в экспериментах с культурой гепатоцитов, когда при инкубации

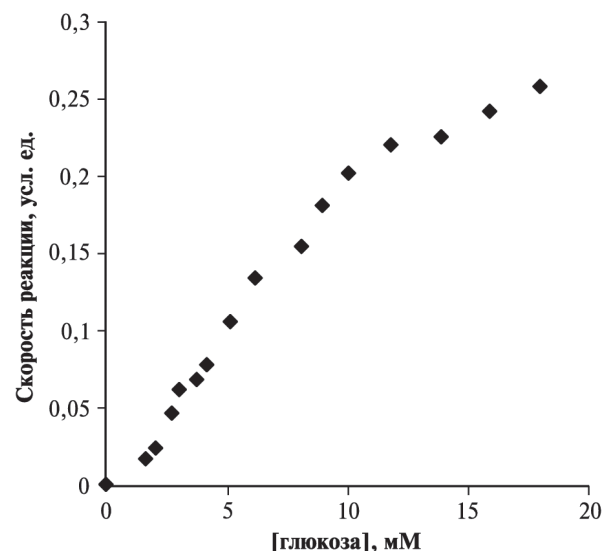


Рис. 1. Зависимость скорости глюкокиназной реакции от концентрации Glc в присутствии стабилизаторов фермента

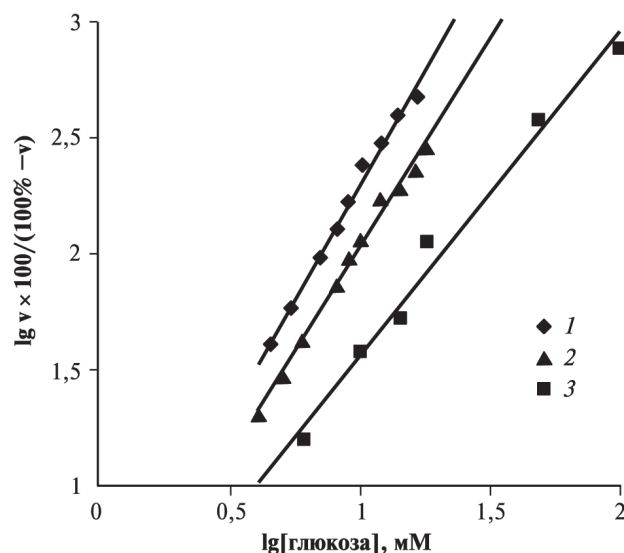


Рис. 2. Зависимость скорости глюкокиназной реакции от концентрации Glc в разных условиях в координатах Хилла: 1 — 25°C, в присутствии 100 мМ KCl; 2 — 25°C, в отсутствие 100 мМ KCl; 3 — 2°C, в присутствии 100 мМ KCl

клеток в среде с возрастающими концентрациями Glc наблюдается S-образное увеличение значений параметров, прямо зависящих от активности ГЛК: скорости фосфорилирования Glc, концентрации Г6Ф и уровня гликогена [8].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Massa M.L., Gagliardino J.J., Francini F. Liver glucokinase: An overview on the regulatory mechanisms of its activity // IUBMB Life. 2011. Vol. 63. N 1. P. 1–6.
2. Postic C., Shiota M., Magnuson M.A. Cell-specific roles of glucokinase in glucose homeostasis // Recent Prog. Horm. Res. 2001. Vol. 56. P. 195–217.

3. Nordlie R.C., Foster J.D., Lange A.J. Regulation of glucose production by the liver // Annu. Rev. Nutr. 1999. Vol. 19. P. 379–406.
4. Аврамова Л.В. Влияние участников гексокиназной реакции на взаимодействие гексокиназы с митохондриями: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1994. 149 с.

5. Seoane J., Gomez-Foix A.M., O'Doherty R.M., Gomez-Ara K., Newgard C.B., Guinovart L.L. Glucose 6-phosphate produced by glucokinase, but not hexokinase I, promotes the activation of hepatic glycogen synthase // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271. N 39. P. 23756—23760.
6. Cardenas M.L. Glucokinase: its regulation and role in liver metabolism. Austin: Landes Company, 1995. 210 p.
7. Cardenas M.L. Comparative biochemistry of glucokinase // *Basics to novel therapeutics* / Eds. F.M. Matschinsky, M.A. Magnuson. Basle: Karger, 2004. P. 31—41.
8. H rndahl L., Schmoll D., Herling A.W., Agius L. The role of glucose 6-phosphate in mediating the effects of glucokinase overexpression on hepatic glucose metabolism // *FEBS J.* 2006. Vol. 273. N 2. P. 336—346.
9. Storer A.C., Cornish-Bowden A. Kinetics of rat liver glucokinase. Co-operative interactions with glucose at physiologically significant concentrations // *Biochem. J.* 1976. Vol. 159. N 1. P. 7—14.
10. Moore M.C., Coate K.C., Winnick J.J., An Z., Cherrington A.D. Regulation of hepatic glucose uptake and storage in vivo // *Adv. Nutr.* 2012. Vol. 3. N 3. P. 286—294.
11. Larion M., Miller B.G. Homotropic allosteric regulation in monomeric mammalian glucokinase // *Arch. Biochem. Biophys.* 2012. Vol. 519. N 2. P. 103—111.
12. Heredia V.V., Thomson J., Nettleton D., San S. Glucose-induced conformational changes in glucokinase mediate allosteric regulation: transient kinetic analysis // *Biochemistry.* 2006. Vol. 45. N 24. P. 7553—7568.
13. Гончарова Н.Ю. Особенности кинетического поведения глюкокиназы в регуляции активности фермента в печени крысы // Мат-лы съезда Биохимического общества Российской академии наук. Москва 19—23 мая 1997. Тезисы стендовых сообщений. Часть I. Пушино, 1997. С. 183.
14. Schimke R.T., Grossbard L. Studies on isozymes of hexokinase in animal tissues // *Ann. N.Y.: Acad. Sci.* 1968. Vol. 151. N 1. P. 332—350.
15. Cardenas M.L., Rabajille E., Niemeyer H. Maintenance of the monomeric structure of glucokinase under reacting conditions // *Arch. Biochem. Biophys.* 1978. Vol. 190. N 1. P. 142—148.
16. Lin S.X., Neet K.E. Demonstration of a slow conformational change in liver glucokinase by fluorescence spectroscopy // *J. Biol. Chem.* 1990. Vol. 265. N 17. P. 9670—9675.
17. Salas J., Salas M., Vinuela E., Sols A. Glucokinase of rabbit liver // *J. Biol. Chem.* 1965. Vol. 240. P. 1014—1018.
18. Holroyde M.L., Allen M.B., Storer A.C., Warsy A.S., Chesher J.M., Traver I.P., Cornish-Bowden A., Walker D.G. The purification in high yield and characterization of rat hepatic glucokinase // *Biochem. J.* 1976. Vol. 153. N 2. P. 363—373.
19. Davidson A.L., Arion W.J. Factors underlying significant underestimations of glucokinase activity in crude liver extracts: physiological implications of higher cellular activity // *Arch. Biochem. Biophys.* 1987. Vol. 253. N 1. P. 156—167.
20. Reyes A., Cardenas M.L. All hexokinase isoenzymes coexist in rat hepatocytes // *Biochem. J.* 1984. Vol. 221. N 2. P. 303—309.
21. Andreone T.L., Printz R.L., Pilkis S.L., Magnuson M.A., Granner D.K. The amino acid sequence of rat liver glucokinase deduced from cloned cDNA // *J. Biol. Chem.* 1989. Vol. 264. N 1. P. 363—369.
22. Курганов Б.И. Аллостерические ферменты. М.: Наука, 1978. 248 с.

Поступила в редакцию
06.02.14

CHARACTERISTICS OF REGULATION OF THE ACTIVITY OF GLUCOKINASE FROM RAT LIVER

L.Ya. Khu, N.Yu. Goncharova, A.M. Rubtsov

A simple method for purification of glucokinase from soluble fraction of rat liver has been developed which allows to obtain enzyme preparation with high specific activity and native cooperative characteristics practically lacking of contamination of other molecular forms of hexokinase. The dependence of enzyme activity upon glucose concentration shows pronounced sigmoid behavior: at 25°C and 2°C the Hill's coefficients on whole range of substrate concentration are equal to 1,76 and 1,35, and $S_{0,5}$ values for glucose are equal 6,9 mM and 20 mM, respectively. The role of kinetic mechanism of the reaction in the regulation of glucokinase activity in liver is discussed.

Key words: *glucokinase, hexokinase, cooperative properties.*

Сведения об авторах

Ху Ли Янь — магистрант кафедры биохимии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-29-25.
Гончарова Наталья Юрьевна — канд. биол. наук, доцент кафедры биохимии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-29-25; e-mail: nyugoncharova@mail.ru
Рубцов Александр Михайлович — докт. биол. наук, проф. кафедры биохимии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-44-34; e-mail: am_rubtsov@mail.ru

ЭКОЛОГИЯ

УДК 574.24

**ВЛИЯНИЕ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ
НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ****А.К. Юзбеков, М.А. Юзбеков****(кафедра общей экологии; e-mail: uak2003@mail.ru)*

Путем анализа динамики состояния атмосферного воздуха выявлено неблагоприятное влияние хозяйственной деятельности промышленных производств на экологическую ситуацию в Новгородской области. В результате корреляционного анализа связи между плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и заболеваемостью населения болезнями органов дыхания установлено, что загрязнение атмосферного воздуха обусловило 56,5% болезней населения в муниципальных районах и 6% болезней детей в Великом Новгороде.

Ключевые слова: *загрязнение, атмосферный воздух, промышленное производство, болезнь, корреляционный анализ.*

В настоящее время экологическая ситуация в России находится в критическом состоянии. Динамика основных экологических показателей показывает увеличение негативного воздействия на окружающую среду; отмечаются тенденции сокращения видового биологического разнообразия и изменения состояния окружающей среды на фоне потепления климата. В городах с высоким уровнем загрязнения воздуха проживает 54% городского населения. Ежедневно с проблемой качества воды сталкивается более 40% населения страны [1].

Ухудшение состояния окружающей среды стало в большей степени отражаться на качестве жизни: увеличилось количество экологически обусловленных заболеваний, наблюдается высокий уровень смертности и в связи с этим низкая ожидаемая продолжительность жизни населения.

В последние годы направление на включение показателя здоровья в анализ экологических проблем все более явно прослеживается в разработках международных организаций [2]. Во многих странах проводятся исследования, чтобы выяснить, насколько значительно влияние загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферный воздух, на состояние здоровья населения, какие болезни особенно часто возникают под влиянием веществ, попадающих в окружающую среду, сколько случаев смертности среди населения связано с загрязнением [3–7]. Согласно формуле, предложенной USA Health Department [8], доля экологического фактора в уровне заболеваемости населения составляет 1/5 часть влияния всех факторов. Однако, по мнению некоторых ученых, экологическая составляющая в общем воздействии на здоровье населения значительно больше — 40–60% [9].

Рост нагрузки на окружающую среду в первую очередь связан с производственной деятельностью предприятий и развитием автомобильного транспорта. В этих условиях оценка экологических воздействий промышленного производства на окружающую среду и здоровье населения приобретает актуальное значение, а уменьшение этого влияния является одной из приоритетных задач экологической политики в регионе.

Объекты и методы

Объектом нашего исследования являются промышленные предприятия Новгородской области, производственная деятельность которых оказывает негативное воздействие на окружающую среду и здоровье населения.

Анализ динамики состояния окружающей среды в Новгородской области провели по натуральным показателям (объем и структура выбросов вредных веществ в атмосферу от стационарных источников).

Для анализа зависимости заболеваемости населения от загрязнения атмосферы использовали корреляционный анализ.

Источники информации: данные территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Новгородской области, Комитета по охране здоровья населения Администрации Новгородской области, Комитета по охране окружающей среды и природных ресурсов Новгородской области, государственная статистическая отчетность по охране окружающей среды предприятий промышленных производств.

* НоВГУ им. Ярослава Мудрого, г. Великий Новгород.

Результаты и обсуждение

Анализ динамики состояния окружающей среды в регионе

Качество воздушного бассейна является его важнейшей характеристикой, так как нормальная жизнедеятельность людей требует не только наличия воздуха, но и его определенной чистоты. В 2011 г. выбросы загрязняющих веществ в атмосферу от всех источников, расположенных на территории Новгородской области, составили 109 тыс. т, в том числе 42 тыс. т от стационарных источников (или 38,5% от общего количества).

По объемам выбросов в атмосферный воздух от стационарных источников основными загрязнителями являлись *обрабатывающие производства*. Наблюдения велись за 53 ингредиентами. Расчеты показали, что выбросы загрязняющих веществ в атмосферу за период наблюдений от обрабатывающих производств увеличились на 5% и составили в 2011 г. 18,7 тыс. т (44,5% объема по области).

За годы наблюдений общая структура выбросов в атмосферу претерпела определенные изменения (рис. 1).

В течение периода исследований в связи с изменением объемов и видов производимой на предприятиях продукции увеличились выбросы таких загрязнителей, как оксид углерода (на 5%), оксид азота (на 33%), ЛОС (на 67%), но сократились выбросы твердых веществ (на 23%). В группе специфических веществ произошло увеличение выбросов аммиака (на 16%), формальдегида (на 211%), меди (на 10%), метана (на 360%) и уменьшение фенола (на 93%), свинца (на 65%).

Динамика выбросов загрязняющих веществ от стационарных источников обрабатывающих производств по видам экономической деятельности представлена на рис. 2.

Среди предприятий обрабатывающей отрасли следует выделить в особую группу предприятия *химического производства*, которые доминируют по воздействию на экологическую ситуацию в регионе. В выбросах вредных веществ в атмосферу химического производства присутствовали как наиболее распространенные вещества (диоксид серы, оксид азота, оксид углерода, взвешенные вещества), так и специфические (аммиак, бензин, сероводород, толуол, ацетон, бензол, ксилол, формальдегид, дихлорэтан, этилацетат, серная кислота, метанол, капролактан, фенол, хлористый водород, бенз(а)пирен, шестивалентный хром, марганец и его соединения, оксид меди, свинец).

На долю химического производства приходилось около 1/7 части всех выбросов в атмосферу от стационарных источников Новгородской области, или 1/3 часть от общего количества вредных веществ, поступивших в атмосферу с выбросами обрабатывающих производств. За период наблюдений произошло увеличение выбросов загрязняющих веществ в атмосферу на 20%. При этом в 2008—2009 гг. в связи с вводом в действие новых предприятий не отмечалось характерное для других производств уменьшение загрязнений, обусловленное кризисными явлениями в экономике.

На долю *производства прочих неметаллических минеральных продуктов* приходилось около 1/8 части выбросов загрязняющих веществ в атмосферу от стационарных источников Новгородской области (1/3 часть от выбросов обрабатывающих производств). В выбросах присутствовали оксид азота, оксид углерода, диоксид серы, фенол, формальдегид, аммиак, углеводороды предельные C12—C19, оксиды алюминия и железа, марганец и его соединения, взвешенные вещества, пыль неорганическая, содержащая двуокись кремния; карбонат калия. За период исследования поступление вредных веществ в атмосферный воздух в целом по отрасли снизилось на 31%. При этом

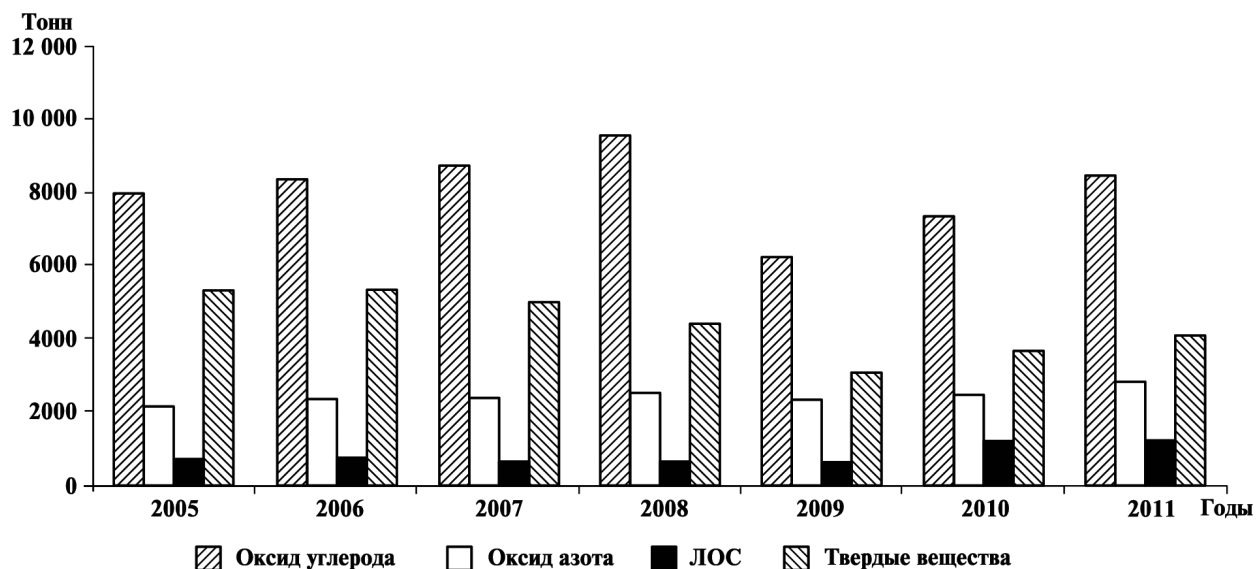


Рис. 1. Структура выбросов загрязняющих веществ в атмосферу обрабатывающими производствами

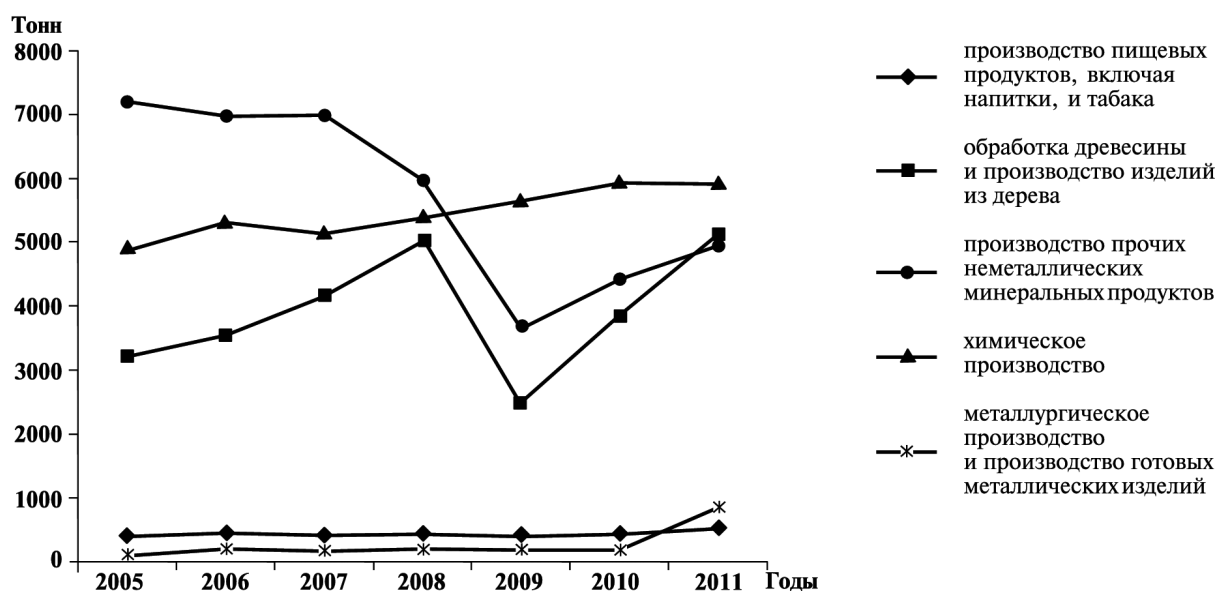


Рис. 2. Выбросы загрязняющих веществ в атмосферу обрабатывающими производствами

в 2009 г. наблюдались минимальные объемы выбросов, обусловленные спадом производства.

Лесоперерабатывающий комплекс Новгородской области развивается быстрыми темпами. Большое место в структуре отрасли занимает производство фанеры, ДСП, пиломатериалов; производятся окна, двери, мебель. Для отрасли характерны выбросы загрязняющих веществ, которые обусловлены технологическими процессами в производстве (фенол, формальдегид, аммиак, ксилол, винилбензол, толуол, бутилацетат, этилацетат, марганец и его соединения, взвешенные вещества; пыль неорганическая, содержащая двуокись кремния).

Согласно нашим расчетам, деревообрабатывающая отрасль вносит вклад в загрязнение атмосферного воздуха в регионе на уровне 8% объема выбросов от стационарных источников Новгородской области (22% от выбросов обрабатывающих производств) [10]. За период исследований суммарные выбросы загрязняющих веществ в атмосферу предприятий отрасли увеличились на 58%. Общая структура выбросов в атмосферу за наблюдаемый период претерпела изменения: увеличилось количество оксида азота (на 380%), аммиака (на 313%), ЛОС (на 255%), в том числе формальдегида (на 571%), оксида углерода (на 36%).

Металлургическое производство Новгородской области относится к предприятиям, которые занимаются переработкой цветных металлов. Металлургическое производство вносит вклад в загрязнение атмосферного воздуха на уровне 0,6% объема выбросов от всех стационарных источников региона (в 2011 г. — 2%). Для отрасли характерны выбросы таких загрязняющих веществ, как диоксид серы, оксид азота, оксид углерода, оксид меди, марганец, сажа. В общей структуре выбросов в атмосферу за наблюдаемый период произошли изменения: за 2005—2010 гг. увеличилось количество диоксида серы (в 1,4 раза), оксида углерода (в 2,4 раза), мар-

ганца (в 15 раз), стирола (в 32 раза), соляной кислоты (в 1,8 раза), появился хром шестивалентный. В 2011 г. в связи с появлением новых стационарных источников произошло увеличение объемов выбросов диоксида серы — в 3,6 раза, оксидов азота и углерода — в 6,5 раза, марганца — в 1,6 раза.

Пищевая промышленность загрязняет воздушную среду в меньшей степени, чем рассмотренные выше производства. Загрязнения, поступающие в атмосферу от пищевых предприятий, разнообразны и зависят от вида продукции. В выбросах в атмосферу наблюдалось присутствие таких веществ, как оксид азота, оксид углерода, диоксид серы, фенол, формальдегид, аммиак, метанол, этанол, ацетальдегид, пропаналь, бенз(а)пирен, оксид железа, марганец и его соединения, взвешенные вещества, пыль неорганическая, содержащая двуокись кремния; пыль пентоксида ванадия. Для объемов загрязняющих веществ были характерны небольшие синусоидальные изменения во времени; при этом значения выбросов находились на уровне 400—450 т/год.

Топливо-энергетический комплекс Новгородской области играет важную роль в экономике региона, так как обеспечивает необходимые потребности общества в энергетических продуктах и услугах.

Согласно нашим расчетам, предприятия производства и распределения электроэнергии, газа и воды вносят вклад в загрязнение атмосферного воздуха на уровне 1/5 объема выбросов от стационарных источников региона [11]. За период исследований выбросы загрязняющих веществ в атмосферу увеличились на 75%. Уменьшение объемов вредных веществ в 2009 г. по сравнению с 2008 г. на 23% обусловлено экономическим спадом в регионе в секторе обрабатывающих производств. Восстановление экономики привело к увеличению выбросов в атмосферу в 2010 г. до докризисных показателей и к их дальнейшему росту (на 34%) в 2011 г. до 11,5 тыс. т.

Для энергетического сектора в регионе характерны выбросы таких загрязняющих веществ, как диоксид серы, оксиды азота и углерода, аммиак, бенз(а)-пирен, сажа. Общая структура выбросов в атмосферу за наблюдаемый период претерпела изменения: увеличилось количество диоксида серы (на 73%), оксида углерода (на 150%), аммиака (на 31%), сажи (на 796%), сероводорода (на 44%), появились в выбросах такие вредные вещества, как хлор, метан.

Таким образом, анализ экологической ситуации в Новгородской области выявил, что производственная деятельность промышленных предприятий неблагоприятно влияла на окружающую среду в течение всего периода исследований. Несмотря на некоторое оздоровление окружающей среды, вызванное спадом производства в 2009 г., сохранялась острота экологических проблем в регионе.

Оценка нарушений здоровья населения, обусловленных загрязнением атмосферного воздуха

Каждый человек находится под влиянием различных факторов, сложные взаимодействия которых определяют состояние его здоровья и продолжительность жизни и, следовательно, влияют на уровень и качество жизни. Загрязнение атмосферного воздуха является одним из важнейших факторов среды обитания человека, от которого зависят названные показатели.

В работе исследована заболеваемость населения болезнями органов дыхания. Органы дыхания находятся на границе раздела двух сред (внутренней среды организма и внешней) и постоянно подвергаются неблагоприятному влиянию веществ, загрязняющих атмосферный воздух, поэтому, по мнению ряда авторов, широкая распространенность болезней системы дыхания среди населения в значительной мере связана с загрязнением окружающей среды [9, 12]. Анализ общей заболеваемости населения в Новгородской области показал, что болезни органов дыхания занимали первое место в ее структуре (23,7%), при этом доля заболеваемости органов дыхания детского населения в общей детской заболеваемости более чем в 2 раза превышала аналогичный показатель для всего населения. В результате оценки состояния здоровья населения по статистическим данным о количестве случаев заболеваний органов дыхания у взрослых (от 17 лет и старше) и детей (0—17 лет) было установлено, что коэффициенты заболеваемости в каждой группе отличаются друг от друга в разных муниципальных образованиях региона.

В качестве индикатора загрязнения атмосферы нами была выбрана плотность суммарных выбросов загрязняющих веществ от стационарных источников и автотранспорта. Расчеты показали, что плотность выбросов характеризовалась неравномерностью распределения по административным территориям области и изменялась в пределах от наименьшего

значения в 0,26 т/км² (в 9 раз меньше среднего уровня по области) до наибольшего значения, равного 426,23 т/км² (в 185 раз выше среднего значения по области).

Таким образом, учитывая территориальную зависимость показателей, дальнейшее исследование провели по 22 муниципальным образованиям.

Мы предположили наличие линейной связи между плотностью суммарных выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и числом случаев болезней органов дыхания. Это было подтверждено дальнейшими расчетами, уравнение корреляционной связи имеет вид

$$Y = a + b \cdot X. \quad (1)$$

В работе был выполнен корреляционный анализ связи плотности выбросов вредных веществ с численностью заболевших в муниципальных районах для каждого года отдельно, а также для средних значений показателей за период наблюдений. Результаты модельных расчетов по заболеваемости взрослого населения представлены в табл. 1

Таблица 1

Коэффициенты корреляции заболеваемости взрослого населения с плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу

Годы	Показатель				
	a	b	r	r ²	p
2005	1250	1633	0,558	0,311	< 0,01
2006	1167	1551	0,507	0,257	< 0,02
2007	140	2281	0,637	0,406	< 0,001
2008	−681	2736	0,703	0,494	< 0,001
2009	−1149	3569	0,738	0,544	< 0,001
2010	−629	2798	0,721	0,520	< 0,001
2005—2010 гг.	−111	2503	0,671	0,450	< 0,001

Примечание: a — свободный коэффициент уравнения регрессии; b — коэффициент регрессии при плотности выбросов вредных веществ; r — коэффициент корреляции между числом заболевших и плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу.

Как следует из табл. 1, значения коэффициента b, связанного с плотностью выбросов, свидетельствуют о наличии прямой связи между плотностью выбросов и заболеваемостью органов дыхания взрослого населения, т.е. рост загрязнения воздуха сопровождался увеличением заболеваемости населения. Среднее значение коэффициента корреляции за период наблюдений составило $r = 0,644$.

В результате расчетов установили, что около 56,5% заболеваемости взрослого населения связано с загрязнением атмосферы, на долю других факторов приходится соответственно 43,5%.

Корреляционный анализ, выполненный по средним данным за период исследований, подтвердил значения коэффициентов корреляции, полученные за каждый год. Линейный коэффициент корреляции, рассчитанный по средним значениям показателей, равнялся $r = 0,671$ ($p < 0,001$), что свидетельствовало о наличии хорошей связи между плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и числом заболевших. В работе рассчитали наименьшую плотность загрязняющих веществ, при которой заболеваемость зависела от фактора-признака: $X_{\min} = 0,044 \text{ т/км}^2$.

Результаты анализа корреляционной связи между плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и численностью заболевших детей в муниципальных районах представлены в табл. 2.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции заболеваемости детского населения с плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу

Годы	Показатель				
	a	b	r	r ²	p
2005	1237	1414	0,521	0,271	< 0,02
2006	1125	1710	0,519	0,269	< 0,02
2007	–10	2366	0,711	0,505	< 0,001
2008	–608	2869	0,778	0,606	< 0,001
2009	–1495	4252	0,811	0,658	< 0,001
2010	–1380	3490	0,808	0,653	< 0,001
2005–2010 гг.	–239	2705	0,713	0,508	< 0,001

Примечание: обозначения см. в табл. 1.

Значение коэффициента b , связанного с плотностью выбросов, в течение периода наблюдений было положительным по знаку и свидетельствовало о наличии прямой связи между плотностью выбросов в атмосферу и заболеваемостью органов дыхания детей. При этом теснота связи между показателями была хорошей: среднее значение коэффициента корреляции за период наблюдений $r = 0,691$. Согласно расчетам, доля влияния выбросов загрязняющих веществ на заболеваемость детского населения болезнями органов дыхания в общем воздействии всех факторов составила 56,5%.

Корреляционный анализ, выполненный по средним за период исследований данным заболеваемости детского населения, подтвердил наличие тесной связи между плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и числом заболевших детей: линейный коэффициент корреляции равнялся $r = 0,713$ ($p < 0,001$). Рассчитанная минимально возможная величина фактора X , при которой обеспечивалось наименьшее значение признака Y , составила $X_{\min} = 0,088 \text{ т/км}^2$.

Поскольку при корреляционном анализе, выполненном по муниципальным районам, Великий Новгород был исключен из первичной информации при проверке ее на нормальность распределения с помощью правила “трех сигм”, расчеты для областного центра провели отдельно. При этом в качестве показателя, характеризующего качество атмосферного воздуха, использовали индекс загрязнения атмосферного воздуха (ИЗА).

В случае детской заболеваемости в Великом Новгороде уравнение регрессии имеет вид:

$$Y = 87,66 X + 1341. \quad (2)$$

Значение коэффициента b при ИЗА свидетельствовало о наличии прямой корреляционной связи между показателями: при изменении ИЗА на 1 единицу, заболеваемость детей изменялась на 87,66 случая на 1000 детей (с учетом средней численности детей в городе за период наблюдений — 6110 случаев заболеваемости); коэффициент линейной корреляции составил $r = 0,688$. В результате расчетов установили, что доля влияния выбросов загрязняющих веществ на заболеваемость детского населения в общем воздействии всех факторов в Великом Новгороде составила чуть более 6%.

Корреляционная связь между заболеваемостью взрослого населения в Великом Новгороде и загрязнением атмосферного воздуха не наблюдалась, что, по-видимому, можно объяснить преобладающим воздействием других факторов на численность заболевших по сравнению с влиянием изучаемого показателя.

Таким образом, в результате проведенной оценки заболеваемости населения Новгородской области через конкретные показатели состояния окружающей среды было установлено влияние загрязнения атмосферы на здоровье людей. Это подтвердила прямая корреляционная связь между плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и заболеваемостью детского и взрослого населения болезнями органов дыхания.

Выводы

На основе выполненного исследования были сделаны следующие выводы.

1. В течение всего периода наблюдений выявлено неблагоприятное влияние промышленных производств на экологическую обстановку в Новгородской области. Несмотря на некоторое оздоровление окружающей среды, вызванное кризисными явлениями в экономике в 2009 г., сохранялась острота экологических проблем в регионе. Основными загрязнителями окружающей среды в группе обрабатывающих производств являлись химическое производство, производство огнеупоров и обработка древесины; значительные выбросы в атмосферу характерны для топливно-энергетического комплекса, на долю которых

приходилось 14, 12, 8 и 20% выбросов от стационарных источников области соответственно.

2. Корреляционный анализ связи между плотностью выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и заболеваемостью детского и взрослого населения болезнями органов дыхания в муниципальных районах Новгородской области (коэффициенты корреляции составили $r = 0,713$ и $r = 0,671$ соответственно), а также между ИЗА и детской заболеваемостью

в Великом Новгороде (коэффициент корреляции $r = 0,688$) подтвердил влияние загрязнения атмосферы на здоровье людей. Установлено, что 56,5% болезней органов дыхания населения в муниципальных районах обусловлено загрязнением атмосферного воздуха; доля влияния выбросов загрязняющих веществ на заболеваемость детей в Великом Новгороде в общем воздействии всех факторов составила 6%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Распоряжение правительства РФ от 17.11.2008 № 1662-р. (ред. от 08.08.2007). Официальный сайт Консультант Плюс [электронный ресурс] 2009. URL: <http://www.consultant.ru/> (дата обращения 12.04.2013).
2. Доклад о развитии человеческого потенциала в 2005 году в Российской Федерации / Под ред. С.Н. Бобылева и А.Л. Александровой. М.: ПРООН, 2006—2007. 145 с.
3. Мамин Р.Г. Безопасность природопользования и экология здоровья. М.: Юнити—Дана, 2003. 238 с.
4. Робертсон Д.С. Негативное влияние растущего уровня углекислого газа в атмосфере на организм человека // Экол. вест. России. 2008. № 9. С. 23—25.
5. Чехановер А. Качество окружающей среды очень важно для здоровья // Экология и жизнь. 2011. № 10. С. 83—84.
6. Brunekreef B., Holgate S.T. Air pollution and health // Lancet. 2002. Vol. 360. N 9341. P. 1233—1242.
7. Van Oostdam I., Donaldson S.G., Feeley M. et al. Human health implication of environmental contaminants in Arctic

Canada: a review // Sci. Total. Environ. 2005. Vol. 351—352. P. 165—246.

8. Протасов В.Ф. Экология, здоровье и охрана окружающей среды в России. М.: Финансы и статистика, 2000. 672 с.

9. Гичев Ю.П. Загрязнение окружающей среды и здоровье человека (печальный опыт России). Новосибирск: СО РАМН, 2002. 230 с.

10. Бобров А.Л., Юзбеков М.А. Природоохранная деятельность деревообрабатывающего производства // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 6. Экономика. 2012. № 5. С. 98—104.

11. Юзбеков М.А., Юзбеков А.К. Эколого-экономические аспекты природоохранной деятельности топливно-энергетического комплекса региона // Фундаментальные исследования. 2012. № 6 (часть 3). С. 771—774.

12. Безуглая Э.Ю., Смирнова И.В. Воздух городов и его изменения. СПб.: Астерион, 2008. 254 с.

Поступила в редакцию
13.09.13

EFFECTS OF INDUSTRIAL POLLUTION ON THE RESPIRATORY DISEASES

A.K. Uzbekov, M.A. Uzbekov

Analysis of the dynamics of the state of atmospheric air revealed adverse effects of the business activities of industrial productions on the environmental situation in the Novgorod region. Using correlation analysis, a relationship between the density of emissions of polluting substances into the atmosphere and the incidence of respiratory diseases was established. Air pollution accounted for 56,5% of disease cases in the population of municipalities and 6% of the children of Veliky Novgorod.

Key words: *pollution, atmospheric air, industrial production, disease, correlation analysis.*

Сведения об авторах

Юзбеков Ахмед Кадималиевич — докт. биол. наук, проф. кафедры общей экологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-926-733-19-44; e-mail: uak2003@mail.ru

Юзбеков Марат Ахмедович — докторант кафедры экономики природопользования экономического факультета МГУ; канд. экон. наук, доц. кафедры управления и делового администрирования факультета управления Новгородского государственного университета имени Ярослава Мудрого. Тел. 8-908-293-91-53; e-mail: uma77@mail.ru

МИКОЛОГИЯ И АЛЬГОЛОГИЯ

УДК 582.29

ВЕРТИКАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИШАЙНИКОВ НА БЕРЕЗАХ В ОКРЕСТНОСТЯХ г. ПЕТРОПАВЛОВСК-КАМЧАТСКИЙ

Т.Ю. Толпышева, М.А. Коннычев

(кафедра микологии и альгологии; e-mail: tolpysheva@mail.ru)

Изучен видовой состав и частота встречаемости макролишайников на стволах *Betula ermanii* и *B. platyphylla*. Частота встречаемости большинства видов макролишайников на березах менее 10%. Частота встречаемости некоторых видов на разных уровнях стволов значительно различается. В целом частота встречаемости макролишайников на *B. ermanii* выше, чем на *B. platyphylla*. Методом однофакторного анализа прослежено распределение 10 доминирующих видов лишайников по высоте стволов. Достоверно приуроченные к основаниям стволов *Cladonia coniocraea*, виды р. *Parmeliopsis*, *Vulpicida pinastri*. Распределение *Cetraria sepincola* на стволах обоих видов берез равномерное. Встречаемость видов р. *Melanohalea* увеличивается от оснований стволов к ветвям на обоих видах берез. *Hypogymnia physodes*, *Parmelia squarrosa*, *P. sulcata* достоверно приурочены к середине стволов и ветвям только на *B. ermanii*; на *B. platyphylla* они распределены равномерно.

Ключевые слова: эпифитные лишайники, экология, вертикальное распределение видов.

Развитие лишайников на деревьях зависит от разных факторов: породы и возраста дерева, местоположения его в экотопе, структуры, химического состава и pH коры, освещенности, влажности, степени загрязнения воздуха. Некоторые виды предпочитают нижнюю часть ствола, другие тяготеют к кроне [1–4]. Имеются виды, которые поселяются только на основании стволов, например виды р. *Peltigera*. В то же время часть видов, как будто индифферентно относятся к своему местоположению на дереве.

Цель работы — определить отношение к местоположению на стволах наиболее часто встречающихся на березах видов макролишайников.

Характеристика района исследования

Город Петропавловск-Камчатский расположен на полуострове Камчатка на берегу Авачинской бухты. Климат Петропавловского района в целом морской, влажный. Значительное влияние на него оказывает незамерзающая Авачинская бухта, которая судоходна круглый год. Погода весьма изменчива. Нередко наблюдается такое явление: в районе города бушует сильная пурга, а в районе г. Елизово (24–28 км от города) стоит тихая, почти безветренная погода без осадков [5].

Среднегодовая температура воздуха повсеместно положительная, колеблется от 0,2°C (г. Елизово) до 2,2°C (г. Петропавловск-Камчатский). Годовая амплитуда 20–25°C. Абсолютный максимум температуры для г. Петропавловск-Камчатский 31°C, для г. Елизово 34°C. Абсолютный минимум температуры для

г. Петропавловск-Камчатский — 34° и для г. Елизово — 42°. Но такие крайние температуры отмечаются весьма редко. Осадки выпадают круглый год в большом количестве, но по сезонам распределяются неравномерно. В районе г. Петропавловск-Камчатский среднее многолетнее количество осадков 1119 мм, в г. Елизово — 761 мм [5].

Для района характерна большая мощность снежного покрова. В окрестностях г. Елизово и с. Коряки на открытых незалесенных участках мощность его колеблется в пределах 30–60 см, в лесу — примерно вдвое больше (80–100 см); высоты 1,5 м достигает редко. Столь мощный снежный покров стаивает поздно. Зимой повсеместно господствуют ветры северо-западных, северных и западных направлений, летом преобладают ветры южных и юго-восточных направлений. Наиболее интенсивным ветровым режимом характеризуется территория, прилегающая к Авачинской бухте. В районе г. Петропавловск-Камчатский среднегодовые скорости ветра достигают 6–7 м/с, в районе г. Елизово и с. Коряки вдвое меньше [6].

В окрестностях города развиты каменноберезовые (из *Betula ermanii* Cham.), реже белоберезовые леса из березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.). Каменная береза — горное дерево, но на Камчатке она встречается и в долинных местообитаниях, спускаясь на побережье почти к самому морю. Для камчатских каменноберезняков характерны кустарниково-разнотравные сообщества и отсутствие лишайниковых и сфагновых сообществ. Крупнотравные каменноберезняки встречаются в наиболее благоприятных условиях питания, увлажнения, аэрации и теп-

лового режима. Березовые леса Камчатки — это леса паркового типа, в сочетании с густым травянистым покровом [7, 8].

Несмотря на многочисленные исследования лишайников Камчатки, изучение лишайнобиоты березняков проводилось только на юго-западе полуострова в коренных старовозрастных каменноберезовых лесах [9]. Леса окрестностей г. Петропавловск-Камчатский отличаются от старовозрастных каменноберезовых лесов юго-западной Камчатки. Они моложе. Диаметры стволов деревьев здесь редко превышают 40 см. Высота деревьев *B. platyphylla* в среднем 8–10 м, *B. ermanii* — 12–14 м. Они выросли на месте ранее вырубленных каменноберезовых лесов. В них мало сенильных берез и валежа и они испытывают антропогенное воздействие: вытаптывание, загрязнение воздуха. Близость к океану также оказывает влияние на леса окрестностей города.

Материалы и методы

Эпифитные лишайники собирали в окрестностях г. Петропавловск-Камчатский в июле—сентябре 2010 и 2011 гг. Лишайники собирали в березняках, расположенных в разных направлениях (север, восток, запад, северо-северо-запад, восточно-юго-восток) и на разном расстоянии от г. Петропавловск-Камчатский. Минимальное расстояние от города 1 км, максимальное — 10 км. Обследована 121 береза: 77 *B. ermanii* и 44 *B. platyphylla*. Лишайники собирали с оснований стволов (до высоты 0,5 м), на высоте 1,5 м и с ветвей, преимущественно в нижней и средней частях кроны. В лабораторных условиях проводили

идентификацию видов по общепринятой методике с использованием стандартного набора реактивов [10].

Математическая обработка полученных данных проведена с помощью пакета статистических программ Statistica 8.0 и Microsoft Office Excel 2007. Встречаемость видов лишайников на березах в целом и на разных уровнях ствола и ветвях определялась отношением количества деревьев, на которых был встречен лишайник, к общему числу деревьев и выражалась в процентах. При построении графиков вертикального распределения видов лишайников на стволах берез использован метод однофакторного дисперсионного анализа. Достоверно отличающимися считались точки, 95%-е доверительные интервалы которых не перекрывались.

Результаты и обсуждение

На березах в окрестностях города выявлено 54 вида и 1 подвид макролишайников. Почти 60% из них составляют лишайники с листоватыми слоевищами. Преобладают виды сем. Parmeliaceae. Среди кустистых форм преобладают виды р. *Cladonia*. В целом видовой состав макролишайников на *B. ermanii* богаче, чем на *B. platyphylla* (46 и 38 видов соответственно).

Частота встречаемости большинства видов макролишайников на березах незначительная — менее 10% (таблица). Почти половина видов, из встреченных на *B. ermanii* и *B. platyphylla*, имеет частоту встречаемости менее 5%. Частота встречаемости отдельных видов на разных уровнях стволов нередко значительно различается. Частота встречаемости макролишайников, без учета их местоположения на стволах, на *B. erma-*

Частота встречаемости макролишайников на березах, %

Виды лишайников	<i>Betula ermanii</i>				<i>Betula platyphylla</i>			
	н	с	в	б.у.м.	н	с	в	б.у.м.
<i>Bryoria simplicior</i> (Vain.) Brodo et D. Hawksw.	0,0	5,2	15,6	16,9	0,0	3,9	7,8	7,8
<i>Cetraria sepincola</i> (Ehrh.) Ach.	13,0	5,2	18,2	33,8	20,8	19,5	23,4	39,0
<i>Cladonia arbuscula</i> (Wallr.) Flot.	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	1,3
<i>C. botrytes</i> (K.G. Hagen) Willd.	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	1,3
<i>C. brevis</i> (Sandst.) Sandst.	1,3	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. cenotea</i> (Ach.) Schaer.	3,9	0,0	0,0	3,9	2,6	0,0	0,0	2,6
<i>C. chlorophaea</i> (Flörke ex Sommerf.) Spreng.	9,1	0,0	0,0	9,1	3,9	0,0	0,0	3,9
<i>C. coniocraea</i> (Flörke) Spreng.	31,2	6,5	0,0	33,8	16,9	0,0	0,0	16,9
<i>C. cornuta</i> (L.) Hoffm.	19,5	1,3	0,0	19,5	10,4	0,0	0,0	10,4
<i>C. cryptochlorophaea</i> Asahina	1,3	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. digitata</i> (L.) Hoffm.	2,6	0,0	0,0	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. fimbriata</i> (L.) Fr.	15,6	0,0	0,0	15,6	13,0	0,0	0,0	13,0
<i>C. macilenta</i> Hoffm.	3,9	0,0	0,0	3,9	9,1	0,0	0,0	9,1
<i>C. macilenta</i> subsp. <i>bacillaris</i> Ach.	7,8	0,0	0,0	7,8	2,6	0,0	0,0	2,6
<i>C. pleurota</i> (Flörke) Schaer.	9,1	1,3	0,0	9,1	3,9	0,0	0,0	3,9

Окончание таблицы

Виды лишайников	<i>Betula ermanii</i>				<i>Betula platyphylla</i>			
	н	с	в	б.у.м.	н	с	в	б.у.м.
<i>C. polydactyla</i> (Flörke) Spreng.	9,1	1,3	0,0	10,4	9,1	0,0	0,0	9,1
<i>C. ramulosa</i> (With.) J.R. Laundon	6,5	1,3	0,0	6,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. rangiferina</i> (L.) F.H. Wigg.	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	1,3
<i>C. rei</i> Schaer.	0,0	1,3	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. scabriuscula</i> (Delise) Nyl.	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	0,0	0,0	2,6
<i>Cladonia subsquamosa</i> Kremp.	1,3	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cladonia</i> sp. ₁	9,1	1,3	0,0	10,4	7,8	0,0	0,0	7,8
<i>Cladonia</i> sp. ₂	3,9	0,0	0,0	3,9	3,9	0,0	0,0	3,9
<i>Evernia mesomorpha</i> Nyl.	0,0	2,6	1,3	3,9	0,0	0,0	2,6	2,6
<i>Hypogymnia bitteri</i> (Lynge) Ahti	2,6	10,4	3,9	14,3	6,5	5,2	0,0	10,4
<i>H. farinacea</i> Zopf	0,0	0,0	2,6	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>H. incurvodes</i> Rass.	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	1,3
<i>H. metaphysodes</i> (Asahina) Rassad.	0,0	1,3	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>H. physodes</i> (L.) Nyl.	0,0	15,6	19,5	31,2	6,5	11,7	9,1	20,8
<i>H. pseudophysodes</i> (Asahina) Rass.	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	1,3
<i>H. subduplicata</i> (Rass.) Rass.	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,3	1,3
<i>H. submundata</i> (Oxner) Rass.	0,0	1,3	0,0	1,3	0,0	0,0	2,6	2,6
<i>H. subobscura</i> (Vain.) Poelt	0,0	0,0	1,3	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>H. vittata</i> (Ach.) Parrique	0,0	0,0	2,6	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hypogymnia</i> sp. ₁	0,0	2,6	6,5	9,1	0,0	1,3	2,6	3,9
<i>Hypogymnia</i> sp. ₂	1,3	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Melanohalea exasperata</i> (L.) O. Blanco et al.	1,3	14,3	54,5	57,1	5,2	22,1	35,1	44,2
<i>M. exasperatula</i> (Nyl.) O. Blanco et al.	0,0	0,0	3,9	3,9	0,0	0,0	3,9	3,9
<i>M. olivacea</i> (L.) O. Blanco et al.	2,6	50,6	81,8	89,6	14,3	41,6	46,8	51,9
<i>M. septentrionalis</i> (Lynge) O. Blanco et al.	1,3	1,3	5,2	7,8	2,6	3,9	5,2	10,4
<i>Parmelia saxatilis</i> (L.) Ach.	0,0	7,8	7,8	13,0	1,3	1,3	1,3	3,9
<i>P. squarrosa</i> Hale	1,3	27,3	24,7	36,4	10,4	20,8	11,7	24,7
<i>P. sulcata</i> Taylor	3,9	62,3	61,0	83,1	19,5	31,2	28,6	41,6
<i>Parmelia</i> sp.	1,3	0,0	1,3	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Parmeliopsis ambigua</i> (Wulfen) Nyl.	50,6	20,8	5,2	55,8	29,9	5,2	3,9	32,5
<i>P. hyperopta</i> (Ach.) Vain.	42,9	7,8	2,6	45,5	10,4	0,0	0,0	10,4
<i>Peltigera aphthosa</i> (L.) Willd.	1,3	0,0	0,0	1,3	1,3	0,0	0,0	1,3
<i>Physcia adscendens</i> (Fr.) H. Olivier	0,0	1,3	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>P. aipolia</i> (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr.	0,0	1,3	1,3	2,6	1,3	1,3	0,0	2,6
<i>P. dubia</i> (Hoffm.) Lettau	0,0	1,3	2,6	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>P. tenella</i> (Scop.) DC	0,0	7,8	3,9	9,1	0,0	5,2	0,0	5,2
<i>Tuckermannopsis chlorophylla</i> (Willd.) Hale	0,0	0,0	1,3	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Vulpicida pinastri</i> (Scop.) J.-E. Mattsson	70,1	37,7	23,4	77,9	40,3	19,5	16,9	42,9
<i>Xanthoria candelaria</i> (L.) Th. Fr.	0,0	0,0	1,3	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>X. ulophyllodes</i> Räsänen	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,3

Примечание: н — основание ствола (до 0,5 м), С — высота 1,5 м (“середина ствола”), в — ветви, б.у.м. — без учета местоположения лишайника.

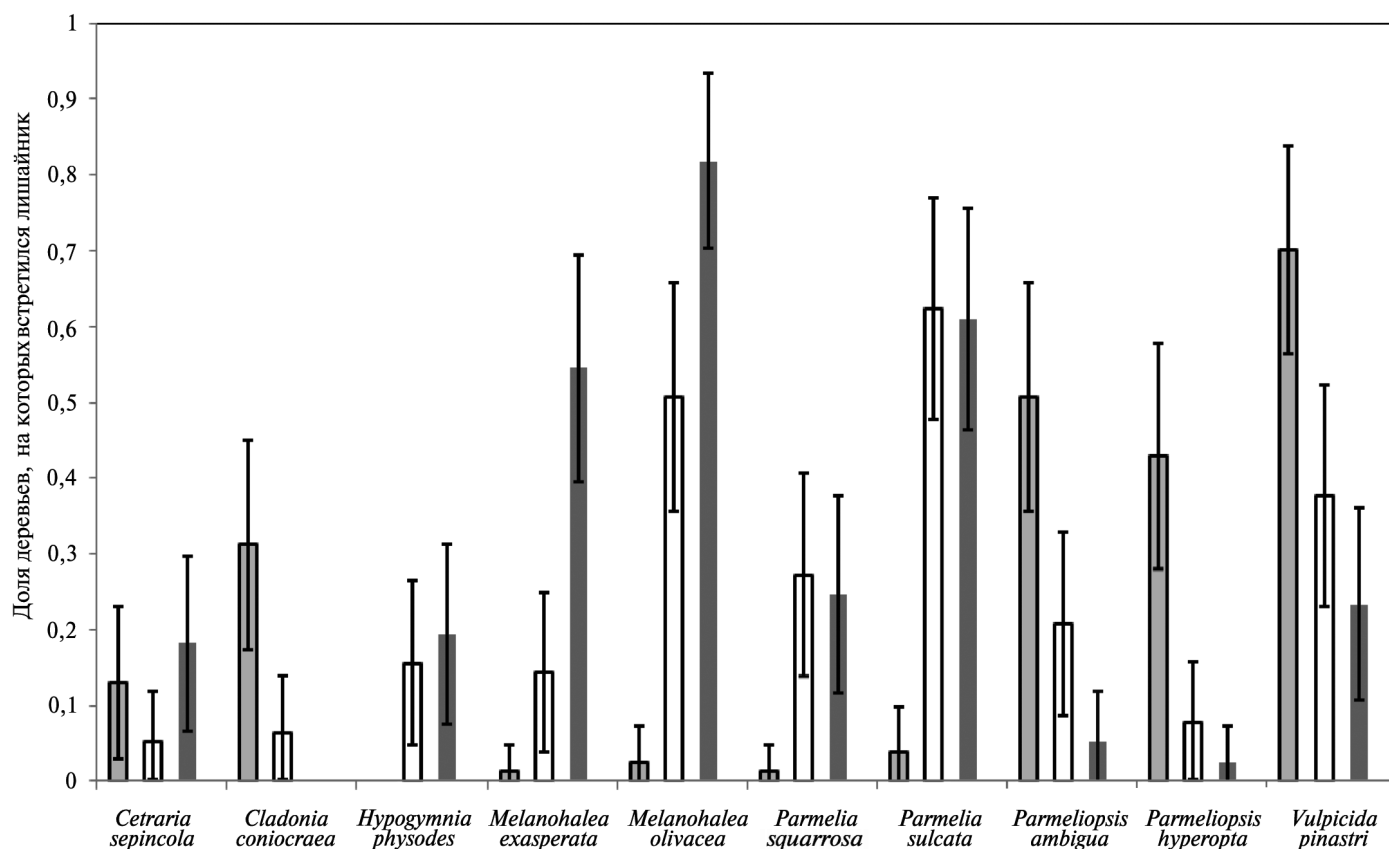


Рис. 1. Распределение доминирующих видов макролишайников на основании, середине ствола и ветвях *Betula ermanii*

nii, как правило, выше, чем на *B. platyphylla*. На *B. platyphylla* макролишайники чаще встречаются на основаниях стволов (в среднем 4,6 вида и максимум 14), чем на высоте 1,5 м или на ветвях (в среднем около 3,5 вида и максимум 7–8). На *B. ermanii* распределение более равномерное: в среднем по 3–3,5 вида и до 11–13 в каждом положении на стволе. Чаще других на березах встречаются *Cetraria sepincola*, *Cladonia coniocraea*, *Hypogymnia physodes*, *Melanohalea exasperata*, *M. olivacea*, *Parmelia squarrosa*, *P. sulcata*, *Parmeliopsis ambigua*, *P. hyperopta*, *Vulpicida pinastri*. Эти лишайники наиболее характерны в исследуемом районе для берез, некоторые из них относятся к числу фоновых видов. Большинство из них типично для берез и в других регионах России. Исключение *P. squarrosa* — вид, встречающийся только на востоке страны. Нечасто в европейской части России на березах встречается *M. exasperata*. За исключением *P. squarrosa*, все эти виды широко распространены в Голарктике.

На гистограммах (рис. 1, 2) видно, что *C. sepincola* распределяется по стволам обоих видов берез равномерно, но ее встречаемость на разных уровнях ствола на *B. platyphylla* больше, чем на *B. ermanii* (таблица). У остальных видов на *B. ermanii* как общая встречаемость, так и встречаемость на определенных уровнях стволов обычно значительно выше, чем на *B. platyphylla* (таблица). Возможно, это связано с различиями в выборках двух видов берез. Не исключе-

но также, что они обусловлены различиями в возрасте древостоя, высотой деревьев (у *B. platyphylla* высота в среднем 8–10 м, у *B. ermanii* — 12–14 м), наличием комля у стволов *B. ermanii* и отсутствием его у *B. platyphylla*.

C. coniocraea — растет на выступающих корнях, основаниях стволов, а на *B. ermanii* иногда встречается и на изгибах стволов. На обоих видах берез этот лишайник достоверно приурочен к основаниям стволов. Несмотря на то что *P. ambigua* и *V. pinastri* могут встречаться на разных уровнях стволов берез и на ветвях (таблица), они достоверно приурочены лишь к основаниям стволов (рис. 1, 2). *P. hyperopta* на *B. platyphylla* встречается только в нижней части стволов, но на *B. ermanii* поднимается выше по стволам и иногда растет на ветвях (таблица). Достоверно *P. hyperopta* приурочен на обоих видах берез к основаниям стволов.

M. exasperata и *M. olivacea* встречаются на всем протяжении стволов и на ветвях берез, и встречаемость этих лишайников с увеличением высоты возрастает. Особенно это характерно для *M. olivacea* на *B. ermanii* (таблица). *M. olivacea* имеет самую большую выборку: встретила на 69 березах из 77. Они достоверно приурочены к ветвям и средней части стволов.

P. squarrosa, *P. sulcata* и *H. physodes* встречаются на обоих видах берез. На основаниях стволов виды р. *Parmelia* встречаются очень редко, а *H. physodes* отсутствует на основаниях стволов *B. ermanii* (таблица).

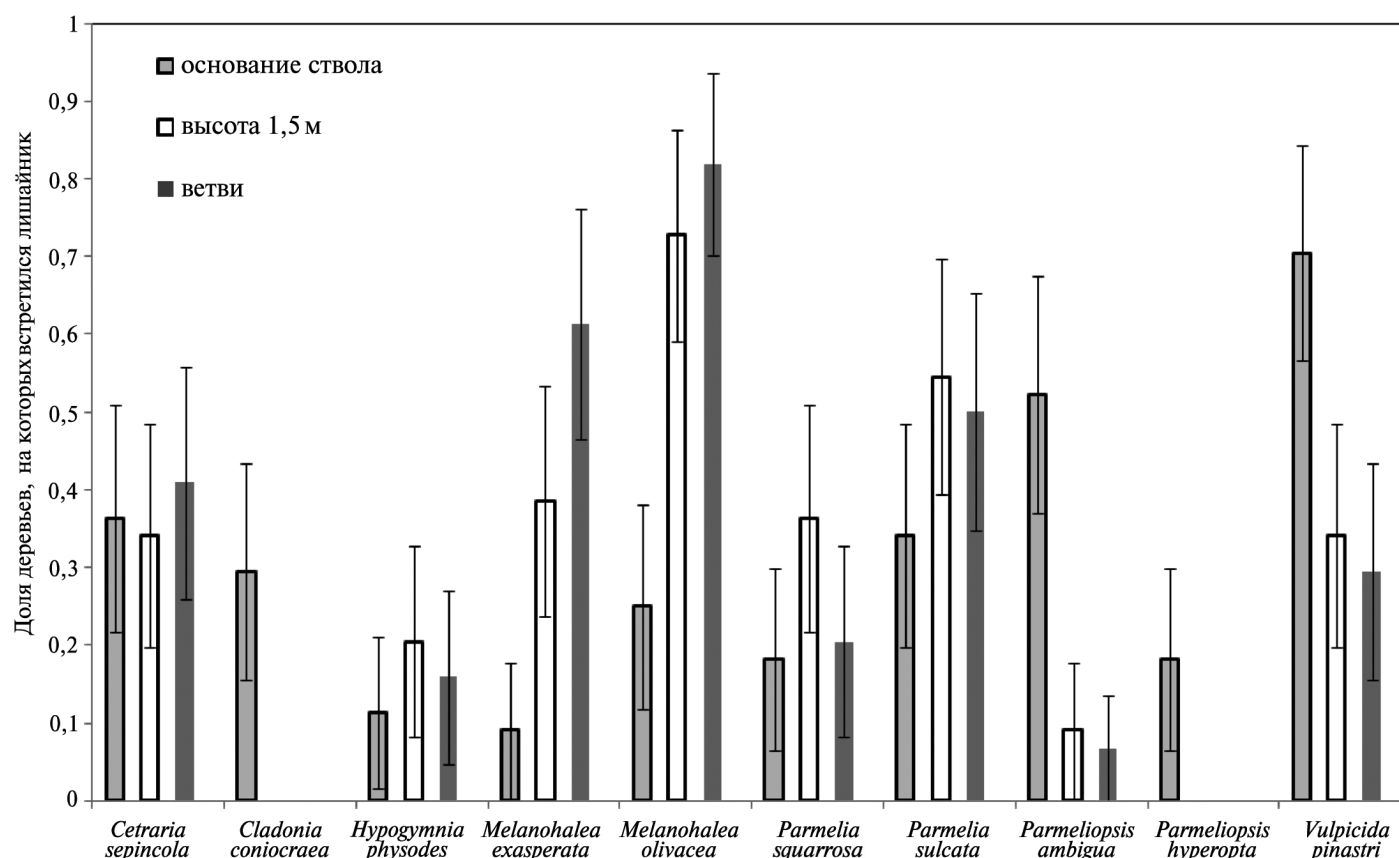


Рис. 2. Распределение доминирующих видов макролишайников на основании, середине ствола и ветвях *Betula platyphylla*

Достоверно эти лишайники приурочены к середине стволов и ветвям *B. ermanii*. На *B. platyphylla* зависимость их распределения от высоты на стволах не выявлена (рис. 1, 2).

В окрестностях г. Петропавловск-Камчатский эпифитные лишайники на основаниях стволов не менее 6 месяцев в году находятся под покровом снега, обитая в условиях, близких к условиям обитания эпигейных лишайников. Не все виды способны выдержать такое длительное пребывание под снежным покровом. Слоевища *Parmelia olivacea* (= *Melanohalea olivacea*), развивающиеся в Швеции в нижней части стволов берез и находящиеся в течение зимнего периода под снегом, как правило, отмирают [11, 12]. Это один из видов-индикаторов глубины снежного покрова. Нормального развития он достигает только на высотах выше среднего многолетнего уровня снежного покрова, так как физиологически не приспособлен к длительному пребыванию под снегом [12]. В окрестностях г. Петропавловск-Камчатский этот вид также достоверно приурочен к высотам выше уровня снежного покрова.

Для роста видов р. *Parmeliopsis* и *V. pinastri* большое значение имеет влажность, чем и обусловлено, по мнению некоторых исследователей [13, 14], их тяготение к нижней части стволов деревьев, так как влагоемкость коры здесь выше. В Скандинавских странах эти лишайники, как правило, встречаются на ство-

лах деревьев ниже среднего многолетнего уровня развития снежного покрова [15, 16]. Виды *C. sepincola* и *P. ambigua* в Швеции выдерживали длительное пребывание под покровом снега, что отмечалось также для *P. sulcata* и *H. physodes* из океанических районов страны [11]. В исследуемом нами районе, который также испытывает влияние океана, распределение *P. sulcata* и *H. physodes* зависело от вида дерева. На каменной березе они достоверно приурочены к средней части стволов и ветвям, т.е. наиболее благоприятные условия для их развития здесь складываются выше уровня снежного покрова, а на березе плосколистной их размещение не зависело от высоты над уровнем почвы.

Способность *P. ambigua* без вреда для себя находиться под снегом более 6 месяцев, обусловлена наличием запасных жиров и запасных углеводов. Именно их высокая концентрация позволяет виду выживать в таких неблагоприятных условиях [12]. В окрестностях г. Петропавловск-Камчатский достоверно ниже уровня снежного покрова встречаются из сем. Parmeliaceae только виды р. *Parmeliopsis* и *V. pinastri*. Не исключено, что их развитие в нижней части стволов деревьев и выработанная в связи с этим способность к выживанию в течение длительного времени под снегом обусловлены их более низкой конкурентной способностью по сравнению с другими эпифитными видами лишайников.

Выводы

При анализе вертикального распространения макролишайников на *B. ermanii* и *B. platyphylla* выявлены виды, достоверно приуроченные к основаниям стволов. Это *C. coniocraea*, *P. ambigua*, *P. hyperopta*, *V. pinastri*. Распределение *C. sepincola* на стволах обоих

видов берез равномерное. Встречаемость видов р. *Melanohalea* увеличивается от оснований стволов к ветвям на обоих видах берез. *H. physodes*, *P. squarrosa*, *P. sulcata* достоверно приурочены к середине стволов и ветвям только на *B. ermanii*, на *B. platyphylla* они распределены равномерно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barkman J.J. Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. Assen: van Gorcum, 1958. 628 p.
2. Домбровская А.В. Лишайники Хибин. Л.: Наука, 1970. 184 с.
3. Sömermaa A. Ecology of epiphytic lichens in main Estonian forest types. Tartu, 1972. 119 p.
4. Бязров Л.Г. Лишайники в экологическом мониторинге. М.: Научный мир, 2002. 336 с.
5. Кондратьев В.И. Климат Петропавловска-Камчатского. Л.: Гидрометеиздат, 1983. 168 с.
6. Кожемяко Н.Н. Природные районы бассейнов рек Авачи и Паратунки // Природные условия и районирование Камчатской области / Отв. ред. Г.Д. Рихтер и В.В. Никольская. М.: Изд-во АН СССР, 1963. С. 27—35.
7. Нешатаяева В.Ю. Растительность полуострова Камчатка. М.: КМК, 2009. 537 с.
8. Карпачевский Л.О., Алабина И.О., Захарихина Л.В., Макеев А.О., Маречек М.С., Радюкин А.Ю., Шоба С.А. Почвы Камчатки. М.: ГЕОС, 2009. 224 с.
9. Нешатаяева В.Ю., Гимельбрант Д.Е., Кузнецова Е.С., Чернядьева И.В. Ценогические, бриофлористические и лишайнобиотические особенности коренных старовозрастных каменисто-березовых лесов юго-западной Камчатки // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: Докл. IV науч. конф. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2004. С. 100—124.
10. Окснер А.Н. Морфология, систематика и географическое распространение // Определитель лишайников СССР. Вып. 2. Л.: Наука, 1974. 284 с.
11. Sonesson M., Osborne C., Sandberg G. Epiphytic lichens as indicators of snow depth // Arctic and Alpine Research. 1994. Vol. 26. N 2. P. 159—165.
12. Sonesson M., Grimberg Å., Sveinbjörnsson, Carlsson B.Å. Seasonal variation in concentrations of carbohydrates and lipids in two epiphytic lichens with contrasting, snow-depth related distribution on subarctic birch trees // Bryologist. 2011. Vol. 114. N 3. P. 443—452.
13. Савич В.П. Из жизни лишайников южной части Петербургской губ. и прилегающей части Эстляндской // Тр. Санкт-Петерб. об-ва естествоиспытателей. 1909. Т. 40. № 2. С. 113—172.
14. Kalgutkar R.M., Bird C.D. Lichens found on *Larix laricina* and *Pinus albicaulis* in Southwestern Alberta, Canada // Can. J. Bot. 1969. Vol. 47. N 5. P. 627—648.
15. Ahti T., Moberg R., Thell A. *Parmeliopsis* // Nordic Lichen Flora / Ed. by A. Thell and R. Moberg. Uppsala: Evolutionmuseum. 2011. Vol. 4. P. 92—94.
16. Thell A., Ahti T., Randlane T. *Vulpicida* // Nordic Lichen Flora / Ed. by A. Thell and R. Moberg. Uppsala: Evolutionmuseum. 2011. Vol. 4. P. 128—130.

Поступила в редакцию
06.12.12

VERTICAL DISTRIBUTION OF MACROLICHENS ON THE BIRCHES NEAR PETROPAVLOVSK-KAMCHATSKY CITY

T.Yu. Tolpysheva, M.A. Konnychev

Species composition and frequency of occurrence of macrolichens on *Betula ermanii* and *B. platyphylla* were studied. Frequency of occurrence of the most species of these lichens was less than 10%. Frequency of occurrence of some species on different trunk levels was considerably different. Usually frequency of occurrence of macrolichens on *B. ermanii* was larger than on *B. platyphylla*. Distribution of 10 dominant macrolichen species on different trunk height was studied by One-factored ANOVA. *Cladonia coniocraea*, *Parmeliopsis* species and *Vulpicida pinastri* significantly occurs on the trunk bottoms. *Cetraria sepincola* had underdispersion on the two birches. Occurrence of *Melanochalea* species increases from bottom to branches on both birch species. *Hypogymnia physodes*, *Parmelia squarrosa*, *P. sulcata* certainly occur on the middle part of the trunks and branches only on *B. ermanii* and these lichens have underdispersion on *B. platyphylla*.

Key words: epiphytic lichens, ecology, vertical distribution of species.

Сведения об авторах

Толпышева Татьяна Юрьевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-22, e-mail: tolpyшева@mail.ru

Коннычев Максим Анатольевич — аспирант кафедры биотехнологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-22, e-mail: maxim.kedr@gmail.com

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 577.12.9+579.842.24.013

**ЗАВИСИМОСТЬ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК
ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS*
ОТ СОСТАВА АГАРИЗОВАННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД,
ИСПОЛЪЗУЕМЫХ ДЛЯ НАРАЩИВАНИЯ БИОМАССЫ****М.А. Тренина¹, А.С. Епремян², Л.Г. Стоянова***(кафедра микробиологии; e-mail: stoyanovamsu@mail.ru)*

Представлены результаты зависимости ростовых характеристик штаммов 729 и ТВ2 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, выделенных из молока и самоквасного творога, от содержания в агаризованной среде пептона из казеина (ПК) в качестве основного источника азота. Сравнивали количество колониеобразующих единиц (КОЕ), темп деления клеток (ТДК) и среднее почасовое время удвоения (СЧВУ) на двух временных отрезках культивирования: от 1 до 2,5 и от 2,5 до 3,5 ч. Жидкие питательные среды поддерживали логарифмический рост штамма 729 во всех вариантах культивирования до 3,5 ч при максимальном снижении pH до 6,5. Максимальный уровень накопления биомассы ($2,5 \times 10^8$ кл/мл) наблюдали при культивировании в средах, содержащих мясной экстракт, а наименьшее СЧВУ (37,5 мин) — при переносе биомассы с минимальной среды МА4 в обогащенную жидкую среду М7. Штамм 729 в отличие от штамма ТВ2 не способен образовывать колонии при содержании ПК в агаризованной среде ниже 0,4%. Снижение количества ПК от 1,0% до 0,4% обуславливает увеличение размера колоний штамма ТВ2 от 2,85 мм² до 5 мм². Стимулирующее действие дрожжевого экстракта в жидких средах при данных концентрационных соотношениях позволяет увеличить эффективность деления клеток при сниженном уровне накопления молочной кислоты до достижения pH 5,5, блокирующего транспорт олигопептидов в клетку. Мясной экстракт способствует адаптации бактерий к условиям повышенной кислотности и оказывает положительное действие на деление клеток штамма 729 на поздней стадии развития бактериальных популяций. Небольшой размер колоний может являться признаком штамма как активного кислотообразователя.

Ключевые слова: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, питательные среды, ростовые характеристики.

Основным свойством молочнокислых бактерий является способность образовывать в качестве главного продукта брожения молочную кислоту. По характеру продуктов сбраживания углеводов молочнокислые бактерии подразделяются на гомоферментативные и гетероферментативные. При гомоферментативном молочнокислом брожении до 98% углеводов превращается в молочную кислоту. Динамика развития популяций *L. lactis* subsp. *lactis* и их генетическая стабильность сильно зависят от эффективности накопления молочной кислоты в питательной среде [1–4]. У лактококков наблюдали различие фенотипа изолятов медленно (slow) и быстро (fast) коагулирующих молоко [5]. Разницу фенотипов объясняли возникновением мутаций, нарушающих либо процесс усвоения пептидов β-казеина, либо процесс ферментации лактозы. “Быстрые” изоляты отличались по активности кислотообразования, “медленные” изо-

ляты в большей степени нуждались в стимулирующем действии дрожжевого экстракта. Проведенное нами ранее сравнительное исследование по фенотипу колоний и зависимости его от наличия в среде дрожжевого экстракта двух штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* ТВ2 и 837 [6], являющихся активными кислотообразователями, позволило количественно оценить размер колоний на агаризованных средах, содержащих высокую концентрацию пептона из казеина (1%). Средняя площадь колоний штамма 837 была на 34% меньше по сравнению с колониями штамма ТВ2 в присутствии дрожжевого экстракта и на 74% меньше без него, что свидетельствовало о большей зависимости бактерий штамма 837 от стимулирующего действия дрожжевого экстракта на фоне избытка пептона из казеина.

Экологической нишей бактерий вида *L. lactis* subsp. *lactis* являются растения, а свойство колони-

¹Лаборатория иммунологии ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского.

²Научно-производственный центр “Армбиотехнология” НАН РА государственная некоммерческая организация (НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА, ГНКО).

зировать молоко, возможно, приобретено лактококками в результате макроэволюционного отбора. Штаммовая специфичность лактококков, используемых при переработке молока, в большей степени определяется технологическим процессом культивирования, а не географическим положением ферм [7]. Предполагается, что плазмидная ДНК, содержащая гены, необходимые для утилизации казеина молока и лактозы, получена лактококками от других бактерий, поскольку ее Г + Ц состав (30—40%) несколько отличается от Г + Ц состава хромосомной ДНК лактококков (36—38%) [8]. Направленное выделение лактококков с поверхности растений и их последующая идентификация показали, что “дикий” тип лактококков представлен фенотипом *L. lactis* subsp. *lactis*, тогда как фенотипы подвидов *L. lactis* subsp. *cremoris* и *L. lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetilactis* характерны для штаммов, полученных из молочных продуктов [9].

Цель настоящей работы — определение питательных потребностей и временных диапазонов в развитии популяций лактококков, в которых не происходит нежелательное накопление молочной кислоты в продуктах.

Объекты и методы исследования

В работе использовали два природных штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Штамм 729 — активный кислотообразователь, выделен из коровьего молока [10], генотипирован по гену 16S рПНК (GenBank EF-100778) [11]. Штамм ТВ2 получен из самоквашеного творога и предложен для разработки закваски с целью получения творога [6], его геном охарактеризован с помощью метода пульс-электрофореза [2]. Состав питательных сред, в которых пептон из казеина является основным источником азота, представлен в таблице. Питательные компоненты — пептон из казеина (ПК), дрожжевой и мясной экстракты — являются продукцией компании “HiMedia” (Индия). Приготовление сред проводили в два этапа. Сначала

Компонентный состав питательных сред
для культивирования бактерий *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

Компоненты, %	Название питательных сред							
	МА3	МА4	МА5	МА7	МА6	М4	М7	М6
Пептон из казеина	0,3	0,4	0,4	0,8	0,4	0,4	0,8	0,4
Дрожжевой экстракт	—	—	0,2	0,4	0,4	—	0,4	0,4
Мясной экстракт	—	—	—	—	0,4	—	—	0,4
Лактоза	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5
Агар	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	—	—	—
Na ₂ HPO ₄	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	—	—	—
KH ₂ PO ₄	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	—	—	—
Вода	Остальное							

ла готовили голодный солевой агар и концентрированные растворы питательных компонентов. Затем композиционные составы питательных концентратов разводили расплавленным голодным агаром, содержащим фосфатный буфер, в чашках Петри. Выращивание биомассы на агаризованной питательной среде и “отмывку” бактерий в физиологическом растворе перед переносом их в жидкие среды проводили так же, как описано ранее в работах [2, 13, 14]. Рассев разведенных бактериальных суспензий производили шпателем на 1/4 поверхности агаризованной среды в чашке Петри (диаметр 10 см). Бактериальные суспензии для подсчета КОЕ высевали на среду МА5. В жидких средах бактерии культивировали в 5 мл без аэрации при температуре 30°C. Измерение значений pH среды проводили при помощи pH-метра (pH-meter Mettler Toledo MP220). Экспериментальные данные получены на основании четырех независимых измерений и статистически обработаны.

Результаты и обсуждение

В настоящей работе мы исходили из наблюдения, что эффективность деления *L. lactis* subsp. *lactis* на поверхности агаризованных сред, обуславливающая скорость накопления биомассы в колониях, является штаммоспецифичным свойством. Длительность и скорость деления лактококков в жидких средах во многом обусловлены энергетическим запасом, полученным и сохраненным клетками на агаризованной поверхности. В связи с этим подбор питательных компонентов проводили в соответствии как с морфологическими и культуральными особенностями штаммов, так и с учетом перехода бактериальных популяций с агаризованной среды в жидкую.

Определение минимального количества пептона из казеина и лактозы, необходимых для образования колоний штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729 и ТВ2. Сравнительная оценка колониеобразующей способности бактерий *L. lactis* subsp. *lactis*: 729 и ТВ2 на агаризованных средах МА3 и МА4 представлена в таблице.

В качестве минимальной среды для штамма 729 использовали среду МА4 с повышенным на 0,1% содержанием пептона и лактозы, так как на среде МА3 его колонии плохо различимы. Видимая разница в размерах колоний между штаммами 729 и ТВ2 после 24 ч (рис. 1, А, Б) культивирования больше, чем через 96 ч (рис. 1, В, Г). Следовательно, преимущество в скорости роста у штамма ТВ2 сильнее выражено на ранних этапах развития бактериальных популяций. Размер колоний штамма 729 (диаметр ~0,5 мм, площадь ~0,2 мм²) после 24 ч культивирования на среде МА4 (рис. 1, А) совпадает с размером колоний “медленных” изолятов лактококков (0,5 мм), которые культивировали при 21°C в течение 2—3 сут на среде GMA с глицерофосфатом [5]. Диаметр колоний “быстрых” изолятов на молочной среде с глицерофосфатом составлял 1—2,5 мм, что в условиях

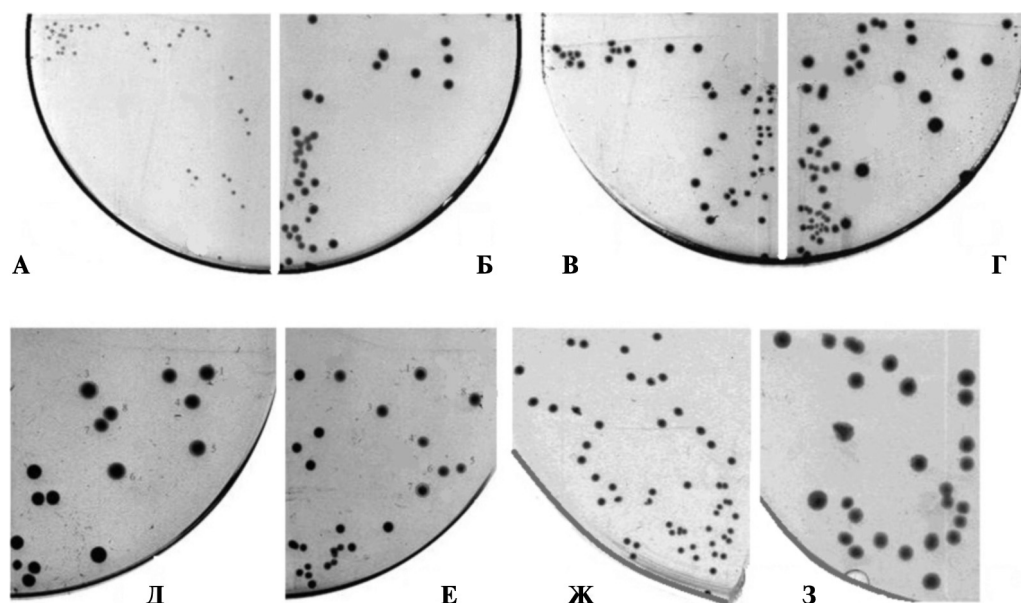


Рис. 1. Внешний вид колоний *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* штаммов 729 и TB2 на агаризованных минимальных по пептону из казеина средах: МА3 (пептон из казеина 0,3%), МА4 и МА5 (пептон из казеина 0,4%):

А и Б — среда МА4, штаммы: 729 (слева; диаметр колоний ~0,5 мм), TB2 (справа; диаметр колоний ~1,5 мм), время культивирования при 30°C 24 ч; В и Г — среда МА4, штаммы: 729 (слева; диаметр колоний ~1,5 мм); TB2 (справа; диаметр колоний ~2,5 мм), время культивирования при 30°C 96 ч; Д и Е — штамм TB2, среды МА5 (слева; диаметр колоний ~ от 2 до 2,5 мм), МА3 (справа; диаметр колоний ~1,5 мм), время культивирования при 30°C 48 ч; Ж и З — среда МА5, штаммы 729 (слева; диаметр колоний ~1 мм); TB2 (справа; диаметр колоний ~2,5 мм), время культивирования при 30°C 24 ч, при комнатной температуре около 48 ч

наших опытов было сходно с диаметрами колоний штамма TB2 на средах МА3, МА4 и МА5 (1,5—2,5 мм). На средах с пониженным (до 0,4%) содержанием ПК (МА4 и МА5) наблюдалось увеличение размера колоний штамма TB2 до 3—5 мм² относительно сред, содержащих 1% (М02 и М03), 2,85—2,9 мм² [6], что может свидетельствовать об ингибирующем действии избытка азота на рост колоний. В то же время на среде МА3 (ПК 0,3%) площадь колоний этого штамма меньше (1,8 мм²), чем на средах М02 и М03.

Количественную оценку увеличения размера колоний штамма TB2 при обогащении состава среды проводили на среде МА5, т.е. при добавлении дрожжевого экстракта (0,2%) к минимальной среде МА4 (0,4% ПК) и на среде МА3, содержащей по 0,3% ПК и лактозы (таблица). Среднее значение площади колоний на среде МА3 составляло 1953 пикселя при стандартном отклонении 292, а на среде МА5 — 3752 пикселя при стандартном отклонении 518 (рис. 1, Д, Е), т.е. средний размер колоний увеличился в 1,9 раза. Таким образом, ограничение в размере колоний штамма TB2 на минимальной среде МА3 определяется исчерпанием питательного ресурса.

Внешний вид колоний штамма 729 на поверхности среды МА5 (рис. 1, В, Ж) свидетельствует о том, что обогащение среды МА4 дрожжевым экстрактом не приводит к увеличению размера колоний. Можно предположить, что основным источником азота для роста является пептон из казеина.

Среднее почасовое время удвоения *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729 в жидких питательных средах МА4, М7 и М6 на двух последовательных временных отрезках общей длительностью 3,5 ч. С целью подбора состава агаризованной питательной среды, обеспечивающей наиболее эффективное деление клеток в незабуференных жидких средах, были использованы следующие пары сред с идентичным питательным составом: МА4/М4; МА7/М7; МА6/М6 и композиционная пара МА4/М7 (таблица). Результаты определения ТДК и СЧВУ, значения pH и КОЕ представлены на рис. 2, А—Г, соответственно. Величину СЧВУ на первом временном отрезке общей длительностью 90 мин определяли путем пересчета значений ТДК на длительность

временного отрезка в 60 мин. Так, при увеличении количества КОЕ в паре сред МА4/М4 приблизительно в 1,9 раза (рис. 2, А) на первом временном отрезке СЧВУ составляло 92 мин (рис. 2, Б). В парах сред МА4/М4 и МА4/М7, где исходную биомассу наращивали на минимальной среде МА4, СЧВУ составляло 92 и 80 мин, а в обогащенных парах сред МА7/М7 и МА6/М6 — 60 и 66,7 мин соответственно. Поскольку в парах сред только агаризованные среды МА4 и МА7 отличались по концентрации питательных компонентов, можно предположить, что увеличение скорости роста в жидкой среде М7 на 20 мин является следствием влияния обогащения агаризованной среды МА7 дрожжевым экстрактом либо результатом более длительного периода адаптации бактерий после их переноса в жидкую среду другого состава. Однако сам факт существенного изменения СЧВУ бактерий в жидкой среде в зависимости от состава агаризованной среды, на поверхности которой наращивали биомассу, позволяет в перспективе моделировать физиологическую активность биомассы лактококков перед переносом их в среду иного химического состава. СЧВУ на втором временном отрезке (от 2,5 до 3,5 ч) культивирования в парах сред: МА4/М4; МА4/М7; МА7/М7 и МА6/М6 составляло 46,2, 37,5, 40 и 42,9 мин соответственно. Близкие значения СЧВУ для всех четырех пар сред на втором временном отрезке культивирования (от 2,5 до 3,5 ч) характеризуют рост бактерий штамма 729 как логарифмический.

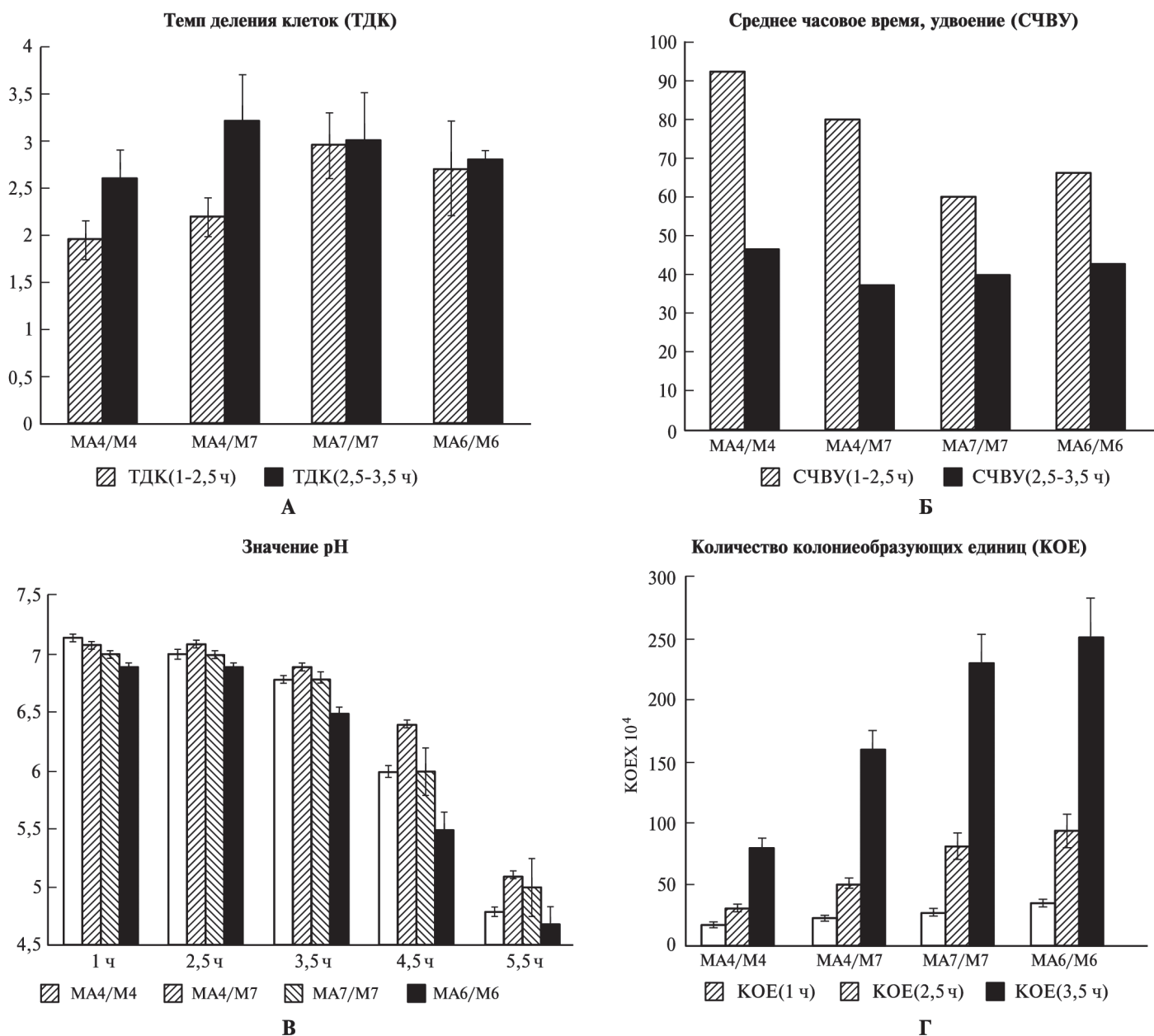


Рис. 2. Ростые характеристики бактерий *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729 на двух временных интервалах культивирования: от 1 до 2,5 и от 2,5 до 3,5 ч в жидких средах: M4, M7 и M6 после переноса биомассы с агаризованных сред: MA4, MA7 и MA6, а также в композиционной паре сред MA4/M7.

А — темп деления клеток (ТДК); **Б** — среднее часовое время удвоения (СЧВУ), **В** — значения pH в жидких питательных средах M4, M7 и M6, полученные за 1; 2,5; 3,5; 4,5 и 5,5 ч культивирования после переноса биомассы с соответствующих агаризованных сред: MA4, MA7 и MA6, а также в композиционной паре сред MA4/M7; **Г** — количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в жидких питательных средах M4, M7 и M6 на 1; 2,5 и 3,5 ч культивирования после переноса биомассы с соответствующих агаризованных сред: MA4, MA7 и MA6, а также в композиционной паре сред MA4/M7

Сравнительная характеристика уровня закисления жидких сред M4, M7 и M6 в процессе роста *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729 при наращивании биомассы на агаризованных средах. Характеристики деления клеток, ТДК и СЧВУ (рис. 2, А, Б) свидетельствовали об эффективном клеточном делении на данном временном отрезке, при этом изменений pH жидких сред во всех парах сред MA4/M4, MA4/M7, MA7/M7 и MA6/M6 между 1 и 2,5 ч культивирования практически не наблюдалось, что соответствует результатам, опубликованным нами ранее [12]. Определен вре-

менной диапазон культивирования бактерий (от 2,5 до 3,5 ч), в котором различные по уровню обогащения среды поддерживали логарифмический рост при незначительном уровне закисления жидких сред. Максимальное (до 6,5 после 3,5 ч) закисление жидкой среды наблюдалось при культивирования в паре сред MA6/M6, содержащих мясной экстракт, что, однако, не выходит за пределы значений, принятых за оптимальные для лактококков [13—15]. Максимальная разница в значениях pH между парой сред MA4/M7 и другими парами зафиксирована после

4,5 ч культивирования: МА4/М7 — 6,4; МА4/М4 — 6,0; МА7/М7 — 6,0; МА6/М6 — 5,5. С учетом эффективного клеточного деления на временном отрезке до 4,5 ч значение рН среды в композиционной паре МА4/М7 было еще близко к оптимальному (до 6,5), тогда как в паре сред МА6/М6 за это же время рН снизился до критического значения 5,5, блокирующего олигопептидный транспорт [16, 17]. При развитии молочнокислых бактерий *L. lactis* и *Streptococcus thermophilus* в молоке наблюдаются две фазы логарифмического роста [17, 18]. Ранее [12] при независимом рассмотрении изменения ТДК отдельных популяций штамма 729 в жидких средах М4 и М7, исходная биомасса которых была получена на минимальной агаризованной среде МА4, мы выделили два периода интенсификации деления клеток. Поскольку основным источником азота в используемых нами средах и в молоке является ПК, мы предполагаем, что временной диапазон культивирования, предшествующий уменьшению ТДК, обусловлен питанием лактококков за счет олигопептидов необходимого состава и размера [16–18], т.е. до активизации у них протеолитической активности.

Уровень накопления биомассы *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729 в жидких питательных средах М4, М7 и М6 за первые 3,5 ч культивирования бактерий. Исходные титры бактериальных суспензий в парах сред: МА4/М4 и МА4/М7 составляли $7,3 \times 10^6$ кл/мл; МА7/М7 — $1,3 \times 10^7$ и МА6/М6 — $1,9 \times 10^7$ кл/мл (рис. 2, Г). Максимальный уровень накопления биомассы за 3,5 ч был достигнут в паре сред МА6/М6 ($2,5 \times 10^8$ кл/мл), содержащей мясной экстракт. Даже с учетом повышенного исходного титра бактерий результаты по сравнительному увеличению КОЕ свидетельствуют о положительном влиянии мясного экстракта на уровень накопления биомассы, что позволяет считать состав питательных веществ в жидкой среде М6 комплексным. Минимальный уровень накопления биомассы (8×10^7 кл/мл) зафиксирован в “минимальной” паре сред МА4/М4, ограничительным фактором является лимитация по питательному ресурсу. В обогащенных жидких средах деление ограничено накоплением молочной кислоты до рН ниже 5,5 [2, 15], что блокирует транспорт олигопептидов в клетки [16]. Низкий уровень накопления био-

массы *L. lactis* subsp. *lactis* TB2 до $2,5 \times 10^8$ кл/мл в среде МВ (ПК 0,6%, дрожжевой экстракт 0,175%) соответствовал оптической плотности 0,3 (длина волны 600 нм) при культивировании в течение 3 ч и при снижении рН до 5,4 [2]. Аналогичные результаты получены при выращивании *L. lactis* в комплексной среде М17 [1], содержащей 1% глюкозы. Авторы объясняют раннюю остановку логарифмического роста *L. lactis* при достижении оптической плотности 0,3 повышением стрессоустойчивости лактококков.

Выводы

Использование агаризованных сред, различных по уровню обогащения минимального состава среды МА4, позволило определить временной диапазон логарифмического роста *L. lactis* subsp. *lactis* 729 (2,5–3,5 ч) в идентичных и композиционных составах жидких сред при незначительном снижении рН до 6,5. Сравнительно небольшой размер колонии может являться признаком штамма, обладающего свойством активного кислотообразователя.

Показана эффективная колониеобразующая активность штамма TB2 для характеристики развития его колоний в условиях минимального количества пептона из казеина (0,4%). Установлено, что площадь колоний штамма TB2 на минимальной среде МА4, достигающая 5 мм², больше чем на богатой среде М03 [6].

Сравнительная характеристика развития бактериальных популяций на агаризованных и в жидких средах может быть использована при моделировании популяционных свойств *L. lactis* subsp. *lactis* различного происхождения.

Штаммоспецифичные характеристики роста лактококков представляют интерес для определения таких отклонений от условий культивирования, которые воспринимаются данным штаммом как стрессовые. Самыми распространенными из них являются: недостаток питательного ресурса, высокий уровень кислотности, повышенный или пониженный температурный фон и др. Изменение физиологии лактококков в процессе развития популяций в молоке при активизации протеолитической активности на второй фазе логарифмического роста является примером запрограммированного преодоления условий голода по источнику азота.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Duwat P., Cesselin B., Sourice S., Gruss A. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival // Int. J. Food Microbiol. 2000. Vol. 55. N 1–3. P. 83–86.
2. Тренина М.А., Лысенко А.М., Ахвердян В.З., Мчедlishvili Е.Б. Изучение внутривидовой вариативности бактерий *Lactococcus lactis* по признаку адаптации к высокой кислотности среды // Микробиология. 2006. Т. 75. № 1. С. 1–9.
3. Стоянова Л.Г., Сульимова Т.Д., Непрусов А.И. Влияние фосфата и углеводов на синтез низина *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* штамм 194 // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2003. № 4. С. 17–22.
4. Стоянова Л.Г., Левина Н.А. Регуляция синтеза бактерицина рекомбинантного штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* F-116 компонентным составом среды // Микробиология. 2006. Т. 75. № 3. С. 342–348.
5. Huggins A.R., Sandine W.E. Differentiation of fast and slow milk-coagulating isolates in strains of lactic streptococci // J. Dairy Sci. 1984. Vol. 67. N 8. P. 1674–1679.
6. Суходолец В.В., Лысенко А.М., Тренина М.А. Штамм бактерий *Lactococcus lactis* для получения творога из молока. 2003. RU 2244002.

7. Corroler D., Mangin I., Desmasures N., Gueguen M. An ecological study of lactococci isolated from raw milk in the Camembert cheese registered designation of origin area // Appl. Environ. Microbiol. 1998. Vol. 64. N 12. P. 4729—4735.
8. Mills S., McAuliffe O.E., Coffey A., Fitzgerald G.F., Ross R.P. Plasmids of lactococci — genetic accessories or genetic necessities? // FEMS Microbiol. Rev. 2006. Vol. 30. P. 243—273.
9. Kelly W., Ward L. Genotypic vs. phenotypic biodiversity in *Lactococcus lactis* // Microbiology. 2002. Vol. 148. N 11. P. 3332—3333.
10. Стоянова Л.Г., Егоров Н.С. Получение низинпродуцирующих бактерий методом слияния протопластов двух родственных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, низкоактивных по синтезу низина // Микробиология. 1998. Т. 67. № 1. С. 47—54.
11. Stoyanova L.G., Sul'timova T.L., Netrusov A.I. Establishment of toxonomic status of new perspective bacteriocin-syntesizing *Lactococcus* strains of various origins // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2008. Vol. 63. N 4. P. 156—162.
12. Тренина М.А., Ганина В.И., Стоянова Л.Г., Рыбаков Ю.А., Складнев Д.А. Особенности развития молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* subs. *lactis* штамма 729 // Переработка сельхозсырья. 2008. № 8. С. 55—57.
13. Тренина М.А., Складнев Д.А., Бронников С.В., Устюгова Е.А., Стоянова Л.Г. Развитие популяций бактерий *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* на агаризованных питательных средах, моделирующих естественный субстрат // Экология и промышленность России. 2009. № 5. С. 42—46.
14. Hutkins R.W., Nannen N.L. pH homeostasis in lactic acid bacteria // J. Dairy Sci. 1993. Vol. 76. N 8. P. 2354—2365.
15. Frees D., Vogensen F.K., Ingmer H. Identification of proteins induced at low pH in *Lactococcus lactis* // Int. J. Food Microbiol. 2003. Vol. 87. N 3. P. 293—300.
16. Foucaud C., Juillard V. Accumulation of casein-derived peptides during growth of proteinase-positive strains of *Lactococcus lactis* in milk: their contribution to subsequent bacterial growth is impaired by their internal transport // J. Dairy Research. 2000. Vol. 67. N 2. P. 233—240.
17. Juillard V., Le Bars D., Kunji E.R.S., Konings W.N., Gripon J.-C., Richard J. Oligopeptides are the main source of nitrogen for *Lactococcus lactis* during growth in milk // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61. N 8. P. 3024—3030.
18. Letort C., Nardi M., Garault P., Monnet V., Juillard V. Casein utilization by *Streptococcus thermophilus* results in a diauxic growth in milk // Appl. Environ. Microbiol. 2002. Vol. 68. N 6. P. 3162—3165.

Поступила в редакцию
22.12.13

DEPENDENCE OF GROWTH CHARACTERISTICS OF NATURAL STRAINS OF *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS* ON THE COMPOSITION OF THE NUTRIENT AGAR MEDIA USED FOR BIOMASS GROWTH

M.A. Trenina., H.S. Epremyan, L.G. Stoyanova

The results of dependence of growth characteristics of strains *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729 and TV2 isolated from milk and homemade curd the content in the agar medium peptone from casein as a main nitrogen source. Different composition on the level of enrichment of the agar medium was used for biomass growth strains in the study of growth characteristics in liquid media with the same composition. Compared the number of colony forming units (CFU), the rate of cell division (TDC) and the average hourly doubling time (AHDT) at two time points of cultivation: from 1,0 to 2,5 and from 2,5 to 3,5 hours. Liquid culture medium was maintained logarithmic growth of strain 729 in all variations on a time interval of cultivation to 3,5 hours with a maximum decrease in pH to 6,5.

Maximum accumulation level of biomass ($2,5 \times 10^8$ cells/ml) was observed when cultured in a pair of media containing meat extract, and the smallest AHDT (37,5 min) when moving biomass MA4 minimal medium (peptone from casein, and 0,4% lactose 0,4%) and rich in containing yeast extract liquid medium M7. Strain 729 in contrast to a strain incapable TB2 form colonies when the content of casein peptone agar medium is less than 0,4%. Reducing the amount of nitrogen source (peptone from casein from 1,0% to 0,4%) resulted in an increase in colony size strain TV2 from 2,85 mm² to 5 mm². The stimulatory effect of yeast extract in liquid media under these concentration ratios allowing cell division to increase the effectiveness while reducing the accumulation of lactic acid to achieve critical acidification (pH 5,5) blocks the transport of oligopeptides into a cell. Meat extract contributed bacteria adapt to the conditions of acidity and has a positive effect on cell division of strain 729 at a late stage of development of bacterial populations. Comparative small size of the colonies (area ~0,5 mm², diameter ~0,8 mm) can be a sign of strain as active acidifier.

Key words: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, culture media, growth characteristics.

Сведения об авторах

Тренина Марина Анатольевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории иммунологии ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова. E-mail: trenina58@gmail.com

Епремян Асмик Суменовна — канд. хим. наук., ст. науч. сотр. Научно-производственного центра “Арм-биотехнология” НАН РА государственная некоммерческая организация (НПП “Армбиотехнология” НАН РА, ГНКО). E-mail: stoyanovamsu@mail.ru

Стоянова Лидия Григорьевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-45-45; e-mail: stoyanovamsu@mail.ru

ЭНТОМОЛОГИЯ

УДК 595.727:591.582.2

**ВИБРОАКУСТИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ САРАНЧОВОГО
TRILOPHIDIA ANNULATA (THUNB.)
(ORTHOPTERA, ACRIDIDAE, OEDIPODINAE)****А.А. Бенедиктов**

(кафедра энтомологии; e-mail: entomology@yandex.ru)

Впервые описаны вибрационные и звуковые сигналы *Trilophidia annulata* (Thunb.). Обнаружены тремюляционные вибрационные сигналы задних ног и тибиа-тегминальные шелчки у обоих полов, а также тегмино-феморальная стридуляция у самцов. Изучено поведение самца возле самки. Приводятся осциллограммы.

Ключевые слова: Orthoptera, Acrididae, Oedipodinae, Trilophidia, акустические сигналы, тремюляция, стридуляция.

Род *Trilophidia* Stål, 1873 относят к монотипической трибе Trilophidiini Shumakov, 1963 в составе подсемейства Oedipodinae (Acrididae). В настоящее время в него включают 10 видов. На территорию Приморского края России проникает единственный вид *T. annulata* (Thunberg, 1815) (рис. 1), также широко распространенный в Японии, Юго-Восточной Азии, Корее, Китае, Шри-Ланке, Индии и Пакистане. До настоящего времени исследования акустической коммуникации и сигналов *Trilophidia* spp. не проводили.

Известно, что саранчовые подсемейства Oedipodinae способны издавать слышимые и довольно громкие алэ-тегминальные, тегмино-феморальные и тибиа-тегминальные звуковые сигналы на земле, крыловые звуки в полете, извлекать низкочастотное гудение 1—3 кГц за счет быстрых взмахов одной задней ногой возле надкрылья без контакта с ним, а также барабанивать лапками по субстрату [1—5]. При этом насекомые часто используют демонстрационные движения задними ногами, крыльями и надкрыльями.



Рис. 1. Внешний вид самца *T. annulata* из Лаоса: хорошо видна изогнутая ложная жилка на надкрылье, несущая бугорки, проводя по которой бедром задней ноги, насекомое издает звук.

Фото: А. Бенедиктов

Ниже приводим описание звуковых и вибрационных сигналов саранчового *T. annulata* из Лаоса. Смешанная виброакустическая коммуникация у этого вида изучена впервые.

Материалы и методы

Изучали вибрационные и акустические сигналы у двух самцов и самки *T. annulata* из Лаоса: Ванг-Вьенг, II 2010 (В. Громенко).

Звуки и вибрации оцифровывали синхронно на два разных канала минидискорекордера Sony Hi-MD Walkman MZ-RH910 (20—20 000 Гц). Звук регистрировали через электретный конденсаторный микрофон Creative MC-1000 (100—16 000 Гц), а вибросигналы — при помощи пьезокерамического адаптера ГЗП-308 (50—12 500 Гц), подведенного к картонной пластине 75 × 90 мм, на которой сидели насекомые. Температура во время записи +27—29°C. Обработку сигналов проводили на компьютере.

При описании осциллограмм использовали традиционную терминологию, предложенную Р.Д. Жантиевым [6].

Результаты и обсуждение***Trilophidia annulata* (Thunb.)**

Тремуляция задних конечностей. Тремуляцию задних ног с их поднятием в сторону головы наблюдали в группах перекликающихся рядом самцов, а также возле появившейся в поле зрения самки, вероятно, для выяснения половой принадлежности особи. При этом задние голени могли оставаться прижатыми к бедрам, тогда движения напоминали частые дрожжащие взмахи, как во время стридуляции, но без касания надкрылий. При таком действии регистрировали вибросигнал небольшой длительности 250—420 мс

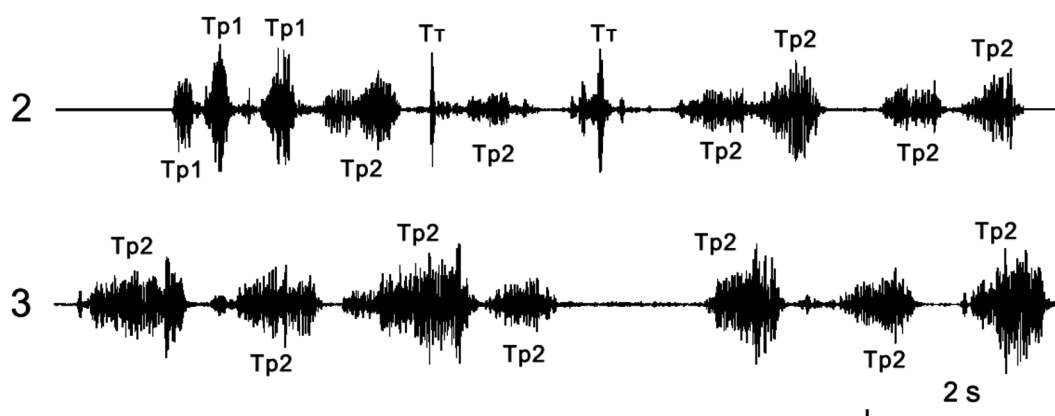


Рис. 2, 3. Осциллограммы вибрационных сигналов переключки двух самцов саранчовых *T. annulata* (обозначения сигналов разных самцов даны по разные стороны осциллограмм): 2 — альтернация короткими тремулационными сериями без отведения голени от бедра (Tp1) с тibia-тегминальными щелчками (Tт), а также продолжительными тремулационными сериями с отведением голени от бедра (Tp2); 3 — альтернация только продолжительными тремулационными сериями (Tp2)

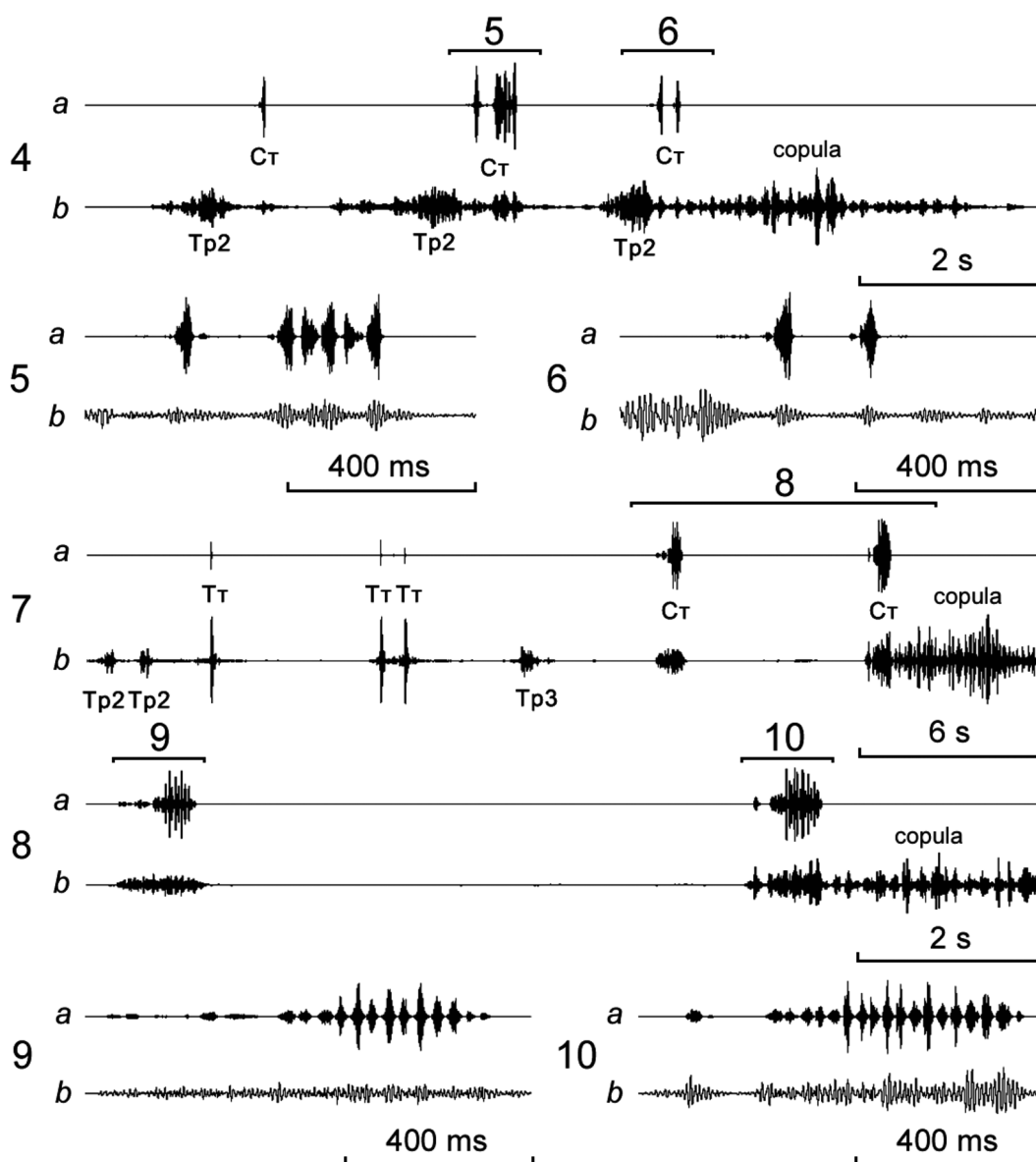


Рис. 4—10. Осциллограммы звуковых (a) и вибрационных (b) сигналов саранчовых *T. annulata* на разных скоростях развертки. Обозначения: Tp2 — тремуляция самца; Tp3 — тремуляция самки; Tт — тibia-тегминальные щелчки самца; Cт — тегмино-феморальная стридуляция самца, copula — вибрации от движения самца в начале копуляции с самкой

в частотном диапазоне 50—200 Гц (рис. 2 — Тр1). Подобный вибросигнал издавала также самка (рис. 7 — Тр3), что, вероятно, служило сигналом о ее готовности к спариванию, поскольку после наблюдали копуляцию.

В других случаях тремюляция обеих задних ног происходила во время синхронного поднятия бедер вверх, часто (но не всегда), с распрямлением голеней. Во время такого действия регистрировали более продолжительную вибрационную серию длительностью 600—1500 мс в том же частотном диапазоне. Два самца могли поочередно (альтернатива) издавать от 1—2 до 10—12 и более таких серий (рис. 3 — Тр2). Зарегистрировать четкий звук микрофоном с расстояния 3 см до насекомого во всех этих случаях не удалось.

Периодически самцы и самки беззвучно плавно взмахивали одной или обеими ногами с разной амплитудой без тремюляции. Вибрации от таких демонстрационных движений не регистрировались.

Тибиа-тегминальные щелчки. Самцы и самки были способны издавать высокочастотные звуки (щелчки) ударами вершины голени одной из задних ног о вершину надкрылий, часто задевая также вершину брюшка, при этом вибрационная реплика регистрировалась четко. Эмиссия таких звуков происходила в совершенно разных ситуациях: в группах особей одного пола, перед копуляцией, иногда одиночными особями (рис. 2, 7 — Тт). Похожий способ звукоизлучения описан у большой болотной кобылки (*Stethophyma grossum* (L.)) из этого же подсемейства, причем он также присущ особям обоего пола.

Тегмино-феморальная стридуляция. Звуковые стридуляционные сигналы самцов *T. annulata* продуцировались при помощи тегмино-феморального фрикционного аппарата. Этот аппарат, свойственный большинству саранчовых подсемейства Oedipodinae, состоит из ложной жилки с многочисленными бугорками, расположенной в центральном поле надкрылья, и гладкого кия с внутренней стороны заднего бедра, которое трется об эти бугорки. Тегмино-феморальные сигналы насекомые продуцировали только одной задней ногой. Звуки регистрировали у самца возле самки перед началом копуляции (рис. 4—10 — Ст), хотя нередко копуляция могла начинаться и без акустических сигналов. Похожие звуковые сигналы издавали одиночные особи, а также самцы при тесном контакте друг с другом. Стридуляция была негромкая; сигналы представляли собой либо дискретные пульсы (рис. 4—6), от 1 до 6, длительностью 35—45 мс; либо серии (рис. 7—10) длительностью до 1 с, состоящие из 15—20 пульсов, следующих с периодом повторения 20—40 мс, во всех случаях частотный максимум находился в диапазоне 5—6 кГц. Вибрационная реплика от стридуляции регистрировалась довольно хорошо.

Подытоживая сказанное, отметим, что стридуляцию у *T. annulata* наблюдали реже, чем тремюляцию, причем взмахи ног без вибросигналов совершались нечасто. Таким образом, по нашим наблюдениям у этого вида преобладает вибрационная коммуникация.

Выражаю благодарность В.А. Громенко (Москва) за сбор и доставку живых насекомых в Москву.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Faber A. Die Laut- und Bewegungsauberungen der Oedipodinen // Z. wissensch. Zool. 1936. Bd. 149. S. 1—85.
2. Willey R., Willey R. Visual and acoustical social displays by the grasshopper *Arphia conspersa* (Orthoptera: Acrididae) // Psyche J. Entom. 1969. Vol. 76. P. 280—305.
3. Lohr W., Chandrashekar M.K. Acoustical and sexual behaviour in the grasshopper *Chimarocephala pacifica* (Oedipodinae) // Ent. exp. et appl. 1970. Vol. 13. P. 71—84.
4. Blondheim S.A., Shulov A.S. Acoustic communication and differences in the biology of two sibling species of grasshoppers, *Acrotylus insubricus* and *A. patruelis* // Ann. Ent. Soc. Amer. 1972. Vol. 65. N 1. P. 17—24.
5. Ragge D.R., Reynolds W.J. The songs of the grasshoppers and crickets of Western Europe. Colchester: Harley Books, 1998. 591 p.
6. Жантеев Р.Д. Биоакустика насекомых. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. 256 с.

Поступила в редакцию
10.10.13

VIBRO-ACOUSTICAL SIGNALS OF THE LOCUST *TRILOPHIDIA ANNULATA* (THUNB.) (ORTHOPTERA, ACRIDIDAE, OEDIPODINAE)

A.A. Benediktov

Vibrational and acoustical signals in the species *Trilophidia annulata* (Thunb.) are described for the first time. Tremulatory vibration signals of the hind legs and tibia-tegminae clicks in both sexes as well as tegmino-femoral stridulation males are described. The behavioral of the male near the female is studied. Oscillogramms are presented.

Key words: Orthoptera, Acrididae, Oedipodinae, *Trilophidia*, acoustical signals, tremulation, stridulation.

Сведения об авторе

Бенедиктов Александр Александрович — мл. науч. сотр. кафедры энтомологии биологического факультета. Тел.: 8-495-939-16-95; e-mail: entomology@yandex.ru

ФАУНА, ФЛОРА

УДК 598.2

**СЕЗОННЫЕ И СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МАССЫ ТЕЛА
И ЖИРОВЫХ РЕЗЕРВОВ ЗЕЛЕННОЙ ПЕНОЧКИ
В ЗАПАДНОМ ПОДМОСКОВЬЕ****В.В. Гаврилов, М.Я. Горецкая, Е.О. Веселовская***(Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского биологического факультета;
e-mail: vadimgavrilov@yandex.ru)*

Зеленые пеночки в течение всего периода пребывания в гнездовом ареале стремятся поддерживать массу тела на примерно одном уровне. В среднем масса тела птиц плавно увеличивается от начала к середине и концу дня. Колебания массы тела птиц следуют за колебаниями суточной локомоторной активности. Во все периоды жизненного цикла жировые резервы достоверно возрастают во второй половине дня. Колебания жировых резервов зеленых пеночек следуют за колебаниями массы тела птиц. Зеленые пеночки покидают район гнездования с меньшей массой тела и меньшими жировыми резервами, чем они имеют в момент прилета.

Ключевые слова: суточные и сезонные ритмы, масса тела, жировые резервы, зеленая пеночка.

Ритмичность общей жизнедеятельности и отдельных ее проявлений свойственна всем животным. В ее основе лежит специфика биохимических и физиологических реакций, протекающих в организме. Функционирование целого организма основано на интеграции отдельных ритмов и согласовании их с временными изменениями внешней среды. Неодинаковость экологических условий в разное время суток, а также свойственная большинству районов земного шара сезонная динамика факторов среды привели к тому, что в процессе эволюции ритмы биологических процессов оказались соизмеримы с масштабами суточных и сезонных изменений среды. Для птиц суточная и сезонная периодичность характерны в очень высокой степени [1–10].

Зеленая пеночка (*Phylloscopus trochiloides viridanus*) является одним из примеров быстрого расселения вида. В начале XX в. в Московской обл. встречались лишь единичные особи этого вида. А уже к концу 60-х гг. ее численность значительно увеличилась, и она стала существенным компонентом биоценозов [11]. Однако несмотря на практически столетнее обитание зеленой пеночки в средней полосе, в ее экологии еще много неизвестного.

Настоящая работа продолжает исследование биологии зеленой пеночки в западном Подмоскowie, начатое данной группой исследователей [11, 12], и посвящена анализу массы тела и жировых резервов у свободноживущих зеленых пеночек в течение всего гнездового и послегнездового периодов — от момента прилета в район гнездования до отлета.

Материалы и методы

Полевые исследования проводили с июля 1999 г. по октябрь 2010 г. на Звенигородской биологической станции им. С.Н. Скадовского биологического факультета МГУ (Московская обл., координаты: 55°44' с.ш., 36°51' в.д.). Перемещающихся птиц отлавливали стационарными паутинными сетями. Сети от 5 до 15 м длиной и от 2 до 3 м высотой со стандартной ячейкой 14 мм располагали в пойме р. Москвы и на границе поймы и первой надпойменной террасы, на участке площадью примерно 2,75 га, среди деревьев и кустарников. В разные периоды отлова использовали от 14 до 60 сетей, расположенных в одних и тех же местах. Сети стояли круглые сутки, время поимки птиц определяли с точностью до 0,5–1 ч. Пойманных птиц кольцевали, измеряли, взвешивали, определяли наличие жировых резервов, затем отпускали. Некоторых птиц отлавливали повторно по нескольку раз. Всего было поймано 159 зеленых пеночек.

Подкожные жировые резервы у птиц изменяются пропорционально содержанию жира в полости тела и тканях, всегда составляя половину общих запасов жира [13, 14]. Подкожный жир, расположенный в жировых депо, просвечивает через кожу и у мелких птиц виден при раздувании перьев. На этом основаны методы прижизненной оценки жирности птиц. Был использован полуколичественный метод определения жира, когда видимым подкожным жировым резервам присваиваются баллы по возрастающей [13–15].

Ранее, в предыдущей работе [12], было показано, что все сроки различных фаз гнездового и послегнез-

дового циклов у зеленой пеночки стабильны из года в год. Вариации в датах не превышают недели, поэтому данные, полученные в разные годы, можно объединить с учетом небольшой поправки на конкретные условия каждого года.

Общее время пребывания зеленых пеночек в районе гнездования составляет чуть больше 80 дней, его можно разбить на 3 периода:

1) прилет и предгнездовой период, 2) гнездование, 3) вождение выводков, линька и отлет. Прилет птиц считали от момента первого появления птиц на территории (первое попадание в сети). Началом гнездового периода считали появление птиц с наседным пятном, что указывало на наличие сначала гнезда, затем яиц и позже птенцов у пойманных птиц. Вождение выводков начиналось с появлением птенцов, практически одновременно у всех птиц начиналась линька — у птенцов постювенильная, у взрослых послебрачная. Также отмечали сроки последних поимок птиц в сети, что соответствовало отлету из района гнездования [12]. В данном исследовании для анализа мы разделили все время пребывания зеленых пеночек в гнездовом ареале на пять примерно равных интервалов (по 15 или чуть более дней). 1) От момента прилета до начала гнездования: конец мая (20) — 5 июля. 2) Откладка яиц и насиживание: 6—30 июня. 3) Выкармливание птенцов в гнезде: 1—14 июля. 4) Вождение выводков, послегнездовая дисперсия, начало и середина постювенильных и послебрачных линек: 15—31 июля. 5) Конец линек, предмиграционное поведение, отлет птиц: 1 августа — последние поимки птиц [15]. К сожалению, объем наших данных оказался недостаточным для деления гнездового периода на откладку яиц и насиживание и на выкармливание птенцов в гнезде, поэтому эти два периода были объединены для анализа суточной динамики массы тела и жировых резервов.

Результаты

Половые различия в массе тела и жировых резервах у зеленых пеночек. У зеленых пеночек нет различий между самцами и самками в окраске оперения. Однако у них есть небольшие размерные различия: в среднем самцы несколько крупнее самок [14]. Наиболее крупные птицы — самцы, а самые мелкие — самки, однако существует довольно большой размерный ряд, когда размеры самцов и самок перекрываются. Мы проанализировали половые различия в массе тела и жировых резервах у зеленых пеночек. В предгнездовой и гнездовой периоды пол зеленых пеночек легко установить по большому клоакальному выступу у самцов и наличию наседного пятна у самок [14, 15]. Раздельно для предгнездового и всего гнездового периодов мы проанализировали массу

Масса тела и жировые резервы самцов и самок зеленой пеночки в предгнездовой и гнездовой периоды жизненного цикла

Период жизненного цикла	Масса тела, г				Жировые резервы, баллы			
	Самцы, n		Самки, n		Самцы, N		Самки, n	
Предгнездовой период	16	7,2 ± 0,3	11	7 ± 0,4	16	2,25 ± 0,5	11	2,82 ± 0,9
Гнездовой период	7	7,3 ± 0,5	11	7,2 ± 0,4	7	1,86 ± 0,9	11	2,27 ± 0,4

тела и жировые резервы у самцов и самок зеленых пеночек (таблица). Масса тела самцов зеленой пеноч-

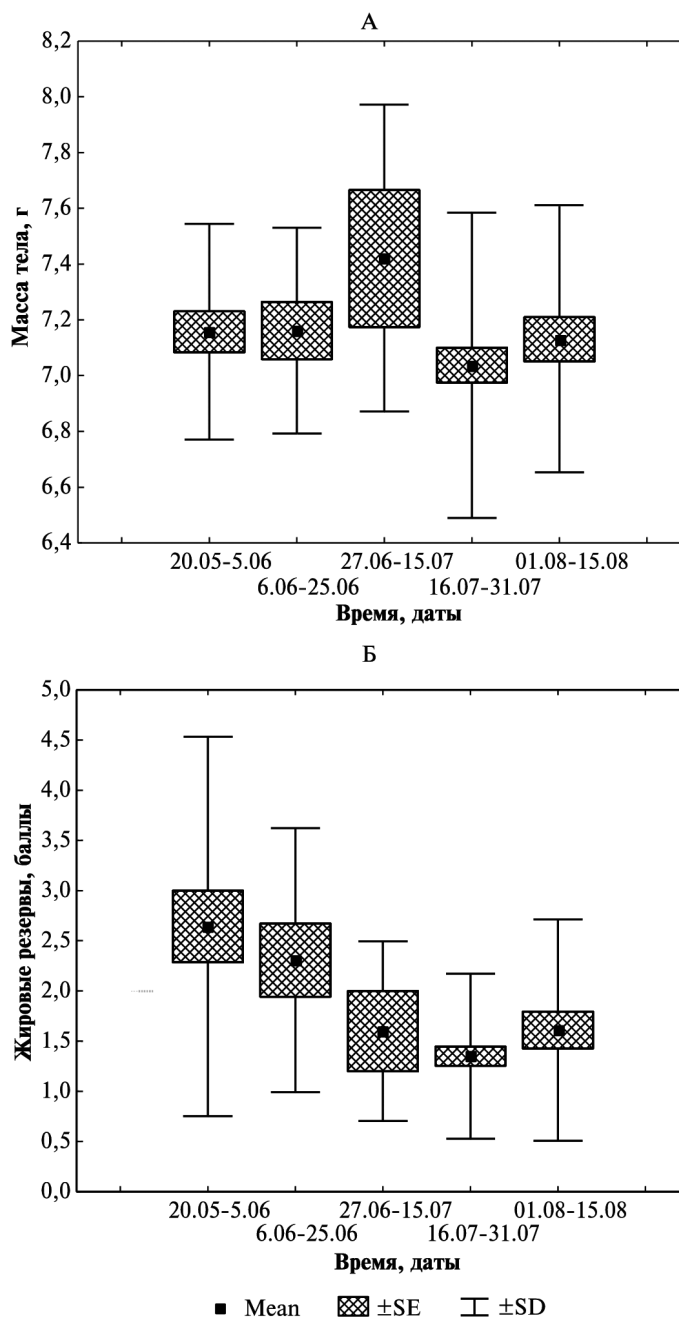


Рис. 1. Динамика массы тела и жировых резервов зеленой пеночки в период пребывания в гнездовом ареале. А — динамика массы тела; Б — динамика жировых резервов

ки оказалась действительно несколько выше массы тела самок, однако различия оказались недостоверными ($p > 0,05$, t-тест). Напротив, жировые резервы у самок зеленой пеночки были всегда выше жировых резервов самцов, однако и здесь различия оказались недостоверными. Эти результаты, а также то, что самцы и самки зеленой пеночки были пойманы в примерно равных соотношениях, позволили нам объединить все данные за определенный период без учета половых различий.

Сезонная динамика массы тела и жировых резервов у зеленых пеночек. Сезонная динамика массы тела, усредненная по периодам жизненного цикла, представлена на рис. 1, А. Средняя масса зеленых пеночек остается постоянной в течение предгнездового и всего гнездового периодов, затем следует небольшое уменьшение в период вождения выводков, послегнездовой дисперсии и линьки, а после небольшой подъем в конце пребывания в районе гнездования. Однако не выявлено достоверных различий средней массы тела в различные периоды ($p > 0,05$, t-тест).

Сезонная динамика показателя жировых резервов зеленой пеночки, усредненных по периодам жизненного цикла, представлена на рис. 1, Б. Динамика жировых резервов зеленой пеночки несколько отличается от динамики массы тела птиц. Жировые резервы максимальны в предгнездовой период, несколько меньше в гнездовой период, имеют минимум в период вождения выводков, послегнездовой дисперсии и линьки, а после возрастают в конце пребывания в районе гнездования, но их показатель меньше, чем в период гнездования. При этом величина жировых резервов в предгнездовой период достоверно отличается (выше) от величины жировых резервов в послегнездовые периоды ($p < 0,005$, t-тест). Величина жировых резервов в гнездовой период достоверно выше, чем в период вождения выводков ($p < 0,005$, t-тест). Между другими периодами достоверных различий выявлено не было.

Обращает на себя внимание тот факт, что птицы покидают район гнездования с меньшей массой тела и меньшими жировыми резервами, чем они имеют в момент прилета. При этом в случае жировых резервов эти различия достоверны.

Суточная динамика массы тела и жировых резервов у зеленых пеночек. В анализе суточной динамики массы тела и жировых резервов зеленых пеночек использованы средние данные за 1 ч в определенный период жизненного цикла.

В предгнездовой период в течение суток масса тела зеленых пеночек меняется незначительно, можно отметить лишь небольшой спад в середине дня и небольшое возрастание во второй половине дня (рис. 2, А). Однако все различия недостоверны, и можно заключить, что масса тела зеленых пеночек в предгнездовой период практически постоянна в течение суток. Жировые резервы зеленых пеночек в предгнездовой период колеблются в течение дня, но даже на фоне этих колебаний заметно возрастание жировых резервов к концу светового дня (рис. 2, Б). Жировые резервы в период с 17 до 22 ч достоверно выше, чем в остальное время ($p < 0,05$, t-тест).

В гнездовой период масса тела зеленых пеночек значительно меняется в течение дня: различия достигают 14% (рис. 3, А). Существуют два пика увеличения массы тела: утренний и вечерний. В середине дня масса тела зеленых пеночек падает. Жировые резервы зеленых пеночек в период гнездования также сильно меняются в течение дня (рис. 3, Б). Их колебания следуют за изменениями массы тела, т.е. к концу светового дня жировые резервы также возрастают, но эти различия недостоверны.

В период послегнездовой дисперсии масса тела зеленых пеночек в течение дня меняется незначительно (рис. 4, А). Следует заметить, что в среднем масса тела плавно увеличивается от начала к середине

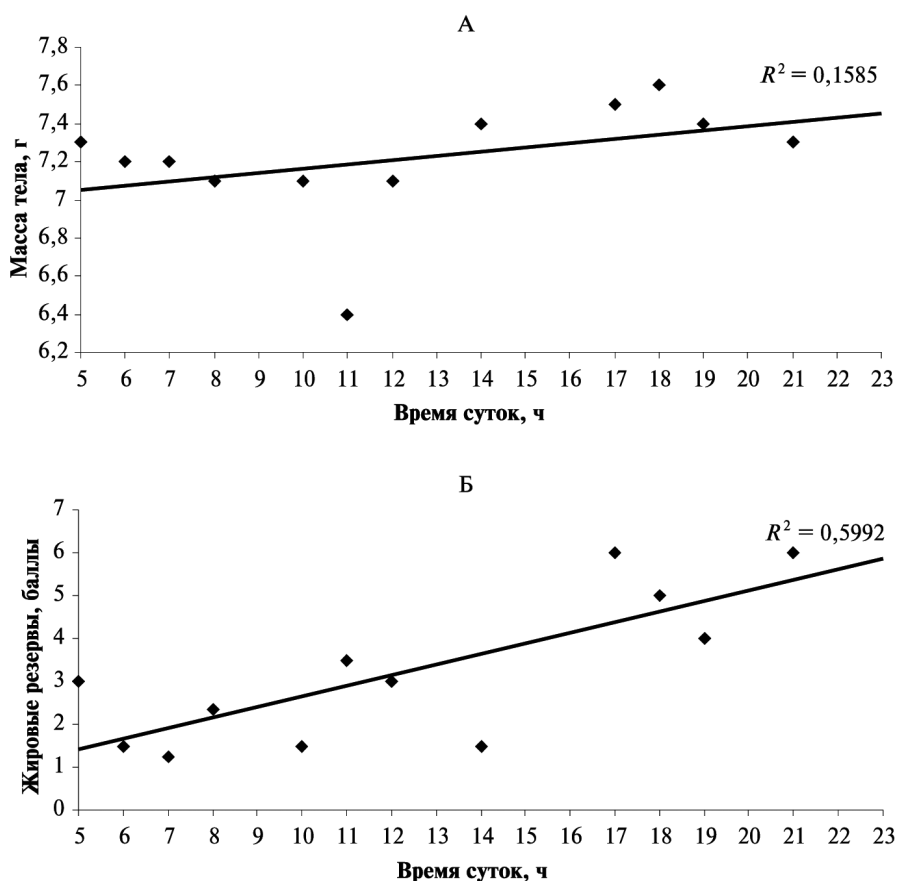


Рис. 2. Суточная динамика массы тела и жировых резервов зеленых пеночек в предгнездовой период. Обозначения: см. рис. 1

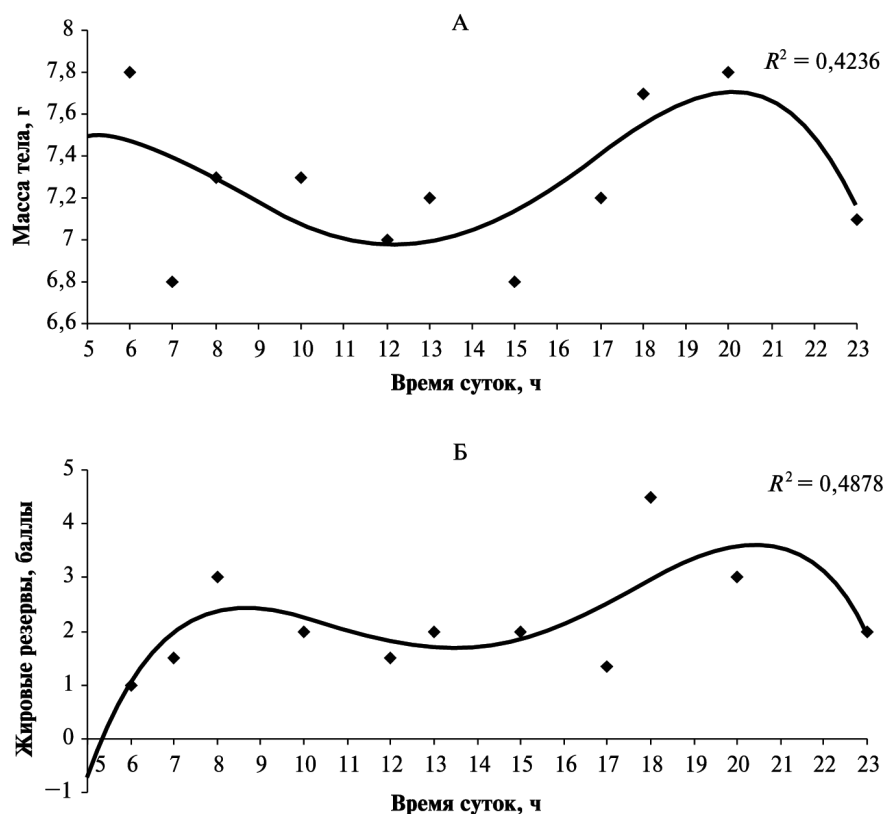


Рис. 3. Суточная динамика массы тела и жировых резервов зеленых пеночек в период гнездования. Обозначения: см. рис. 1

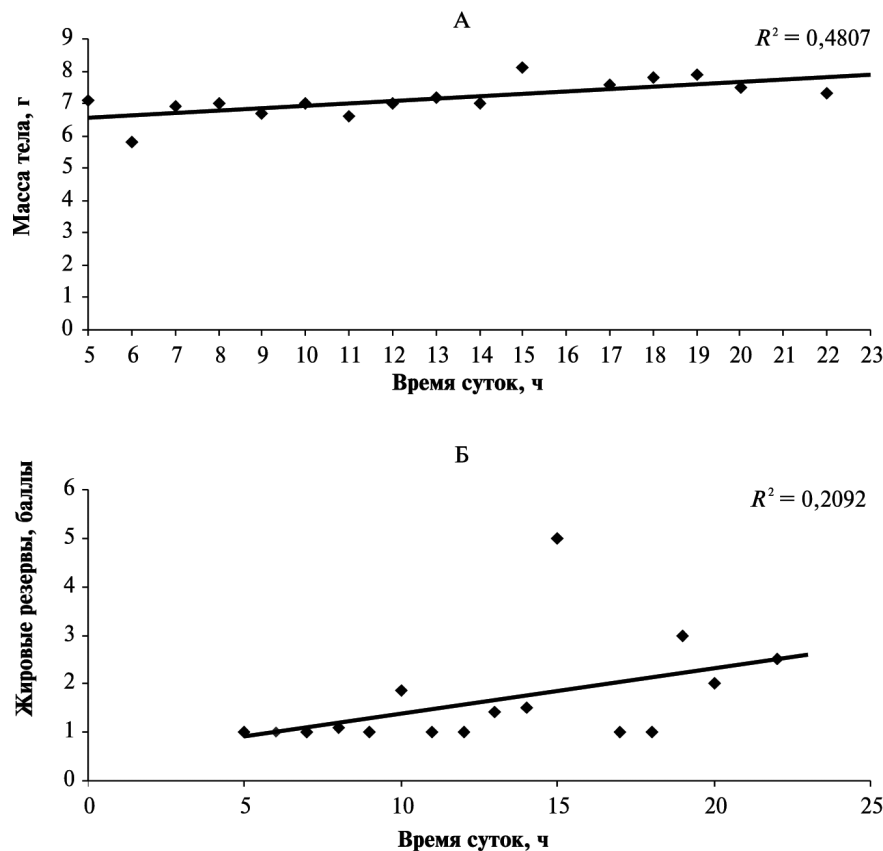


Рис. 4. Суточная динамика массы тела и жировых резервов зеленых пеночек в период послегнездовой дисперсии. Обозначения: см. рис. 1

и концу дня. Жировые резервы зеленых пеночек в период послегнездовой дисперсии в начале дня были на невысоком уровне, затем резко возрастали к середине дня, а в конце дня поддерживались на более высоком уровне, чем в утренние часы (рис. 4, Б).

В начале августа, когда завершается период линьки и начинается предмиграционный период, в суточных изменениях средней массы тела зеленых пеночек прослеживается достоверное увеличение от начала к концу дня (рис. 5, А). Средняя масса тела зеленых пеночек с середины дня (12 часов) достоверно выше, чем в утренние часы ($p < 0,05$, t-test). Изменения жировых резервов зеленых пеночек в предмиграционный период следуют за изменениями массы тела птиц. Достоверно возрастание жировых резервов к концу светового дня (рис. 5, Б). Жировые резервы в период с 15 до 22 ч достоверно выше, чем в остальное время ($p < 0,05$, t-test).

Обсуждение

Полетный вес птиц находится под внутренним контролем. Увеличение массы тела приводит к повышению нагрузки на крыло и возрастанию расходуемой на полет мощности. Однако птицы обладают высокой скоростью энергетического метаболизма, поддержание которого в условиях неравномерного поступления пищи возможно только при наличии буферных резервов питательных веществ. Запасание питательных веществ приводит к увеличению массы тела. Таким образом, масса тела птицы находится под постоянным давлением двух противоположно действующих факторов: контроля полетного веса и контроля веса энергетических резервов [2]. Все это приводит к сложной структуре суточных и годовых циклов изменения массы тела у птиц. При этом показано, что сезонные изменения среднего веса птиц в популяции закономерны и повторяются из года в год с большой точностью [2].

В целом можно заключить, что зеленые пеночки в течение всего периода пребывания в гнездовом ареале стремятся поддерживать массу тела на примерно одном и том же уровне. Однако на фоне общей закономерности су-

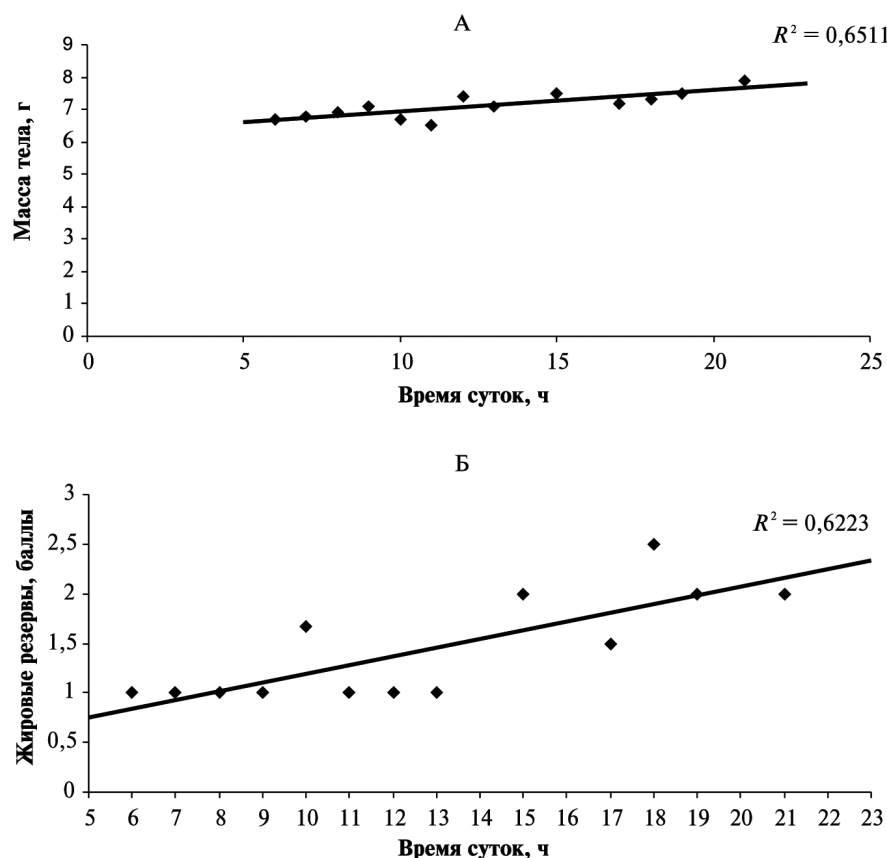


Рис. 5. Суточная динамика массы тела и жировых резервов зеленых пеночек в предмиграционный период. Обозначения: см. рис. 1

шествуют несколько частных. В среднем масса тела птиц плавно увеличивается от начала к середине и концу дня. Кроме того, в течение дня, как правило, существуют два пика увеличения массы тела: утренний и вечерний. Интересно отметить, что колебания массы тела птиц следуют за колебаниями суточной локомоторной активности [12]. В предгнездовой и послегнездовой периоды суточный ритм локомоторной активности зеленых пеночек имеет двухвершинный характер: первый пик, ярко выраженный, утренний и второй — вечерний [12]. Именно такой ритм локомоторной активности, связанный в основном с питанием птиц, приводит к слабым колебаниям массы тела. В гнездовой период классический двухвершинный ритм локомоторной активности отсутствует: пеночки равномерно активны все светлое время суток, но их активность в целом ниже [12]. Вследствие этого именно в этот период масса тела зеленых пеночек значительно меняется в течение дня. По-видимому, пеночки испытывают дефицит времени на кормежку в этот период, поэтому не способны полностью контролировать постоянство массы тела.

В немиграционные периоды жировые резервы птиц служат источником энергии для перенесения неблагоприятных условий жизни. По их изменению можно судить, когда птицы испытывают дефицит энергии, — тогда жировые резервы тратятся, а когда существует избыток энергии, — тогда жировые резервы растут.

При этом неоднократно отмечалось, что изменения жировых резервов не всегда следуют за изменениями массы тела птиц [2].

Жировые резервы зеленых пеночек достоверно меняются во время пребывания в гнездовом ареале. Жировые резервы максимальны в предгнездовой период, они несколько меньше в гнездовой период, имеют минимум в период вождения выводков, послегнездовой дисперсии и линьки, а в конце пребывания в районе гнездования возрастают, но меньше, чем в период гнездования. Эти результаты говорят о том, что в период с конца мая по конец июля в среднем зеленые пеночки тратят несколько больше энергии, чем изымают ее с пищи из среды обитания. И только в период с конца июля до отлета они имеют положительный баланс энергии, т.е. изымают из среды больше энергии, чем тратят. Предгнездовой период, когда жировые резервы максимальны, вероятно, менее благоприятный для зеленых пеночек.

В течение суток жировые резервы, как правило, колеблются незначительно, но иногда удается выделить утренние и вечерние пики. В этом случае

жировые резервы следуют за изменениями массы тела птиц. Однако во все периоды жизненного цикла жировые резервы достоверно возрастают во второй половине дня — к ночи. В этом случае жировые резервы тратятся ночью, когда птицы не питаются.

Заключение

Зеленые пеночки в течение всего периода пребывания в гнездовом ареале стремятся поддерживать массу тела на примерно одном уровне. Почти все колебания массы тела недостоверны, однако можно выявить несколько тенденций. Средняя масса зеленых пеночек остается постоянной в течение предгнездового и всего гнездового периодов, затем следует небольшое уменьшение в период вождения выводков, послегнездовой дисперсии и линьки и небольшой подъем в конце пребывания в районе гнездования. В среднем масса тела птиц плавно увеличивается от начала к середине и концу дня. Колебания массы тела птиц следуют за колебаниями суточной локомоторной активности. Жировые резервы максимальны в предгнездовой период, несколько меньше в гнездовой период, минимальны в период вождения выводков, послегнездовой дисперсии и линьки, а после возрастают в конце пребывания в районе гнездования, но меньше, чем в период гнездования. Во все периоды жизненного цикла жировые резервы достоверно возрастают во второй половине дня. Колебания жировых резервов зеле-

ных пеночек следуют за колебаниями массы тела птиц, при этом изменения жировых резервов выражены достовернее, чем изменения массы тела, как в течение суток, так и между разными стадиями жизненного цикла. Эти факты подтверждают наличие двойного контроля: контроля полетного веса птиц и контроля веса энергетических резервов. Зеленые пеночки покидают район

гнездования с меньшей массой тела и меньшими жировыми резервами, чем они имеют в момент прилета.

* * *

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (гранты № 09-04-01404-а и № 11-04-00992-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дольник В.Р. Суточные ритмы кормовой и локомоторной активностей перелетных птиц // Исследования по биологии птиц / Труды ЗИН АН СССР. Т. 55. Л.: Наука, 1974. С. 3—13.
2. Дольник В.Р. Миграционное состояние птиц. М.: Наука, 1975. 398 с.
3. Gwinner E. Circadian and circannual rhythms in birds // Avian biology / Ed. by D.S. Farner and J.R. King. N.Y.; L.: Acad. Press, 1975. Vol. V. P. 221—285.
4. Daan S., Aschoff J. Circadian rhythms of locomotor activity in captive birds and mammals: their variations with season and latitude // Oecologia. 1975. Vol. 18. N 4. P. 269—316.
5. Berthold P. Migration: control and metabolic physiology // Avian biology / Ed. by D.S. Farner and J.R. King. N.Y.; L.: Acad. Press, 1980. Vol. V. P. 124—221.
6. Farner D.S. Avian annual cycles // Avian endocrinology / Ed. by A. Epplé and M.H. Stetson. N.Y.: Acad. Press, 1980. P. 331—336.
7. Гвинер Э. Годовые ритмы: общая перспектива // Биологические ритмы. М.: Мир, 1984. С. 44—54.
8. Шолов И.А. Физиологическая экология животных. М.: Высшая школа, 1985. 328 с.
9. Brandstatter R. The circadian pacemaking system of birds // Biological rhythms / Ed. by V. Kumar. BE-New Delhi: Springer and Narosa Publishing House, 2002. P. 144—153.
10. Wikelski M., Martin L.B., Scheuerlein A., Robinson M.T., Robinson N. D., Helm B., Hau M., Gwinner E. Avian

an circannual clocks: adaptive significance and possible involvement of energy turnover in their proximate control // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 2008. Vol. 363. N 1490. P. 411—423.

11. Горецкая М.Я. Зеленая пеночка (*Phylloscopus trochiloides viridanus* Sundevall) на территории Звенигородской биостанции // Труды Звенигородской биологической станции. М.: Логос, 2001. Т. 3. С. 216—219.

12. Гаврилов В.В., Веселовская Е.О., Вострцова Е.В., Горецкая М.Я. Сроки различных фаз годового цикла и суточные ритмы локомоторной активности зеленой пеночки в западном Подмосковье // Орнитология. М.: МГУ, 2008. № 35. С. 120—124.

13. Блюменталь Т.И., Дольник В.Р. Оценка энергетических показателей птиц в полевых исследованиях // Орнитология. 1962. № 4. С. 394—407.

14. Виноградова Н.В., Дольник В.Р., Ефремов В.Д., Павский В.А. Определение пола и возраста воробьиных птиц фауны СССР. М.: Наука, 1976. 189 с.

15. Гаврилов В.В., Гаврилов В.М., Горецкая М.Я., Веселовская Е.О. Изучение птиц методом отлова, прижизненной обработки и кольцевания. Методические указания для проведения летней учебной практики студентов биологического факультета МГУ // Руководство по летней учебной практике студентов-биологов на Звенигородской биостанции им. С.Н. Скадовского / Учебно-методическое пособие. М.: МГУ, 2004. С. 270—299.

Поступила в редакцию
08.11.13

SEASON AND DIURNAL CHANGES OF WEIGHT AND FAT RESERVES OF THE GREENISH WARBLER IN THE WEST OF MOSCOW REGION

V.V. Gavrilov, M.J. Goretskaia, E.O. Veselovskaia

Greenish warblers try to keep the same weight level during the whole period of their staying in the breeding area. On the average, weight increases smoothly from the morning to the afternoon and evening. Weight changes follow diurnal changes of locomotor activity. In all stages fat reserves are significantly higher in the second part of the day. Changes of fat reserves follow the weight changes. Fat reserves changes are more significant than weight changes both at diurnal level and at different stages of life cycle. This finding supports the existence of double control system: the control of bird fly weight and that of energetic deposition weight. Greenish warblers depart from the breeding area with lower weight and fat depositions than those they arrive with.

Key words: season and diurnal rhythms, weight, fat reserves, *Phylloscopus trochiloides*.

Сведения об авторах

Гаврилов Вадим Валерьевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ЗБС МГУ. Тел.: 8-495-992-42-14; e-mail: vadimgavrilov@yandex.ru)

Горецкая Мария Яковлевна — канд. биол. наук, науч. сотр. ЗБС МГУ. Тел.: 8-495-992-42-14; e-mail: mariagoretskaia1@mail.ru

Веселовская Екатерина Олеговна — мл. науч. сотр. ЗБС МГУ. Тел.: 8-495-992-42-14.

УДК 581.45

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ ВЫСОКОГОРНЫХ ПАСТБИЩ ВОСТОКА ЦИНХАЙ-ТИБЕТСКОГО НАГОРЬЯ (СЫЧУАНЬ, КНР)

Т.Г. Елумеева, В.Г. Онопченко, У Янь*

(кафедра геоботаники, e-mail: elumeeva@yandex.ru)

Представлены оригинальные данные по эколого-морфологическим признакам листьев (площадь листа и удельная листовая поверхность, УЛП) 80 видов сосудистых растений в высокогорных фитоценозах востока Цинхай-Тибетского нагорья (Сычуань, КНР). Средняя УЛП составила $192 \pm 6 \text{ см}^2/\text{г}$, а средняя площадь — $2,38 \pm 0,23 \text{ см}^2$. Высокая средняя УЛП характерна для рыхлодерновинных злаков, а низкая — для группы осоковых и ситниковых, а также для кустарников. Среди разнотравья УЛП была значимо выше у безрозеточных видов, чем у видов, формирующих розетки листьев. Результаты наших исследований в целом согласуются с общими закономерностями для других регионов.

Ключевые слова: листья, эколого-морфологические признаки, Цинхай-Тибетское нагорье.

Функциональные (или эколого-морфологические) признаки растений (plant functional traits) отражают их экологические стратегии и определяют, каким образом виды будут реагировать на факторы внешней среды, влиять на другие трофические уровни и на свойства экосистемы в целом [1]. Использование функциональных признаков растений для анализа структуры и динамики фитоценозов позволяет сравнивать растительные сообщества, располагающиеся в разных географических районах и различающиеся по видовому составу, а также делать прогнозы возможных изменений их структуры в ответ на изменения климата [2] или режима землепользования. В связи с этим особенно актуально создание локальных и общемировых баз данных по функциональным признакам растений [3, 4].

Удельная листовая поверхность (УЛП) — одна из характеристик “экономического спектра растения” (“plant economic spectrum”) [5]. Она связана со многими другими функциональными признаками растений: с интенсивностью фотосинтеза, относительной скоростью роста [1, 6], скоростью разложения ветоши [7].

Высокогорные экосистемы восточной части Цинхай-Тибетского нагорья занимают обширные площади и отличаются богатой флорой с большим числом эндемичных видов [8]. Они сформировались под воздействием интенсивного выпаса яков, которых местные жители традиционно разводят в течение нескольких тысячелетий, по крайней мере с голоценового климатического оптимума [9]. Однако флора и растительность региона изучены довольно слабо, и данные по функциональным признакам обитающих здесь рас-

тений немногочисленны. Работы, посвященные функциональной структуре пастбищ, проводятся на станции Мацун в провинции Ганьсу, где пробные площади расположены на высоте 3500 м над ур. м. [10, 11].

Цель нашей работы — изучение функциональных признаков растений высокогорных пастбищ северо-запада провинции Сычуань, расположенных выше границы леса, на высоте 3900—4000 м над ур. м. В задачи работы входило измерение площади УЛП листьев, сравнение полученных данных с аналогичными данными по другим высокогорным экосистемам и выявление связей признаков листьев с функциональными группами растений.

Объекты и методы

Общая характеристика района исследований. Район исследований расположен на севере провинции Сычуань (КНР) примерно в 40 км к северо-западу от г. Сунпань (Songpan). Материал был собран на г. Какао, относящейся к горному массиву Миньшань на самом востоке Цинхай-Тибетского нагорья ($32^{\circ}59' \text{ с.ш.}, 103^{\circ}39' \text{ в.д.}$). Этот регион находится под воздействием приходящих с востока муссонов, но в то же время испытывает воздействие холодных сухих ветров с внутренней части нагорья. Климат, по классификации Кеппена, умеренно холодный, с сухой зимой и прохладным летом [12]. Среднегодовая температура составляет $+2,8^{\circ}\text{C}$, средняя температура января $-7,6^{\circ}\text{C}$, а июля $+9,7^{\circ}\text{C}$. Безморозный период отсутствует. В год выпадает в среднем 718 мм осадков, из которых 72% приходится на июль—август. Снежный покров варьируется от 0 до 60 см [13, 14]. Почвы — инсептисоли на илистых суглинках с pH 5,54—5,94 и

* Институт биологии г. Ченду Китайской академии наук, 610041, КНР, г. Ченду.

содержанием органического вещества 41,5—60,0 г/кг сухой почвы.

По флористическому районированию изучаемая территория относится к Центрально-Китайской провинции Восточноазиатской области Голарктического царства [15]. Растительность в районе исследований представлена елово-пихтовыми лесами и производными кустарниковыми сообществами, сформировавшимися в результате сведения лесов и выпаса скота. Верхняя граница леса достигает 3800 м на северных склонах [16]. Выше располагаются кустарниковые заросли (из видов рода *Rhododendron* на крутых северных склонах и с доминированием *Spiraea alpina*, *Potentilla fruticosa*, *Caragana jubata* на южных), альпийские луга и болота. Все сообщества, за исключением рододендронников, подвержены интенсивному выпасу яков (*Bos grunniens* Linnaeus 1766).

Нами были изучены виды, типичные для альпийских лугов, а также некоторые представители альпийских болот и зарослей *Spiraea alpina*, произрастающие в диапазоне высот от 3930 до 3950 м над ур. м. Альпийские мелкокустарниковые кобрезиево-разнотравные луга занимают пологие южные склоны и гребни. Проективное покрытие кустарников, главным образом *Potentilla fruticosa* достигает 5—10%, а их высота не превышает 30 см, в среднем составляет 10 см. Это полидоминантные сообщества, в которых из травянистых растений типичны *Kobresia humilis*, *K. kansuensis*, *Sibbaldia procumbens*, *Festuca ovina*, *Deschampsia caespitosa*, *Gentiana hexaphylla*, *Polygonum macrophyllum*, *Trollius farreri*, *Thalictrum alpinum*, виды *Saussurea* и *Pedicularis*. Среди жизненных форм преобладают каудексные и короткокорневищные вегетативно неподвижные растения [17]. Заросли кустарников с доминированием *Spiraea alpina* располагаются на более крутых южных склонах, покрытие кустарниками в них превышает 50%. В составе травяно-кустарничкового яруса здесь участвуют в основном те же самые виды, что и на лугах. Альпийские болота занимают выровненные пологие участки в разных частях склонов. Из травянистых растений обычны *Carex moorcroftii*, *Kobresia humilis*, *Polygonum macrophyllum*, *Pedicularis longiflora*, *Cremanthodium lineare*. Изученные альпийские сообщества отличаются высокой флористической насыщенностью, составляя в среднем 75 и 81 вид на 100 м² на лугах и в зарослях кустарников соответственно, и 35 видов на 100 м² на альпийских болотах [18].

Материалы и методы

Сбор полевого материала. В период с середины июня по конец июля 2012 г. нами были собраны листья 80 видов сосудистых растений, из них большинство (62 вида) росло на альпийских лугах, 4 вида — в зарослях кустарников и 14 видов были характерны для альпийских болот. В связи с интенсивным выпасом листья десяти видов болотных растений были собраны на огороженном участке. Все изучен-

ные виды в совокупности составляют 80—90% биомассы отдельных сообществ.

Для определения площади листа полностью развитые неповрежденные листья с взрослых вегетативных или генеративных особей собирали во влажную камеру, удаляли крупные черешки и рахисы сложных листьев, а затем сканировали с разрешением 300 dpi для крупных листьев и 600 dpi для мелких и сильно рассеченных [19]. После сканирования листья высушивали при 80°C в течение 6 ч и взвешивали с точностью до 0,1 мг. Повторность составила 11—19 листьев для разных видов. Площадь листа определяли по числу черных пикселей в программе Corel PhotoPaint X4 после ручного удаления фона. Удельную листовую поверхность (УЛП) рассчитывали путем деления площади листа на его массу.

Статистическая обработка. Для выявления связи между удельной листовой поверхностью и площадью листьев был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона. Для того чтобы привести распределение этих признаков к нормальному, данные были логарифмированы.

Учитывая систематическое положение и наиболее важные для пастбищных растений признаки жизненной формы, такие как способность к клональному росту и расположение ассимилирующих органов, мы объединили все виды в следующие группы: кустарники (5 видов), вегетативно-неподвижные розеточные и полурозеточные растения (39 видов), вегетативно-неподвижные безрозеточные растения (9 видов), вегетативно-подвижные розеточные и полурозеточные растения (9 видов), плотнoderновинные злаки (5 видов), рыхлoderновинные злаки (6 видов), корневищные осоковые и ситниковые (8 видов). Различия в параметрах листьев между разными группами мы сравнивали с помощью непараметрического теста Манна—Уитни (Mann—Whitney U-test).

Номенклатура. Латинские названия растений с авторами приведены в таблице. Определение проводили по “Flora of China” [20, 21]. Гербарные образцы всех изученных видов переданы в Гербарий Московского университета (MW).

Результаты

Параметры листьев сильно варьировали среди изученных видов растений. Самые мелкие листья отмечены у *Gentiana crassuloides*, *G. hexaphylla*, *Androsace brachystegia*, а самые крупные — у *Allium rude* и *Aconitum pendulum*, которые характерны для кустарниковых зарослей (таблица). Средняя площадь листьев составила $2,38 \pm 0,23$ см² (среднее $\pm$ ошибка). Близкие к средним величины отмечены у *Carex atrofusca*, *Caragana jubata*, *Polygonum macrophyllum*, *Lancea tibetica*.

Средняя величина удельной листовой поверхности (УЛП) составила 192 ± 6 см²/г. Она широко варьировала между видами. Самые низкие значения УЛП были отмечены у *Juncus sikkimensis* (54 см²/г),

Функциональные признаки листьев альпийских растений востока Цинхай-Тибетского нагорья

Вид	Семейство	Сообщество	n	Площадь листа, см ² ($\bar{x} \pm m\bar{x}$)	УЛП, см ² /г ($\bar{x} \pm m\bar{x}$)
<i>Aconitum pendulum</i> Busch	Ranunculaceae	SAS	16	9,38 $\pm$ 0,68	239 $\pm$ 4
<i>Agrostis hugoniana</i> Rendle	Poaceae	AM	15	0,67 $\pm$ 0,06	256 $\pm$ 9
<i>Allium rude</i> J.M. Xu	Liliaceae	SAS	16	9,07 $\pm$ 1,33	180 $\pm$ 9
<i>Allium sikkimense</i> Baker	Liliaceae	AM	15	0,88 $\pm$ 0,17	196 $\pm$ 11
<i>Anaphalis nepalensis</i> (Spreng.) Hand.-Mazz.	Asteraceae	AM	15	2,08 $\pm$ 0,19	225 $\pm$ 8
<i>Androsace brachystegia</i> Handel-Mazetti	Primulaceae	AB	12	0,08 $\pm$ 0,00	205 $\pm$ 6
<i>Androsace mariae</i> Kanitz	Primulaceae	AM	15	0,25 $\pm$ 0,01	138 $\pm$ 4
<i>Anemone demissa</i> J.D. Hooker & Thomson	Ranunculaceae	AM	15	5,07 $\pm$ 0,26	132 $\pm$ 2
<i>Anemone obtusiloba</i> D. Don	Ranunculaceae	AM	15	1,94 $\pm$ 0,16	243 $\pm$ 4
<i>Anemone trullifolia</i> Hook f. et Thoms.	Ranunculaceae	AM	13	2,22 $\pm$ 0,20	159 $\pm$ 3
<i>Aster souliei</i> Franchet	Asteraceae	AM	15	2,48 $\pm$ 0,16	184 $\pm$ 11
<i>Callianthemum farreri</i> W.W. Smith	Ranunculaceae	AM	12	4,05 $\pm$ 0,21	175 $\pm$ 6
<i>Caltha scaposa</i> J.D. Hooker & Thompson	Ranunculaceae	AM	14	2,81 $\pm$ 0,24	230 $\pm$ 8
<i>Caragana jubata</i> (Pall.) Poir.	Fabaceae	AM	12	0,39 $\pm$ 0,21	154 $\pm$ 3
<i>Carex atrofusca</i> Schkuhr subsp. <i>minor</i> (Boott) T. Koyama	Cyperaceae	AM	15	2,25 $\pm$ 0,09	204 $\pm$ 5
<i>Carex cruenta</i> Nees	Cyperaceae	AM	15	1,45 $\pm$ 0,09	255 $\pm$ 11
<i>Carex moorcroftii</i> Falconer ex Boott	Cyperaceae	AB	15	4,47 $\pm$ 0,33	158 $\pm$ 4
<i>Carex parva</i> Nees	Cyperaceae	AB	15	1,14 $\pm$ 0,08	104 $\pm$ 6
<i>Chamaesium paradoxum</i> H. Wolff	Apiaceae	AM	12	6,85 $\pm$ 0,40	209 $\pm$ 8
<i>Cremanthodium discoideum</i> Maxim.	Asteraceae	AB	15	3,39 $\pm$ 0,14	169 $\pm$ 7
<i>Cremanthodium lineare</i> Maxim.	Asteraceae	AB	14	1,34 $\pm$ 0,15	104 $\pm$ 5
<i>Deschampsia caespitosa</i> (L.) P. Beauv. subsp. <i>orientalis</i> Hultén	Poaceae	AM	15	1,01 $\pm$ 0,07	180 $\pm$ 6
<i>Deyeuxia flavens</i> Keng	Poaceae	AM	15	2,48 $\pm$ 0,18	288 $\pm$ 11
<i>Elymus schrenkianus</i> (Fischer & C.A. Meyer) Tzvelev	Poaceae	AM	15	1,75 $\pm$ 0,13	246 $\pm$ 8
<i>Euphorbia</i> sp.	Euphorbiaceae	AM	12	0,50 $\pm$ 0,02	207 $\pm$ 4
<i>Festuca ovina</i> L.	Poaceae	AM	15	0,33 $\pm$ 0,03	144 $\pm$ 4
<i>Fritillaria unibracteata</i> P.K. Hsiao & K.C. Hsia	Liliaceae	SAS	15	1,86 $\pm$ 0,16	290 $\pm$ 10
<i>Gentiana crassuloides</i> Bureau & Franchet	Gentianaceae	AM	12	0,07 $\pm$ 0,01	310 $\pm$ 7
<i>Gentiana georgei</i> Diels	Gentianaceae	AM	15	3,22 $\pm$ 0,18	139 $\pm$ 4
<i>Gentiana hexaphylla</i> Maximowicz ex Kusnezov	Gentianaceae	AM	15	0,17 $\pm$ 0,02	220 $\pm$ 6
<i>Gentiana sinoornata</i> I.B. Balfour	Gentianaceae	AB	15	0,56 $\pm$ 0,03	192 $\pm$ 6
<i>Geranium pylzowianum</i> Maxim.	Geraniaceae	AM	13	1,18 $\pm$ 0,11	261 $\pm$ 8
<i>Hedysarum algidum</i> L.Z. Shue	Fabaceae	AM	12	4,91 $\pm$ 0,24	206 $\pm$ 5
<i>Hedysarum sikkimense</i> Benth. ex Baker	Fabaceae	AM	12	6,00 $\pm$ 0,50	206 $\pm$ 6
<i>Juncus sikkimensis</i> J.D. Hooker	Juncaceae	AB	14	3,33 $\pm$ 0,22	54 $\pm$ 2
<i>Juncus thomsonii</i> Buchen.	Juncaceae	AB	15	0,32 $\pm$ 0,02	125 $\pm$ 4
<i>Kobresia humilis</i> (C.A. Mey) Serg.	Cyperaceae	AM	15	1,30 $\pm$ 0,16	202 $\pm$ 11
<i>Kobresia kansuensis</i> Kükenth.	Cyperaceae	AB	15	6,53 $\pm$ 0,29	167 $\pm$ 3
<i>Kobresia vidua</i> (Boott ex C.B. Clarke) Kükenthal	Cyperaceae	AM	15	0,46 $\pm$ 0,03	151 $\pm$ 8
<i>Lancea tibetica</i> J.D. Hooker & Thomson	Scrophulariaceae	AM	15	2,39 $\pm$ 0,17	197 $\pm$ 3
<i>Leontopodium franchetii</i> Beauv.	Asteraceae	AM	12	0,72 $\pm$ 0,05	251 $\pm$ 7

Окончание таблицы

Вид	Семейство	Сообщество	n	Площадь листа, см ² ($\bar{x} \pm m\bar{x}$)	УЛП, см ² /г ($\bar{x} \pm m\bar{x}$)
<i>Lloydia oxycarpa</i> Franchet	Liliaceae	SAS	12	1,95 ± 0,18	144 ± 8
<i>Lonicera rupicola</i> Hook. f. et Thoms.	Caprifoliaceae	SAS	15	0,68 ± 0,04	160 ± 5
<i>Pedicularis davidii</i> Franch.	Orobanchaceae	AM	12	5,36 ± 0,51	262 ± 10
<i>Pedicularis lasiohyps</i> Maximowicz	Orobanchaceae	AM	14	0,99 ± 0,04	204 ± 10
<i>Pedicularis longiflora</i> J. Rudolph	Orobanchaceae	AB	15	1,22 ± 0,08	138 ± 5
<i>Pedicularis oederi</i> Vahl	Orobanchaceae	AM	12	1,77 ± 0,09	162 ± 8
<i>Pedicularis plicata</i> Maximowicz	Orobanchaceae	AM	13	0,84 ± 0,09	159 ± 5
<i>Pedicularis roylei</i> Maximowicz	Orobanchaceae	AM	12	0,41 ± 0,04	246 ± 11
<i>Pleurospermum wilsonii</i> H. de Boissieu	Apiaceae	AM	11	3,00 ± 0,17	221 ± 6
<i>Poa albertii</i> Regel	Poaceae	AM	12	0,75 ± 0,08	269 ± 16
<i>Poa calliopsis</i> Litv.	Poaceae	AB	12	0,51 ± 0,04	241 ± 12
<i>Poa versicolor</i> Besser	Poaceae	AM	15	1,75 ± 0,22	219 ± 11
<i>Polygonatum qinghaiense</i> Z.L. Wu et Y.C. Yang	Liliaceae	AM	15	0,90 ± 0,05	367 ± 13
<i>Polygonum macrophyllum</i> D. Don	Polygonaceae	AM	15	2,32 ± 0,21	204 ± 7
<i>Potentilla fruticosa</i> L.	Rosaceae	AM	15	0,59 ± 0,04	122 ± 4
<i>Potentilla saundersiana</i> Royle	Rosaceae	AM	15	0,56 ± 0,02	169 ± 2
<i>Primula purdomii</i> Craib	Primulaceae	AB	13	6,55 ± 0,73	181 ± 6
<i>Primula stenocalyx</i> Maximowicz	Primulaceae	AM	15	1,11 ± 0,06	201 ± 8
<i>Ptilagrostis concinna</i> (J.D. Hooker) Roshevitz	Poaceae	AM	13	0,45 ± 0,04	138 ± 5
<i>Ranunculus nephelogenes</i> Edgeworth	Ranunculaceae	AB	14	0,76 ± 0,07	155 ± 5
<i>Ranunculus tanguticus</i> (Maxim.) Ovcz.	Ranunculaceae	AM	15	0,68 ± 0,05	143 ± 6
<i>Rheum pumilum</i> Maximowicz	Polygonaceae	AM	12	3,53 ± 0,18	142 ± 7
<i>Salix</i> sp.	Salicaceae	AM	15	3,13 ± 0,19	156 ± 4
<i>Sanicula hacquetioides</i> Franchet	Apiaceae	AM	15	1,77 ± 0,12	294 ± 7
<i>Saussurea erubescens</i> Lipsch.	Asteraceae	AB	15	7,55 ± 0,37	156 ± 4
<i>Saussurea graminea</i> Dunn	Asteraceae	AM	15	0,60 ± 0,02	120 ± 4
<i>Saussurea leiocarpa</i> Handel-Mazzette	Asteraceae	AM	15	4,42 ± 0,29	169 ± 4
<i>Saussurea leontodontoides</i> (DC.) Sch. Bip.	Asteraceae	AM	13	2,72 ± 0,20	112 ± 4
<i>Saussurea tatsienensis</i> Franchet	Asteraceae	AM	15	6,49 ± 0,21	126 ± 2
<i>Sibbaldia procumbens</i> L.	Rosaceae	AM	15	2,11 ± 0,10	152 ± 3
<i>Spiraea alpina</i> Pallas	Rosaceae	SAS	15	0,49 ± 0,04	177 ± 3
<i>Tanacetum tatsienense</i> (Bureau & Franchet) K. Bremer & Humphries	Asteraceae	AM	15	1,11 ± 0,06	165 ± 5
<i>Taraxacum</i> sp.	Asteraceae	AM	19	3,18 ± 0,19	273 ± 8
<i>Thalictrum alpinum</i> L.	Ranunculaceae	AM	15	1,86 ± 0,15	212 ± 7
<i>Tongoloo taeniophylla</i> (H. de Boissieu) H. Wolff	Apiaceae	AM	13	5,77 ± 0,72	240 ± 10
<i>Trisetum spicatum</i> (L.) Richt.	Poaceae	AM	15	1,74 ± 0,25	211 ± 7
<i>Trollius farreri</i> Stapf	Ranunculaceae	AM	15	2,71 ± 0,22	153 ± 3
<i>Trollius vaginatus</i> Handel-Mazzetti	Ranunculaceae	AM	12	2,76 ± 0,23	162 ± 8

Примечание: n — повторность, УЛП — удельная листовая поверхность, $\bar{x} \pm m\bar{x}$ — среднее ± ошибка.

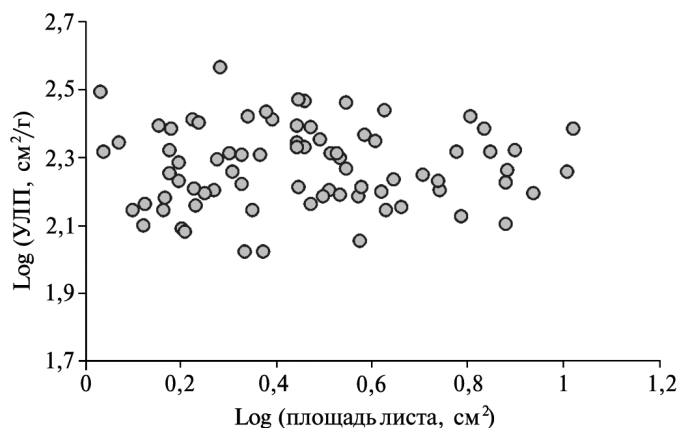


Рис. 1. Связь удельной листовой поверхности (УЛП) и площади листа. $R = -0,048$, n.s.

Carex parva (104 см²/г) и *Cremanthodium lineare* (104 см²/г), а самые высокие — у *Polygonatum qinghaiense* (367 см²/г) и *Gentiana crassuloides* (310 см²/г). Близкая к средней УЛП была отмечена у *Gentiana sinoornata*, *Lancea tibetica*, *Allium sikkimense*, *Aster souliei* (таблица).

Значимая связь между УЛП и площадью листа отсутствовала ($R = -0,04$, n.s.), однако можно отметить, что для мелких листьев возможен весь диапазон УЛП, от низкой до самой высокой, тогда как крупные листья характеризовались средними показателями УЛП (рис. 1).

Самая высокая средняя УЛП была отмечена у рыхлодерновинных злаков, она значимо превышала та-

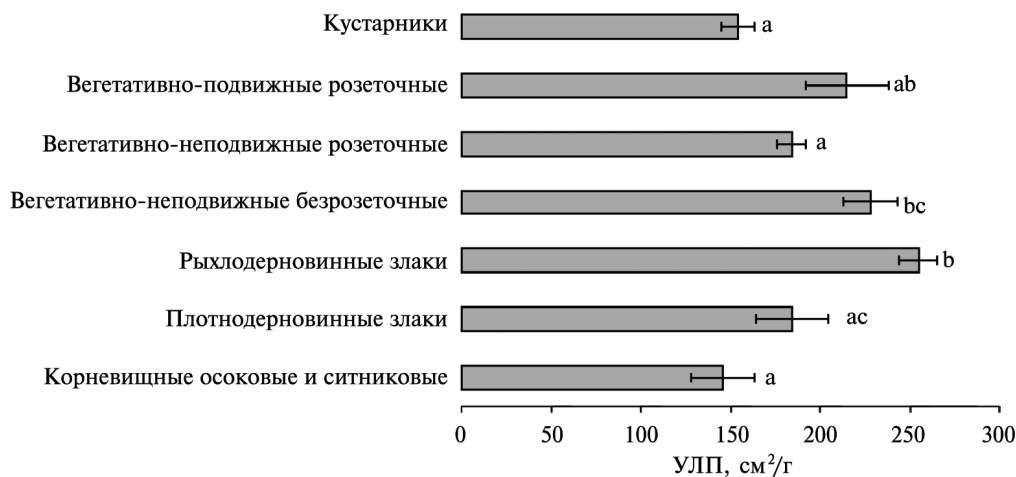


Рис. 2. Удельная листовая поверхность в разных функциональных группах растений. Разными буквами обозначены значимо ($p < 0,05$) отличающиеся друг от друга варианты

ковую у плотнoderновинных злаков (рис. 2). Самая низкая УЛП отмечена у группы осоковых и ситниковых, а также у кустарников. Среди разнотравья УЛП была значимо выше у безрозеточных видов, чем у видов, формирующих розетки листьев. По средней площади листьев эти группы между собой значимо не отличались.

Обсуждение

Листья растений высокогорных пастбищ восточной части Цинхай-Тибетского нагорья разнообразны по площади и удельной листовой поверхности. По сравнению с аналогичными данными, полученными для листовых параметров 116 видов растений в альпийских сообществах Тебердинского заповедника (северо-западный Кавказ), изученные нами растения отличаются в среднем более мелкими листьями: 2,4 см² в изученных сообществах Тибета и 7,6 см² в сообществах Кавказа. Однако при этом средняя удельная листовая поверхность для всех изученных видов на высотах 3930—3950 м над ур. м. (192 см²/г) оказалась близка к таковой на Кавказе на высоте около 2750 м над ур. м. (187 см²/г [19]). В целом высокогорные растения характеризуются меньшей УЛП, чем низкогорные: так, для Альп С. Körner [22] приводит среднюю УЛП 230 см²/г на высоте 600 м над ур. м. и 190 см²/г на высоте 3000 м, что близко к нашим данным. Так как район наших исследований находится значительно южнее, чем Альпы или Кавказ, то высотные пояса сдвинуты на большие абсолютные высоты. Увеличение толщины клеточных стенок и толщины самого листа как один из механизмов защиты от избыточной солнечной радиации ведет к уменьшению УЛП. Однако снижение парциального давления углекислого газа высоко в горах может обуславливать рост УЛП [22]. Также для Кавказа показано, что площадь листа значимо скоррелирована с УЛП и виды с более крупными листьями обладают боль-

шей УЛП [19]. Для изученных нами видов в Тибете такая связь отсутствовала.

Общими для Тибета и Кавказа оказались два вида — *Sibbaldia procumbens* и *Festuca ovina*. У *Sibbaldia procumbens* нами была отмечена меньшая УЛП, чем на Кавказе (152 и 191 см²/г соответственно), а у *Festuca ovina* большая (144 и 111 см²/г соответственно), что у последнего вида может быть связано с различиями в методике определения площади листа у узколистных злаков. В то же время у *Sibbaldia procumbens* УЛП, измеренная в горах юга Нор-

вегии (155 см²/г) [23] и в северо-западной Европе (155 см²/г) [3], близка к нашей. В пределах общих родов, представленных несколькими видами, сходный разброс средних УЛП в Тибете и на Кавказе был получен для видов *Pedicularis* (137—262 см²/г и 129—266 см²/г соответственно). Для вида с широким ареалом *Thalictrum alpinum* УЛП изменялась от

222 см²/г на участках вокруг нор песка в горах Северной Швеции [24] до 176 см²/г в горах юга Норвегии [23] и 127 см²/г в северо-западной Европе [3], а наши данные (212 см²/г) занимают промежуточное положение. Также вокруг песчаных нор в Норвегии были отмечены высокие показатели УЛП у *Festuca ovina* (193 см²/г) и *Sibbaldia procumbens* (247 см²/г) [24]. Таким образом, даже для такого считающегося относительно устойчивым показателя, как удельная листовая поверхность, характерно довольно широкое варьирование между регионами и экотопами. Так, для *Campanula thyrsoidea* популяции из разных частей Альп отличаются по УЛП [25]. Вот почему для изучения функциональной структуры растительных сообществ желательно использовать местные данные [26].

Разные функциональные группы растений различались по величине удельной листовой поверхности. Известно, что для растений с высокой относительной скоростью роста (relative growth rate, — RGR) свойственна и высокая УЛП [6], а способность к быстрому отрастанию важна для восстановления пастбищных растений после дефолиации [27, 28]. Однако двудольные растения с невысокой удельной листовой поверхностью формируют розетки листьев, что уменьшает изъятие биомассы яками, а расположение листьев близко к уровню почвы улучшает поступление углекислого газа. К немногочисленным безрозеточным видам относятся, например, некоторые виды горечавок

(*Gentiana sinoornata*, *G. hexaphylla*) и аконит (*Aconitum pendulum*), которых животные скорее всего избегают из-за содержащихся в них горечей или токсинов. Для древесных растений, по сравнению с травами, характерна меньшая УЛП при одинаковых условиях освещения [29] и азотного питания [30], что подтверждается и нашими данными. Таким образом, результаты наших исследований эколого-морфологических признаков листьев альпийских растений на востоке Цинхай-Тибетского нагорья в целом согласуются с общими закономерностями.

Авторы выражают благодарность Guo Haixia и Wang Jinniu за помощь в организации полевых исследований, Wang Qian, М.Г. Пименову, Ю.Е. Алексею и М.Н. Кожину за определение отдельных видов растений.

* * *

Работа выполнена при поддержке грантов: Grants of Chinese Academy Of Sciences Fellowships For Young International Scientists (2011Y1SA01), Grant of the National Natural Science Foundation of China (№ 30870396, № 40971178, № 31150110471), Grant of Ministry of Science and Technology (2009BA184B02), грант Российского фонда фундаментальных исследований № 14-04-00214.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pérez-Harguindeguy N., Díaz S., Garnier E. et al. New handbook for standardized measurement of plant functional traits worldwide // Australin Journal of Botany. 2013. Vol. 61. N 3. P. 167—234.
2. Soudzilovskaia N.A., Elumeeva T.G., Onipchenko V.G., Shidakov I.I., Salpagarova F.S., Khubiev A.B., Tekeev D.K., Cornelissen J.H.C. Functional traits predict relationship between plant abundance dynamic and long-term climate warming // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. Vol. 110. N 45. P. 18180—18184.
3. Kleyer M., Bekker R.M., Knevel I.C. et al. The LEDA Traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European flora // Journal of Ecology. 2008. Vol. 96. N 6. P. 1266—1274.
4. Kattge J., Díaz S., Lavorel S. et al. TRY — a global database of plant traits // Global change biology. 2011. Vol. 17. N 9. P. 2905—2935.
5. Freschet G.T., Cornelissen J.H.C., van Logtestijn R.S.P., Aerts R. Evidence of the 'plants economics spectrum' in a subarctic flora // J. of Ecol. 2010. Vol. 98. N 2. P. 362—373.
6. Hunt R., Cornelissen J.H.C. Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species // New Phytologist. 1997. Vol. 135. N 3. P. 395—417.
7. Cornelissen J.H.C., Thompson K. Functional leaf attributes predict litter decomposition rate in herbaceous plants // New Phytologist. 1997. Vol. 135. P. 109—114.
8. Tang Z., Wang Z., Zheng C., Fang J. Biodiversity in China's mountains // Frontiers in the Ecology and Environment. 2006. Vol. 4. N 7. P. 347—352.
9. Miehe G., Miehe S., Kaiser K., Reudenbach C., Behrendes L., La Duo, Schlütz F. How old is pastoralism in Tibet? An ecological approach to the making of a Tibetan landscape // Palaeogeogr. Palaeoclimatol. 2009. Vol. 276. N 1—4. P. 130—147.
10. Niu K., Zhang S., Zhao B., Du G. Linking grazing response of species abundance to functional traits in the Tibetan alpine meadow // Plant and Soil. 2010. Vol. 330. N 1—2. P. 215—223.
11. Yang Z., Guo H., Zhang J., Du G. Stochastic and deterministic processes together determine alpine meadow plant community composition on the Tibetan plateau // Oecologia. 2013. Vol. 171. N 2. P. 495—504.
12. Peel M.C., Finlayson B.L., McMahon T.A. Updated world map of Köppen-Geiger climate classification // Hydrology and Earth Systems Sciences. 2007. Vol. 11. P. 1633—1644.
13. Yan W., Onipchenko V.G. Relation of the snow cover to the structure of vegetation in the alpine communities of the eastern Tsinghai-Tibetan Plateau // Zhurnal Obshchei Biologii. 2006. Vol. 67. N 6. P. 452—463.
14. Chen W., Wu Y., Wu N., Luo P. Effect of snow-cover duration on plant species diversity of alpine meadows of the eastern Qinghai-Tibetan plateau // Journal of Mountain Science. 2008. Vol. 5. N 4. P. 327—339.
15. Тахтаджян А.Л. Флористические области Земли. Л.: Наука, 1978. 248 с.
16. Янь У., Онипченко В.Г. Структура растительных сообществ в связи со свойствами почвы в высокогорьях

востока Цинхай-Тибетского нагорья // Тр. Тебердин. гос. биосфер. заповедника. 2005. Вып. 30. С. 57–73.

17. Elumeeva T.G., Tekeev D.K., Onipchenko V.G., Wu Y., Wang Q. Life-form composition of alpine plant communities at the Eastern Qinghai-Tibetan plateau // Plant Biosystems. 2013. P. 1–7. DOI: 10.1080/11263504.2013.845263.

18. Онипченко В.Г., Шулаков А.А., Ахметжанова А.А., Зернов А.С., У Янь, Ван Чень. Высокая флористическая насыщенность выпасаемых сообществ Восточного Тибета (Сычуань) // Развитие геоботаники: история и современность: Мат-лы конф. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2011. С. 88.

19. Шидаков И.И., Онипченко В.Г. Сравнение параметров листового аппарата растений альпийского пояса Тебердинского заповедника // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2007. Т. 112. Вып. 4. С. 42–50.

20. Flora of China [Электронный ресурс]. (URL: <http://flora.huh.harvard.edu/china/index.html> (дата обращения: 14.11.2014)).

21. Brash A.R., Song H. eFlorax: New directions for on-line floras exemplified by the Flora of China Project // Taxon. 2006. Vol. 55. N 1. P. 188–192.

22. Körner C. Alpine plant life: Functional plant ecology of high mountain ecosystems. 2nd ed. Berlin: Springer, 2003. 344 p.

23. Austrheim G., Evju M., Myserud A. Herb abundance and life-history traits in two contrasting alpine habi-

tats in southern Norway // Plant Ecology. 2005. Vol. 179. P. 217–229.

24. Bruun H.H., Österdahl S., Moen J., Angerbjörn A. Distinct patterns in alpine vegetation around dens of the Arctic fox // Ecography. 2005. Vol. 28. N 1. P. 81–87.

25. Scheepens J.F., Frei E.S., Stöcklin J. Genotypic and environmental variation in specific leaf area in a widespread Alpine plant after transplantations to different altitudes // Oecologia. 2010. Vol. 164. N 1. P. 141–150.

26. Cordlandwehr V., Meredith R.L., Ozinga W.A., Bekker R.M., van Groenendael J.M., Bakkar J.P. Do plant traits retrieved from a database accurately predict on-site measurements? // Journal of Ecology. 2013. Vol. 101. N 3. P. 662–670.

27. Онипченко В.Г., Текеев Д.К., Аджиева Р.Б. Связь отавности альпийских растений с их эколого-биологическими свойствами // Юг России: экология, развитие. 2006. № 4. С. 41–46.

28. Tekeev D.K., Semenova R.B., Onipchenko V.G. Integral assessment of the regrow capacity of alpine plants // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2012. Vol. 67. N 1. P. 31–35.

29. Shipley B. Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis // Functional Ecology. 2006. Vol. 20. N 4. P. 565–574.

30. Ordoñez J.C., van Bodegom P.M., Witte J.-P.M., Bartholomeus R.P., van Dobben H.F., Aerts R. Leaf habit and woodiness regulate different leaf economy traits at a given nutrient supply // Ecology. 2010. Vol. 91. N 11. P. 3218–3228.

Поступила в редакцию
06.03.14

LEAF FUNCTIONAL TRAITS OF PLANTS OF ALPINE PASTURES AT THE EASTERN QINGHAI-TIBETAN PLATEAU

T.G. Elumeeva, V.G. Onipchenko, Wu Yan

Original data on leaf functional traits (leaf area and specific leaf area, SLA) in 80 vascular plant species in alpine plant communities of the Eastern Qinghai-Tibetan plateau (Sichuan, China) are represented. Mean SLA was $192 \pm 6 \text{ cm}^2/\text{g}$, and mean leaf area was $2,38 \pm 0,23 \text{ cm}^2$. The highest mean SLA was observed in loose-tussock grasses and the lowest SLA was in group of sedges and rushes, shrubs also had quite a low SLA. Among forbs erosulate plants had higher SLA than rosette forming species. Our results mostly confirm leaf trait patterns for other regions.

Key words: leaf, functional traits, Qinghai-Tibetan plateau.

Сведения об авторах

Елумеева Татьяна Георгиевна — канд. биол. наук, ассист. кафедры геоботаники биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-3165; e-mail: elumeeva@yandex.ru

Онипченко Владимир Гертрудович — докт. биол. наук, зав. кафедрой геоботаники биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-4310; e-mail: vonipchenko@mail.ru

Янь У — канд. биол. наук, проф. Института биологии г. Ченду. e-mail: wuyan@cib.ac.cn

ТРЕБОВАНИЯ ДЛЯ ПРЕДСТАВЛЯЕМЫХ СТАТЕЙ

Статьи, направляемые в журнал “Вестник Московского университета. Серия 16. Биология” должны удовлетворять следующим требованиям.

Статья должна быть структурирована и включать следующие разделы: введение, объекты (материалы) и методы, результаты, обсуждение результатов (можно объединять с предыдущим пунктом как “результаты и их обсуждение”), выводы, список литературы. Произвольная структура допустима для теоретических и обзорных статей, но даже в этом случае они должны содержать резюме и ключевые слова. Статьи представляются в электронной форме в формате Word 97-2003 (*.doc). Объем рукописи, если в ней нет таблиц и рисунков, не должен превышать 3200 слов (шрифт Times New Roman, 12 кегль, междустрочный интервал — двойной), включая список литературы. На первой странице рукописи в левом верхнем углу следует указать индекс УДК, соответствующий содержанию статьи. В следующих строках приводятся: название работы, инициалы и фамилии авторов, наименование подразделения биологического факультета МГУ (кафедра, лаборатория), e-mail автора, ответственного за переписку с редакцией. Место работы соавторов, не являющихся сотрудниками биологического факультета, отмечается в сноске на первой странице. Далее следуют резюме статьи на русском языке (75—250 слов) и ключевые слова. После текста статьи на отдельной странице печатается резюме на английском языке с заглавием и ключевыми словами (полный перевод русской версии). На последней странице приводятся сведения об авторах: фамилия, имя и отчество полностью, научная степень, должность, место работы, телефон (с кодом), e-mail.

Число таблиц и рисунков должно быть минимальным (2—3 таблицы или 2—3 рисунка с соответствующим уменьшением объема текста). Подписи к рисункам и фотографиям, содержащие расшифровку условных обозначений, делаются не на самих иллюстрациях, а на отдельной странице в конце рукописи. Они должны быть информативными и понятными без прочтения статьи, с расшифровками всех используемых сокращений, а рисунки и таблицы — иметь порядковый номер, который указывается при ссылке на них в тексте статьи (рис. 1, табл. 2). Если в статье только один рисунок (или одна таблица), то слово “рисунок” (“таблица”) при ссылке на него в тексте не сокращается и не нумеруется. Графические иллюстрации и фотографии представляются в формате TIFF в виде отдельных файлов. Не допускается вставка рисунков, фотографий и таблиц в основной текст. Пиксельное разрешение фотографий должно обеспечивать ясность всех деталей (не менее 300 точек на дюйм). Иллюстрации выполняются в черно-белом цвете. Таблицы печатаются на отдельных страницах в конце рукописи. Каждая графа таблицы должна иметь заголовок.

В тексте ссылка на цитируемый источник приводится в квадратных скобках с указанием его порядкового номера. При ссылке на несколько источников они перечисляются в порядке возрастания номеров через запятую, например: [3, 5, 8], если номера идут подряд, то через тире [3—7]. Указатель литературы к статьям (в порядке упоминания в тексте, а не по алфавиту) включает от 10 до 50 ссылок, оформленных следующим образом:

1. **Книга:** Автор (инициалы после фамилии). Название. Город: Издательство (без кавычек), год. Общее количество страниц (336 с.).
2. **Статья в сборнике:** Автор (инициалы после фамилии). Название статьи // Название сборника / Под ред. (Ed.) Инициалы и фамилия. Город: Издательство (без кавычек), год. Страницы. С. 5—7.
3. **Статья в журнале:** Автор (инициалы после фамилии). Название статьи // Журнал (принятое сокращенное название — Бюл. МОИП; Biochem.). Год. Том (Т. (рус.) или Vol. (англ.)). Номер (выпуск). Страницы. С. 25—36. (рус.) или P. 393—408. (англ.).
4. **Автореферат диссертации:** Автор (инициалы после фамилии). Название: Автореф. дис. ... канд. (докт.) биол. наук. Город, год. Общее количество страниц. 23 с.
5. **Электронный ресурс:** Название сайта — год [Электронный ресурс]. Дата обновления (если есть) (дата обращения).
Дата обращения — это дата последнего посещения сайта, она обязательно должна быть указана.
Официальный сайт ЮНЕСКО 2009 (URL: <http://www.unesco.org> (дата обращения: 15.05.2013)).

Ссылки на неопубликованные или находящиеся в печати работы не допускаются.

После списка литературы идет строка “Поступила в редакцию...” с указанием даты сдачи рукописи.

Все размерности физических величин должны соответствовать Международной системе единиц (СИ).

При наличии в тексте русских названий представителей различных царств живых организмов обязательно должны быть указаны соответствующие латинские названия (род, вид). Курсивом выделяются только родовые, видовые и подвидовые названия.

Работы, оформленные не по правилам или не соответствующие профилю издания, могут быть отклонены редакцией журнала без рецензирования.

Не принимаются к печати работы, которые уже опубликованы или отправлены на печать в другие издания.

Плата с авторов за публикацию не взимается.

Вся переписка с редакцией ведется по адресу vestnik@mail.bio.msu.ru. Тел. 8-495-939-28-33.

УЧРЕДИТЕЛИ:

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;
биологический факультет МГУ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР Михаил Петрович КИРПИЧНИКОВ — акад. РАН, докт. биол. наук, проф., декан биологического факультета МГУ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

ГОЛИЧЕНКОВ Владимир Александрович — докт. биол. наук, проф. каф. эмбриологии (зам. главного редактора)
ХОХЛОВ Александр Николаевич — докт. биол. наук, зав. сектором эволюционной цитогеронтологии (зам. главного редактора)
САВАНИНА Янина Вячеславовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. каф. биоинженерии (ответственный секретарь)
АТАБЕКОВ Иосиф Григорьевич — акад. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. вирусологии
ВАСИЛЬЕВ Борис Дмитриевич — докт. биол. наук, проф. каф. зоологии позвоночных
ГУСЕВ Николай Борисович — чл.-корр. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. биохимии
ДБЯКОВ Юрий Таричанович — докт. биол. наук, проф., зав. каф. микологии и альгологии
ЖАНТИЕВ Рустем Девлетович — докт. биол. наук, проф., зав. каф. энтомологии
НЕДОСПАСОВ Сергей Артурович — чл.-корр. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. иммунологии
ОСТРОВСКИЙ Михаил Аркадьевич — акад. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. молекулярной физиологии
ПАВЛОВ Дмитрий Сергеевич — акад. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. ихтиологии
РАЗИН Сергей Владимирович — чл.-корр. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. молекулярной биологии
РУБИН Андрей Борисович — чл.-корр. РАН, докт. биол. наук, проф., зав. каф. биофизики
СКУЛАЧЁВ Владимир Петрович — акад. РАН, докт. биол. наук, проф., директор Института физико-химической биологии МГУ
ТИМОНИН Александр Константинович — докт. биол. наук, зав. каф. ботаники
ШЕСТАКОВ Сергей Васильевич — акад. РАН, докт. биол. наук, проф. каф. генетики
ШУЛЬГОВСКИЙ Валерий Викторович — докт. биол. наук, проф., зав. каф. высшей нервной деятельности

Редактор М.Ю. БУЯНОВА
Технический редактор Н.И. Матюшина
Корректор Г.Л. Семёнова

Журнал зарегистрирован в Министерстве печати и информации РФ.
Свидетельство о регистрации № 1561 от 14 февраля 1991 г.

Адрес редакции:

119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,
биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова.
Тел. (495) 939-27-01. Факс: (494) 939-28-33; e-mail: vestnik@mail.bio.msu.ru
веб-сайт: <http://www.bio.msu.ru/doc/index.php?ID=324>

Подписано в печать 15.01.2015. Формат 60 × 90 1/8.
Бумага офс. № 1. Гарнитура Таймс. Офсетная печать.
Усл. печ. л. 6,5. Уч.-изд. л. 5,9. Тираж экз. Изд. № 10359. Заказ №

Издательство Московского университета.
125009, Москва, ул. Б. Никитская, 5. Тел. (495) 697-31-28
Типография МГУ.
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 15

ISSN 0201—7385
ISSN 0137—0952

**ИНДЕКС 71016 (каталог “Роспечать”)
ИНДЕКС 39360 (каталог “Пресса России”)**

**ИЗДАТЕЛЬСТВО
МОСКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА**
